

Univerzita Karlova

2. lékařská fakulta

Doktorský studijní program: Imunologie



MUDr. Hana Halmová

**Imunologické parametry v mozkomíšním moku u dětí s
autoimunitním onemocněním centrálního nervového systému**

**Immunological parameters in cerebrospinal fluid in children
with autoimmune disorders of the central nervous system**

Disertační práce

Školitel: MUDr. Zuzana Libá, Ph.D.

Praha, 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 30.06. 2022

MUDr. Hana Halmová

.....

Podpis autora

Poděkování

Na prvním místě bych chtěla poděkovat své školitelce MUDr. Zuzaně Libé, Ph.D., za její pečlivé vedení, rady a pomoc, které mi vždy velmi ochotně poskytla v průběhu mého studia.

Dále bych chtěla poděkovat celému týmu lékařů Kliniky dětské neurologie 2. LF UK a FN Motol v čele s prof. MUDr. Pavlem Krškem, Ph.D., kteří mi v případě potřeby byli vždy nápomocni.

Rovněž chci poděkovat všem pracovníkům Ústavu Imunologie 2. LF UK a FN Motol v čele s přednostkou prof. MUDr. Jiřinou Bartůňkovou, DrSc. a primářkou prof. MUDr. Annou Šedivou, DSc. za poskytnutí prostoru pro mou laboratorní práci. A zejména pak MUDr. Janě Kayserové, Ph.D. a laborantkám z Likvorové laboratoře RNDr. Jitce Hanzalové, Děvaně Dimmerové a Bc. Evě Dudkové, které mi vždy ochotně pomohly.

Velký dík patří i vedení Neurologické kliniky 2. LF UK a FN Motol, přednostovi prof. MUDr. Petru Marusičovi Ph.D a primáři doc. MUDr. Aleši Tomkovi, Ph.D., že mi umožnili se vědecké práci systematicky věnovat a poskytli mi dostatek prostoru pro vzdělávání.

Nakonec chci poděkovat svým rodičům, kteří mě po dobu mého studia podporovali a svému manželovi Filipovi, který při mně po celou dobu stál a byl mi oporou.

Abstrakt

Centrální nervový systém svojí řídicí a pro život nezbytnou funkcí, má v našem těle výsadní postavení. Má svůj vlastní imunitní dozor a řadí se mezi imunoprivilegované orgány, ve kterých probíhají imunitní reakce specifickým způsobem. Nicméně víme, že ani tak není ušetřen imunopatologických procesů. Autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému patří mezi vzácná onemocnění. I přes rozrůstající se diagnostické metody často zůstává průkaz autoimunitní etiologie neurologických potíží obtížný. Proto se stále hledají nové možnosti, které by diagnostiku usnadnily.

Cílem práce bylo vyšetření hladin cytokinů a chemokinů v mozkomíšním moku a séru u dětských pacientů s různými autoimunitními onemocněními centrálního nervového systému jakožto markerů zánětu.

Přínosem práce je potenciál ve využití cytokinů a chemokinů pro diagnostiku autoimunitních onemocnění centrálního nervového systému pokud běžné diagnostické metody selhávají, stejně tak pro případnou monitoraci průběhu onemocnění a efektu terapie. Získaná data také přispívají k objasnění patofyziologie jednotlivých diagnóz a do budoucna mohou přispět k efektivnější a cílenější terapii těchto onemocnění.

Klíčová slova: autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému, děti, cytokiny, chemokiny, markery zánětu, diagnostické metody

Abstract

The central nervous system with its controlling and life-essential functions has a privileged position in our body. It has its own immune surveillance and is one of the immunoprivileged organs, in which immune reactions take place in specific ways. However, it is known that it is not entirely spared from immunopathological processes. Autoimmune diseases of the central nervous system are rare. Despite the growing diagnostic methods, the determination of an autoimmune aetiology of neurological disorders remains difficult. Thus, new diagnostic possibilities are constantly searched.

The aim of this study was to investigate the levels of cytokines and chemokines in cerebrospinal fluid and serum in pediatric patients with various autoimmune diseases of the central nervous system as possible markers of inflammation.

The contribution of our work is the potential in the use of cytokines and chemokines for the diagnosis of autoimmune diseases of the central nervous system when conventional diagnostic methods fail, as well as for the possible monitoring of the disease courses and the therapy effects. Our data may also contribute to the elucidation of the pathophysiology of individual diagnoses and to more effective and targeted therapy of these diseases in the future.

Keywords: autoimmune diseases of the central nervous system, children, cytokines, chemokines, markers of inflammation, diagnostic methods

Seznam zkratek

- ADEM – akutní diseminovaná encefalomyelitida
- ALEM – alemtuzumab
- AQP4 – aquaporin 4
- AZA – azathioprin
- CIS – klinicky izolovaný syndrom
- CNS – centrální nervový systém
- CPA – cyklofosfamid
- DIS – diseminace v čase
- DIT – diseminace v prostoru
- Ig – imunoglobulin
- ITMTX – intrathekální metotrexát
- IVIG – intravenózní imunoglobuliny
- LETM – longitudinální extenzivní transverzální myelitida
- MMF – mykofenolát mofetil
- MOG – myelinový oligodendrocytární glykoprotein
- MR – magnetická rezonance
- mRS – modifikovaná Rankinova škála
- NAT – natalizumab
- NEDA – no evidence of disease activity
- NMDA – N-methyl-D-aspartát
- NMOSD – neuromyelitis optica a její spektrum
- ON – optická neuritida
- QAlb – kvocient albuminu
- RS – roztroušená skleróza
- RTX – rituximab
- TAC - tacrolimus

Obsah

1	ZÁNĚT V CENTRÁLNÍM NERVOVÉM SYSTÉMU	9
1.1	Hematoencefalická bariéra	9
1.2	Imunitní dohled v centrálním nervovém systému.....	10
1.3	Cytokiny a chemokiny v centrálním nervovém systému.....	11
2	LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA AUTOIMUNITNÍCH ONEMOCNĚNÍ CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU	13
2.1	Vyšetření mozkomíšního moku	13
2.2	Vyšetření protilátek asociovaných s autoimunitními onemocněními centrálního nervového systému	16
2.2.1	Protilátky proti aquaporinu 4 (AQP4-IgG).....	16
2.2.2	Protilátky proti myelinovému oligodendrocytárnímu glykoproteinu (MOG- IgG)	17
2.2.3	Protilátky proti N-methyl-D-aspartátovému receptoru (NMDAR protilátky)	18
3	PŘEHLED AUTOIMUNITNÍCH ONEMOCNĚNÍ CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU U DĚTÍ	20
3.1	Autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému s dominujícím postižením bílé hmoty	20
3.1.1	Akutní diseminovaná encefalomyelitida (ADEM).....	20
3.1.2	Klinicky izolovaný syndrom (CIS)	22
3.1.3	Optická neuritida (ON).....	22
3.1.4	Akutní myelitida.....	23
3.1.5	Roztroušená skleróza (RS)	23
3.1.6	Neuromyelitis optica a její spektrum (NMO/NMOSD)	26
3.1.7	MOG-IgG asociovaná onemocnění	28
3.2	Autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému s dominujícím postižením šedé hmoty	30
3.2.1	Anti-N-methyl-D-aspartát receptorová encefalitida (anti-NMDAR encefalitida)	30
3.2.2	Rasmussenova encefalitida.....	31

3.2.3	Další autoimunitní encefalitidy	32
3.3	Ostatní blíže nezařazená autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému	33
3.3.1	Akutní cerebelitida/akutní cerebelární ataxie	33
3.3.2	Vaskulitidy centrálního nervového systému	33
4	CÍLE PRÁCE	35
5	METODIKA, VÝSLEDKY, DISKUZE A ZÁVĚR.....	36
5.1	Studie č. 1: Využitelnost chemokinů CCL2/MCP-1, CXCL8/IL-8, 10 a 13 a interleukinu 6 v dětské kohortě pacientů pro rozpoznání neurozánětu v kontextu tradičních zánětlivých biomarkerů mozkomíšního moku	36
5.2	Studie č. 2: Roztroušená skleróza u dětí: Analýza hladin chemokinů a cytokinů v kontextu časného klinického průběhu	39
5.3	Studie č. 3: Anti-N-methyl-D-aspartátová receptorová encefalitida: klinický průběh ve světle hladin chemokinů a cytokinů v mozkomíšním moku	41
5.4	Studie č. 4: Analýza účinku imunoterapie u Rasmussenovy encefalitidy	44
5.5	Studie č. 5: Akutní myelitida u dětí – soubor 20 pacientů	48
6	SOUHRN	52
7	SUMMARY	53
8	LITERATURA	54
9	PŘÍLOHY.....	68

1 ZÁNĚT V CENTRÁLNÍM NERVOVÉM SYSTÉMU

Zánět je složitý, převážně geneticky naprogramovaný, děj, který má mnoho podob a podílí se na něm celá řada buněk, molekul a mechanismů. Zánětlivá reakce má organismus chránit, ale pokud se vymkne kontrole, může být i život ohrožující. Zánět má v našem těle především dva důležité úkoly: udržet homeostázu a zajistit obranu proti patogenům. K homeostáze přispívá tím, že odstraňuje odumřelou tkáň, podporuje rychlou smrt nenávratně poškozených buněk a hojení ran. K obraně tkání přispívá produkcí cytotoxických látek, chemokinů, pro nábor specifických populací imunitních buněk a cytokinů, pro koordinaci imunitních reakcí. Centrální nervový systém (CNS) je nezbytný pro přežití. Imunitní děje zde probíhají specifickým způsobem, dochází k trvalému balancování mezi detekcí potenciálně škodlivých faktorů a řešením imunologických reakcí, které samy o sobě mohou vést k nezvratnému poškození, jsou-li neadekvátně vedeny. Mozek je uzavřen v neelastické lebce, a proto nemůže tolerovat nadměrnou akumulaci buněk a otok spojený s mnoha periferními zánětlivými reakcemi. Vrozené imunitní odpovědi jsou zde v porovnání s ostatními tkáněmi opožděné a odpovědi granulocytů jsou snižované. Dříve se CNS řadil mezi imunoprivilegované orgány, protože se myslelo, že je od periferního imunitního systému zcela izolován za hematoencefalickou bariérou a že postrádá lymfatickou drenáž. Předpokládalo se, že autoimunita je důsledkem setkání imunitních buněk s antigeny CNS. Dnes však již víme o přítomnosti lymfatického systému, a o tom že imunitní buňky mohou procházet neporušenou hematoencefalickou bariérou a že neurony a glie aktivně regulují imunitní odpovědi. Hovoří se o orgánově specifickém imunologickém nastavení v oblasti CNS. Na rozvoji autoimunitních onemocnění CNS se mohou podílet neuronální a/nebo gliové a/nebo imunitní dysfunkce (Carson M.J. et al., 2006). Aktivované imunitní buňky vyvolávají zánětlivou reakci s produkcí cytokinů, chemokinů a protilátek, které mohou být namířeny proti různým strukturám CNS jako jsou proteiny, povrchové buněčné receptory, kanály, enzymy nebo například specifické segmenty cév (Twilt M., Benseler S.M., 2013).

1.1 Hematoencefalická bariéra

Hematoencefalická bariéra představuje bariéru mezi dvěma kompartmenty, krví a mozkovou tkání. Zajišťuje mezi nimi pohyb iontů, molekul a buněk. Udržuje homeostázu v CNS, brání průniku toxinů a patogenů. Skládá se z vrstvy endotelových buněk, které jsou na rozdíl od endotelií ve zbytku těla navzájem spojeny těsnými spoji, takzvanými „tight junctions“. Další vrstvou je bazální membrána. Z abluminální strany je hematoencefalická bariéra tvořena pericyty, které regulují průsvit cév a průtok krve mozkem a astrocyty

zajišťujícími správnou funkci neuronů. Hematoencefalická bariéra přísně reguluje vstup molekul a buněk do centrálního nervového systému, je volně propustná pro lipofilní molekuly, které prochází dle koncentračního gradientu, prostup hydrofilních molekul pak probíhá pomocí speciálních transportérů (např. GLUT1 transportér pro glukózu), vezikulární transport je zde výrazně omezen (Daneman R., 2012).

Jsou však oblasti mozku, v okolí III. a IV. mozkové komory, ve kterých je hematoencefalická bariéra modifikována. Patří sem takzvané cirkumventrikulární orgány (area postrema, subkomisurální a subfornikální orgán, organum vasculosum laminae terminalis, eminentia medialis, neurohypofýza a epifýza). Jedná se o vysoce vaskularizované oblasti s fenestrovanými kapilárami. Probíhá zde komunikace mezi krví, mozkovou tkání a mozkomíšním mokem. Jedná se o místa možného průniku toxinů, mikroorganismů, cytokinů a chemokinů, ale i autoprotilátek do oblasti centrálního nervového systému (Benarroch E.E., 2011)

Dysfunkce hematoencefalické bariéry a její zvýšená propustnost je asociována s řadou patologických stavů, mezi které patří i autoimunitní onemocnění, jako je například roztroušená skleróza (Daneman R., Prat A., 2015). Může se jednat o přechodné porušení těsných spojů nebo chronické porušení funkce bariéry. V případě experimentální autoimunitní encefalomyelitidy (experimentální model roztroušené sklerózy) míra zánětu koreluje s poruchou permeability hematoencefalické bariéry (Fabis M.J. et al., 2007). Ovlivnění funkce hematoencefalické bariéry se tak stává oblastí zájmu stran možných terapeutických možností, které se v dnešní době již využívají například u pacientů s roztroušenou sklerózou.

1.2 Imunitní dohled v centrálním nervovém systému

Imunitní dohled v centrálním nervovém systému je dynamický, specifický a přísně regulovaný proces. Imunitní buňky se v CNS v malém počtu běžně vyskytují v oblasti mening, okolo cév a v choroidálním plexu, kde jsou strategicky rozmístěny na rozhraní mezi krví a mozkem, mohou zde odebírat vzorky z prostředí a v případě nutnosti zahájit zánětlivou reakci (Hickey W.F., 2001). Z buněk periferního imunitního systému v těchto prostorech nacházíme makrofágy a dendritické buňky a dále centrální paměťové T lymfocyty s fenotypem CD4⁺ (Ousman S.S., Kubes P., 2012). Samotný parenchym mozku obsahuje jen velmi omezený imunitní repertoár, skládající se převážně z rezidentní mikroglie, která se v průběhu embryonálního vývoje odvodila z primitivních makrofágů

žloutkového váčku (Ginhoux F. et al., 2010; Gomez Perdiguero E. et al., 2015; Sheng J. et al., 2015).

Mikroglie má klíčové homeostatické funkce, ale významně se podílí také na vývoji a postnatální plasticitě CNS. Mikroglie má význam pro udržování synapsí a poskytuje trofickou podporu neuronům a makroglíím (Ousman S.S., Kubes P., 2012). I v klidovém stavu jsou mikroglie dynamické struktury, které neustále odebírají vzorky ze svého okolí tím, že prodlužují a zatahují své výběžky a navazují kontakty s okolními synapsemi (Davalos D. et al., 2005; Nimmerjahn A. et al., 2005; Tremblay M.È. et al., 2010; Wake H. et al., 2009). Zdá se, že jak zvýšená, tak snížená neuronální aktivita vyvolává synaptický kontakt s mikroglíí, avšak následné chování mikroglíí může být v každém případě jiné (Paolicelli R.C. et al., 2011). V případě infekce nebo poranění stojí mikroglie v první linii obrany CNS a jde o buňky schopné prezentovat antigeny T lymfocytům a aktivovat je (Ford A.L. et al., 1994).

1.3 Cytokiny a chemokiny v centrálním nervovém systému

Cytokiny jsou signální molekuly bílkovinné povahy produkované různými, nejen imunitními, buňkami. Po navázání na svůj receptor cytokiny ovlivňují chování, přežívání a diferenciaci buněk. Oproti tomu chemokiny ovlivňují buněčný pohyb, takzvanou chemotaxi. Cytokiny a chemokiny spolu navzájem tvoří provázanou síť. Mají jak prozánětlivé tak protizánětlivé účinky a často jejich účinky závisí na celkovém kontextu situace a konkrétní buněčné populaci. Mnoho cytokinů existuje v několika izoformách nebo rodinách proteinů se strukturálními homology a podobnými účinky. Kromě toho mají cytokiny v rámci různých rodin podobnou aktivitu, což vede k vysokému stupni redundance. To znamená, že aktivita jednoho konkrétního cytokinu, pokud je odstraněn, může být řízena jiným. Stejně tak produkce jednoho může stimulovat či inhibovat produkci jiného (Schultzberg M. et al., 2007). V případě infarktu jsou cytokiny a chemokiny v oblasti CNS produkovány převážně mikroglíí, astrocyty, endotelovými buňkami, T lymfocyty a makrofágy (Webb A.A., Muir G.D., 2000). Způsobují zvýšenou propustnost hematoencefalické bariéry a vstup dalších imunitních buněk do CNS (Duchini A. et al., 1996). Do oblasti CNS se cytokiny a chemokiny mohou také dostávat přes cirkumventrikulární orgány nebo pomocí specifických transportních systémů v endotelových buňkách (Fung A. et al., 2012; Elmquist J.K. et al. 1997). V mozku se cytokiny kromě imunitních dějů podílejí i na dějích neuroendokrinních a behaviorálních,

dále mohou stimulovat neovaskularizaci a aktivovat astrocyty a tím vyvolat jejich proliferaci (Giulian D. et al.; 1994).

Využití cytokinů a chemokinů pro diagnostiku zánětu v běžné praxi je stále sporné, zejména kvůli obtížné interpretaci výsledků a nedostatečné znalosti norem pro konkrétní situace. V dnešní době lze běžně stanovit hladinu IL-6 jakožto jednoho z hlavních prozánětlivých cytokinů v monitoraci tíže a prediktoru přežití u pacientů v sepsi (Miguel-Bayarri V. et al., 2012; Pettilä V. et al., 2002; Casey L.C. et al. 1993). Začínají se vyšetřovat i hladiny CXCL13, důležitého chemoatraktantu pro B lymfocyty, v mozkomíšním moku pro diagnostiku neuroborreliózy a neurosyfilis (Gudowska-Sawczuk M. et al., 2020; Lintner H. et al., 2020; Eckman E.A. et al. 2021; Knudtzen F.C. et al. 2020).

2 LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA AUTOIMUNITNÍCH ONEMOCNĚNÍ CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU

Zánět v centrálním nervovém systému může mít infekční i neinfekční původ. Pro správnou diagnózu je stále stěžejní odběr mozkomíšního moku, bez kterého se neobejdeme, spolu s vyšetřením párového séra. Pro infekční etiologii je průkazný nález patogenu v mozkomíšním moku nebo pozitivní protilátkový index při vyšetření protilátek v séru a likvoru, což dokazuje produkci specifických protilátek za hematoencefalickou bariérou (Rostasy et al, 2016). U většiny autoimunitních onemocnění chybí specifické biomarkery, podle kterých bychom je mohly diagnostikovat. Při absenci infekčního agens se diagnóza stanovuje na základě komplexního zhodnocení klinického průběhu onemocnění, neurologického nálezu, obrazu na magnetické rezonanci mozku a míchy a nálezu v mozkomíšním moku. Nicméně v posledních letech bylo objeveno několik autoproti látek, které jsou asociované s autoimunitními onemocněními nervového systému a začínají se pro běžnou diagnostiku používat, konkrétní příklady budou zmíněny dále.

2.1 Vyšetření mozkomíšního moku

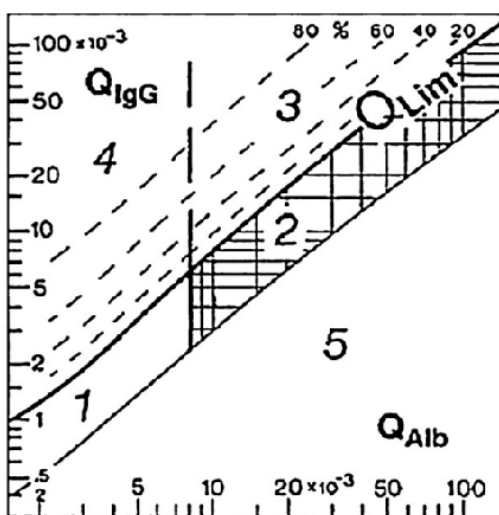
Indikací k vyšetření mozkomíšního moku je podezření na zánět, neurodegeneraci, nádorovou infiltraci CNS nebo krvácení do likvorových cest. Mozkomíšní mok se nachází v mozkových komorách, obklopuje mozek a míchu a oproti vyšetření krve nám přináší dokonalejší obraz o fyziologických i patologických procesech v CNS. V rámci standardního vyšetření se běžně hodnotí cytologický nález v likvoru včetně diferenciálu leukocytů, stav hematoencefalické bariéry a intrathekální syntéza imunoglobulinů.

Za fyziologických podmínek je mozkomíšní mok nebuněčný, běžný je počet do 5 leukocytů/mm³ se zastoupením lymfocytů (70%) a monocytů (30%). Přítomnost erytrocytů a neutrofilů může být způsobena traumatickým odběrem s krevní příměsí (Seehusen D.A. et al., 2003, Diesenhammer F. et al., 2006). Hlavní známkou zánětu je zvýšení počtu leukocytů v likvoru. Pleocytóza je typicky přítomná u infekčních zánětů CNS a běžně v těchto případech dosahuje hodnot více než 100 leukocytů/mm³ (Baunbæk E.G. et al., 2017), vzácně v časných stádiích nemusí být přítomna (Saraya A.W. et al., 2016). Zvýšený počet leukocytů v likvoru nacházíme i u autoimunitních zánětů CNS, kdy ale hodnoty bývají nižší, většinou méně než 100 leukocytů/mm³, a není výjimkou, že cytologický nález je zcela normální (Jarius S. et al., 2020; Irani S.R. et al., 2010). Naopak i u některých nezánetlivých diagnóz může být přítomna pleocytóza, například po proběhlém

epileptickém záchvatu (Süße M. et al., 2019) nebo u nádorových onemocnění s infiltrací mening (Baunbæk E.G. et al., 2017)

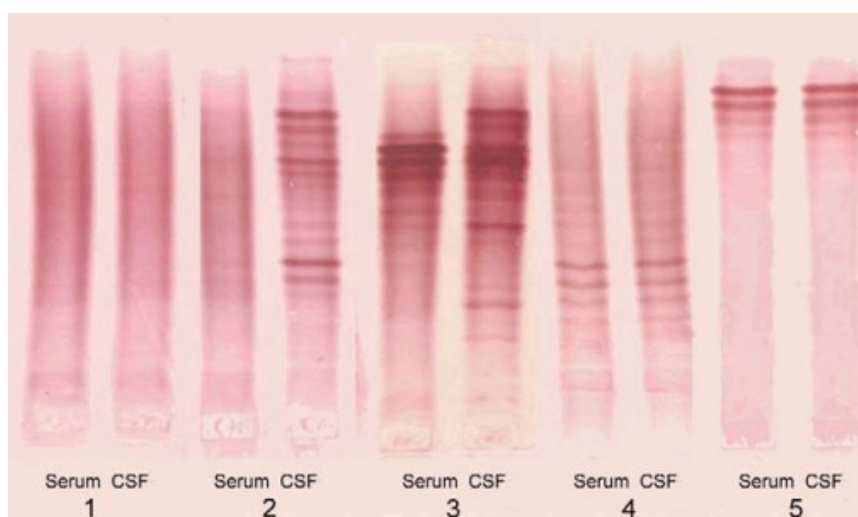
Funkci hematoencefalické bariéry hodnotíme pomocí kvocientu albuminu (QAlb). Albumin se v lidském těle syntetizuje výhradně v játrech a do CNS proniká skrze hematoencefalickou bariéru. QAlb představuje poměr albuminu v mozkomíšním moku a séru. Daný poměr se s věkem mění, nejvyšších hodnot dosahuje do 4. měsíce po narození, poté klesá a následně znovu stoupá ve vyšším věku (Reiber H., 1994). Elevace QAlb svědčí pro akutní, avšak nespecifický proces, odehrávající se v CNS (Reibr H, Peter JB., 2001) a je nutné ji hodnotit v kontextu dalších nálezů.

Intrathekální syntézu imunoglobulinů stanovujeme pomocí Reiberova grafu (Obr. 1), který určuje vztah mezi koncentrací imunoglobulinů ve dvou různých systémech a vyloučí možnou elevaci jejich koncentrace z důvodu poruchy hematoencefalické bariéry. Imunoglobuliny za hematoencefalickou bariéru pronikají dle své molekulární hmotnosti a jsou zde přítomné v nízké koncentraci, $IgG > IgA > IgM$ (Reiber H., 1994). K intrathekální syntéze dochází v případě perivaskulární infiltrace B lymfocytů, jejich proliferace a maturace (Reiber H, Peter J.B., 2001).



Obr. 1: CSF/sérum kvocientový diagram dle Reibera k výpočtu poruchy bariéry a intrathekální syntézy pro IgG. Oblast 1 a 2 označují frakce IgG krevního původu. Horní hyperbolická křivka (QLim) představuje diskriminační linii pro IgG pocházející z krve (pod QLim) a z mozkomíšního moku (nad QLim). Hodnota Qalb vyjadřuje stav hematoencefalické bariéry závislý na věku. Rozlišujeme pět oblastí 1 – normální, 2 – dysfunkce hemato-likvorové bariéry bez intrathekální syntézy IgG, 3 – Intrathekální syntéza IgG s poruchou hemato-likvorové bariéry, 4 – intrathekální syntéza IgG bez poruchy hemato-likvorové bariéry, 5 – oblast metodologické chyby. (Reiber H. et. Al., 2001)

Stanovení intrathékální syntézy výpočtem dle Reiberova grafu má své limity, zejména u dětí mohou být výsledky falešně pozitivní z důvodu celkově nižších hladin imunoglobulinů v séru. Dosud nejpoužívanější metodou pro stanovení intrathekální oligoklonální produkce imunoglobulinů je izoelektrická fokuzace, kdy izolované proužky v mozkomíšním moku na polyakrylamidovém gelu nejsou patrné při analýze séra. Tato technika je však spolehlivě technicky verifikována jen v případě molekul IgG, pro verifikaci intrathékální syntézy IgM a IgA se v klinické praxi běžně nevyužívá. Celkem rozlišujeme 5 mezinárodně standardizovaných vzorů (Obr. 2) (Andersson M., 1994). Výsledek vyšetření izoelektrické fokuzace není specifický. Oligoklonální produkce IgG se může vyskytovat u různých zánětlivých i nezánětlivých diagnóz, typická je pro roztroušenou sklerózu, neuroborreliózu, ale může se například vyskytovat i u leukodystrofií (Desenhammer F. et al., 2006).



Obr. 2: Interpretace oligoklonálních IgG pásů v séru a mozkomíšním moku (CSF). 1 – normální nález bez oligoklonálních pásů, 2 – oligoklonální pásy pouze v mozkomíšním moku (např. u roztroušené sklerózy), 3 – oligoklonální pásy v mozkomíšním moku a jiné identické pásy v mozkomíšním moku a séru (např. u neuroborreliózy), 4 – identické oligoklonální pásy v mozkomíšním moku a séru (např. u systémové imunitní aktivity), 5 – monoklonální pásy v mozkomíšním moku a séru (např. u paraproteinémie) (Regeniter A. et al., 2009)

2.2 Vyšetření protilátek asociovaných s autoimunitními onemocněními centrálního nervového systému

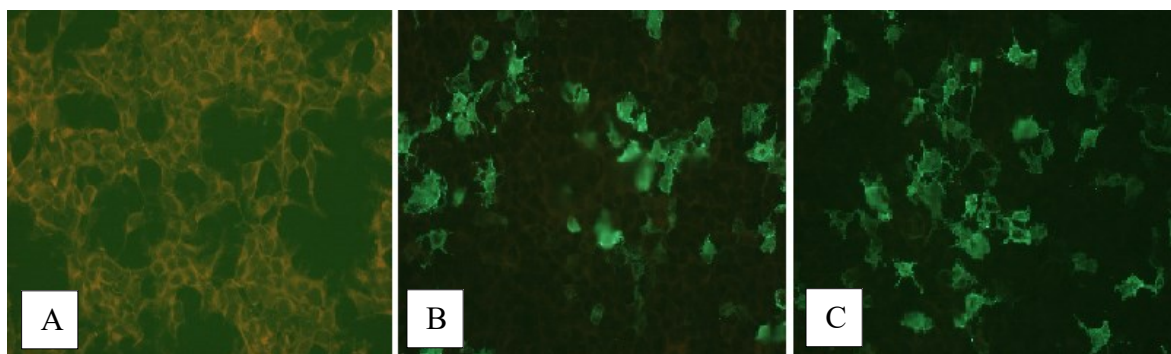
Možnost stanovení protilátek asociovaných s autoimunitními onemocněními centrálního nervového systému v dnešní době rozšiřuje spektrum diagnostických možností. Některé protilátky jsou přímo patogenní, jiné pouze diagnostické. V rámci působení protilátek může docházet k agonizaci nebo antagonizaci receptorů, internalizaci a degradaci receptorů, což vede ke snížení funkce nebo k poškození neuronů, zprostředkovaného komplementem nebo buněčně zprostředkovanými cytotoxickými mechanismy. Standardně se přítomnost protilátek vyšetřuje v séru, jen u některých onemocnění je nezbytné jejich vyšetření také v mozkomíšním moku. Protilátky se do CNS dostávají buďto skrze hematoencefalickou bariéru v místech její fyziologicky zvýšené propustnosti jako je například area postrema nebo při patologicky zvýšené propustnosti v důsledku zánětu, může však docházet i k intrathekální syntéze, popřípadě se mechanismy kombinují (Moscato E.H. et al., 2010). V následujícím textu jsou zmíněny autoprottilátky, které jsou nejčastěji asociovány s autoimunitními onemocněními nejen v dětském věku.

2.2.1 Protilátky proti aquaporinu 4 (AQP4-IgG)

AQP4-IgG jsou vysoce specifické (85-99%) pro onemocnění neuromyelitis optica a vyskytují se u 68-91% pacientů s touto diagnózou (Jarius S. and Wildemann B., 2010).

AQP-IgG byly objeveny v roce 2004 (Lennon V.A. et al., 2004) a teprve v posledních letech se jejich vyšetření v séru začalo využívat pro běžnou klinickou praxi. Pro rutinní diagnostiku se využívá metoda nepřímé imunofluorescence na buněčných kulturách (cell-based assay), které dosahují nejvyšší senzitivity a specificity (Obr. 3) (Waters P. Et al., 2016). Aquaporin 4 (AQP4) je vodní kanál, který je zapojen do pohybu vody a buněčné migrace (Verkman A.S. et al., 2013). V CNS je exprimován na astrocytech a je koncentrován v jejich koncových výběžcích, které jsou v kontaktu s cévami (Rash J.E. et al., 1998, Nielsen S et Al. 1997). Obzvláště silná je pak jeho exprese v oblasti optického nervu a míchy, které jsou při neuromyelitis optica nejvíce postižené. Tento vodní kanál se objevuje i mimo CNS a to v epiteliálních buňkách ledvin, dýchacích cest, gastrointestinálním traktu a kosterních svalech. Zatím není jasné, proč při neuromyelitis optica tyto orgány zůstávají ušetřeny (Verkman A.S. et al., 2013). K syntéze AQP4-IgG zřejmě dochází v periférii, do oblasti CNS pak protilátky přestupují skrze poškozenou hematoencefalickou bariéru (Papadopoulos M.C. and Verkman A.S., 2012). AQP4-IgG jsou přímo patogenní, po jejich navázání na AQP4 dochází k cytotoxicitě způsobené

komplementem (complement-dependent cytotoxicity) nebo buněčné cytotoxicitě (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity), dochází k poškození astrocytů, rozvoji zánětu, poruše hematoencefalické bariéry, sekundárnímu poškození oligodendrocytů a demyelinizaci. Hladiny AQP4-IgG korelují s aktivitou onemocnění (Carnero Contentti E, Correale J.V., 2021). V lézích neuromyelitis optica je exprese AQP4 snižena (Papadopoulos M.C. and Verkman A.S., 2012)

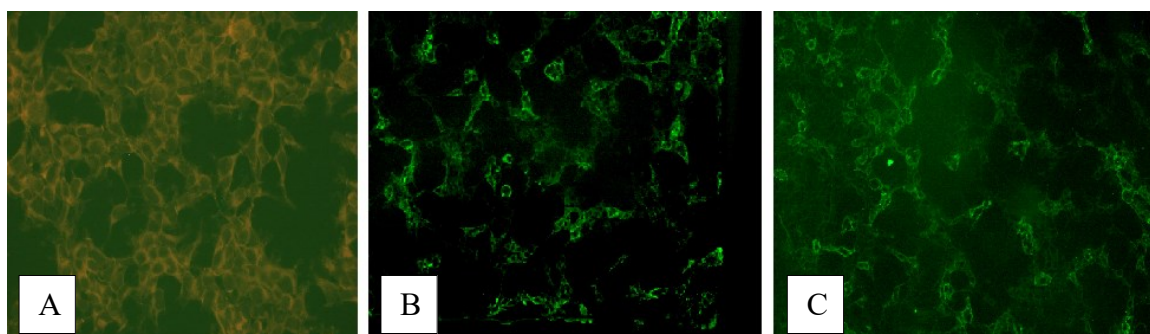


Obr. 3: Vyšetření séra na přítomnost AQP4-IgG pomocí nepřímé imunofluorescence na buněčných kulturách A – negativní kontrola, B – pozitivní kontrola, C – pozitivní sérum pacienta; fotografie z archívu Likvorové laboratoře Ústavu Imunologie a Neurologické kliniky 2. LF UK a FN Motol

2.2.2 Protilátky proti myelinovému oligodendrocytárnímu glykoproteinu (MOG-IgG)

MOG-IgG byly poprvé identifikovány před více než 40 lety (Lebar R. et al., 1989). Dlouho se předpokládalo, že MOG-IgG hrají roli u demyelinizačních onemocnění, především roztroušené sklerózy (Berger T. et al. 2003). Nicméně až po zavedení senzitivnějšího vyšetření séra pomocí nepřímé imunofluorescence na buněčných kulturách (cell-based assay) do běžné praxe (Obr. 4) (Reindl M., Waters P., 2019) se v posledních letech ukazuje, že se vyskytují u zánětlivých demyelinizačních onemocnění s různým fenotypem a odlišným průběhem než má roztroušená skleróza (Tea F. et al., 2019). Úloha MOG-IgG v rozvoji a patogenezi onemocnění je stále nejasná. MOG-IgG mohou být přítomné v cirkulaci a nezpůsobovat žádné obtíže, až jejich průnik za porušenou hematoencefalickou bariéru v důsledku zánětu vyvolává onemocnění (Reindl M., Waters P., 2019). V patogenezi hrají významnou roli T lymfocyty, je popisována i schopnost MOG-IgG aktivovat klasickou cestu komplementu (Keller C.W. et al., 2021). Myelinový oligodendrocytární glykoprotein je exprimován na oligodendrocytech v CNS na povrchu

myelinu a je markerem zrání oligodendrocytů (Brunner C. et al., 1989; Barkovich A.J., 2000). Jeho biologická role není přesně známá ale zdá se, že může působit jako adhezivní molekula, regulátor stability mikrotubulů a mediátor myelinových a imunitních reakcí (Johns T.G. and Bernard C.C., 1999, Marta C.B. et al., 2005). Spolu s dalšími glykoproteiny zřejmě hraje zásadní roli při tvorbě, udržování a rozpadu myelinových pochev (Quarles R.H., 2002). Oligodendrocyty inkubované s purifikovaným imunoglobulinem G (IgG) od anti-MOG pozitivních pacientů vykazují nápadnou ztrátu organizace tenkých filament a mikrotubulárního cytoskeletu, která je kritická pro správnou tvorbu myelinu (Dale R.C. et al., 2014).

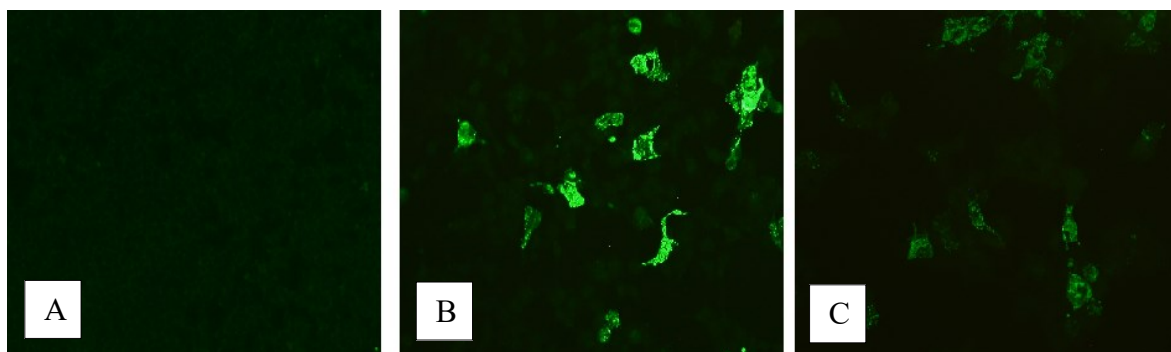


Obr. 4: Vyšetření séra na přítomnost MOG-IgG pomocí nepřímé imunofluorescence na buněčných kulturách A – negativní kontrola, B – pozitivní kontrola, C – pozitivní sérum pacienta; fotografie z archívu Likvorové laboratoře Ústavu Imunologie a Neurologické kliniky 2. LF UK a FN Motol

2.2.3 Protilátky proti N-methyl-D-aspartátovému receptoru (NMDAR protilátky)

NMDAR encefalitida s pozitivitou protilátek proti NMDA receptoru byla poprvé popsána v roce 2007 u pacientek s ovariálním teratomem a projevy encefalopatie (Dalmau J. et al., 2007). NMDA receptor je ligandem řízený iontový kanál, který hraje významnou roli v synaptickém přenosu a neuronální plasticitě. Receptor je heteromer skládající se ze dvou NR1 podjednotek vázících glycin a dvou NR2 podjednotek (A, B, C nebo D), které váží glutamát (Lynch D.R. et al., 1994). Nadměrná aktivita NMDA receptorů způsobující excitotoxicitu, je navrhovaným základním mechanismem pro epilepsii, demenci a mrtvici, zatímco nízká aktivita vyvolává symptomy schizofrenie (Coyle J.T., 2006, Waxman E.A., Lynch D.R., 2005, Lau C.G., Zukin R.S., 2007). Anti-NMDAR protilátky po navázání na NR1 podjednotky receptorů způsobí jejich shlukování a internalizaci nezávisle na přítomnosti komplementu. Dochází ke snížení hustoty receptorů a jejich synaptické lokalizaci. Míra těchto změn závisí na titru protilátek a je reverzibilní (Hughes E.G. et al.,

2010, Lynch et al., 2018). Autoprotilátky jsou přítomné v séru, ve vyšší koncentraci pak v mozkomíšním moku, kde dochází i k jejich intrathekální syntéze (Dalmau J. et al., 2008). Pro diagnostiku je nutné vyšetření mozkomíšního moku i séra metodou nepřímé imunofluorescence na buněčných kulturách (cell-based assay) (Obr. 5), jelikož až ve 14 % případů kdy bylo vyšetřováno pouze sérum byly hlášeny falešně negativní výsledky (Gresa-Arribas N. et al., 2014)



Obr. 5: Vyšetření mozkomíšního moku na přítomnost NMDAR protilátek pomocí nepřímé imunofluorescence na buněčných kulturách A – negativní kontrola, B – pozitivní kontrola, C – pozitivní likvor pacienta; fotografie z archívu Likvorové laboratoře Ústavu Imunologie a Neurologické kliniky 2. LF UK a FN Motol

3 PŘEHLED AUTOIMUNITNÍCH ONEMOCNĚNÍ CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU U DĚTÍ

Rozdělení autoimunitních onemocnění centrálního nervového systému není jasně dané. V posledních letech odvětví neuroimunologie zažívá velký rozmach. Obecně se jedná o onemocnění se vzácným výskytem, která se mohou objevit i v dětském věku. Neustále se nacházejí nové klinické jednotky nebo se vyčleňují z původních, proto přesná incidence jednotlivých klinických jednotek není často známa. Pracuje se na objasnění patofyziologie jednotlivých onemocnění. Vytvářejí se diagnostická kritéria. Existují nové laboratorní diagnostické možnosti a stále se hledají další. S tím vším přicházejí i nové terapeutické možnosti.

3.1 Autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému s dominujícím postižením bílé hmoty

3.1.1 Akutní diseminovaná encefalomyelitida (ADEM)

ADEM je imunitně zprostředkované demyelinizační onemocnění centrálního nervového systému charakterizované nově vzniklým polyfokálním neurologickým deficitem provázeným encefalopatií a nálezem multifokálních lézí na magnetické rezonanci mozku. Diagnostická kritéria byla revidována v roce 2013 Mezinárodní studijní skupinou pro dětskou roztroušenou sklerózu (Krupp L.B. et al., 2013) (Tab. 1).

Tab. 1: Diagnostická kritéria akutní diseminované encefalomyelitidy (Krupp L.B. et al., 2013)

Diagnostická kritéria ADEM
- první polyfokální klinická příhoda CNS s předpokládanou zánětlivou demyelinizační příčinou
- encefalopatie, kterou nelze vysvětlit horečkou
- žádné nové klinické příznaky nebo nálezy na magnetické rezonanci 3 a více měsíců od začátku onemocnění
- abnormální nález na magnetické rezonanci mozku během akutní (tříměsíční) fáze
- typický nález na magnetické rezonanci mozku
- difuzní, neostře ohraničené, velké (>1–2 cm) T2/FLAIR hyperintenzní léze postihující převážně bílou hmotu
- T1 hypointenzní léze v bílé hmotě jsou vzácné
- mohou být přítomny léze hluboké šedé hmoty (bazální ganglia, thalamus)

Jde o převážně monofázické onemocnění s největším výskytem v časném dětství. Incidence se odhaduje na 0,1 - 0,6 případů/100 000/rok (Pohl D. et al., 2016). Nejčastěji bývají postiženy děti mezi 5. - 8. rokem života s lehkou predominancí chlapců (Tanenbaum S. et al., 2002). Rozvoji ADEM často předcházejí příznaky celkové infekce nebo očkování (Cole J. et al., 2019). Onemocnění rychle progreduje a maxima tíže dosahuje v rozmezí 2 – 5 dnů (Tanenbaum S. et al., 2002). Až ve 25% případů si stav vyžádá pobyt na jednotce intenzivní péče, většinou z důvodu těžké poruchy vědomí, epileptických záchvatů či dechové insuficience (Absoud M. et al., 2011).

Na magnetické rezonanci mozku na T2 vážených sekvencích a sekvencích s potlačením signálu vody (FLAIR) typicky nacházíme mnohočetné, bilaterální, hyperintenzní, asymetrické, neostře ohraničené léze postihující bílou hmotu, popřípadě i hlubokou šedou hmotu, mozeček a mozkový kmen. Až v 1/3 případů jsou přítomna i ložiska na magnetické rezonanci míchy. Postkontrastní sycení lézí nalézáme zhruba ve 30% případů. (Tanenbaum S. et al., 2002). U většiny pacientů dochází na kontrolním vyšetření k regresí nálezů (Cole J. et al., 2019).

V mozkomíšním moku bývá lehká lymfo-monocytární pleocytóza, ale ve 42 – 72% případů je počet leukocytů v normě. Celková bílkovina v likvoru je zvýšená ve 23 – 62% případů. Naopak oligoklonální produkce IgG nebývá přítomna (Pohl D. et al., 2016).

V případě mozkové biopsie je histologicky přítomna perivaskulární demyelinizace se zánětlivými infiltráty makrofágů, T a B lymfocytů a ojedinělými plasmatickými buňkami a granulocyty v bílé hmotě. Perivaskulární léze mohou splývat ve větší ložiska demyelinizace. Jsou popisovány i kortikální léze. Všechny léze jsou stejného stáří, může dojít i k axonálnímu poškození (Young N. P. et al., 2010).

Pro léčbu ADEM neexistují žádné doporučené postupy. První volbou jsou intravenózní kortikoidy s následným perorálním taperem (Waldman A.T. et al., 2011). Popisuje se i efekt intravenózních imunoglobulinů a u refrakterních a fulminantně probíhajících případů se doporučuje plazmaferéza (Pohl D., Tenenbaum S., 2012).

Celková prognóza pacientů je velmi dobrá, u většiny dochází k plnému uzdravení. V některých případech může onemocnění zanechat dlouhodobý kognitivní deficit (Suppiej A. et al., 2014). Ve vzácných případech může dojít k úmrtí (Absoud M. et al. 2011).

3.1.2 Klinicky izolovaný syndrom (CIS)

Klinicky izolovaný syndrom představuje první klinickou epizodu demyelinizačního onemocnění centrálního nervového systému, přičemž příznaky trvají minimálně 24 hodin (Miller D.H. et al., 2012). Příznaky mohou být monofokální (optická neuritida, myelitida, mozečkový/kmenový syndrom, supratentoriální hemisferální syndrom), ale i polyfokální je-li postiženo více oblastí (Trabatti C. et al., 2016) a nejsou obvykle doprovázena encefalopatií. Ze své podstaty jde o monofázické onemocnění, u kterého však existuje riziko relapsu a rozvoje chronického onemocnění, např. roztroušené sklerózy či neuromyelitis optica (Miler D.H. et al., 2012). Diagnostická kritéria pro CIS byla vypracována Mezinárodní studijní skupinou pro dětskou roztroušenou sklerózu (Krupp L.B. et al., 2013) (Tab. 2)

Tab. 2: Diagnostická kritéria klinicky izolovaného syndromu (Krupp L.B. et al., 2013)

Diagnostická kritéria CIS
- monofokální nebo polyfokální klinická příhoda CNS s předpokládanou zánětlivou demyelinizační příčinou
- absence předchozí klinické anamnézy demyelinizačního onemocnění CNS
- absence encefalopatie
- magneticko-rezonanční nález nespĺňuje kritéria pro roztroušenou sklerózu

3.1.3 Optická neuritida (ON)

Optická neuritida je nejčastější manifestací CIS (Dale R.C. et al., 2009). Incidence je zhruba 0,2 případů/100 000/rok (Banwell B. et al., 2009), avšak chybí data z větších mezinárodních multicentrických studií. Až u 72% dětí mladších 10 let dochází k bilaterálnímu postižení, zatímco u dětí starších 10 let bývá postižení v 70% unilaterální (Waldman A.T. et al., 2011). Klinicky dochází k akutnímu až subakutnímu poklesu zrakové ostrosti. Na magnetické rezonanci nacházíme ztluštění optického nervu, na T2 vážených obrazech zvýšený signál podél nervu a chiazmatu, může docházet i k postkontrastnímu sycení. Provedení magnetické rezonance mozku a míchy je důležité pro zhodnocení případných dalších asymptomatických demyelinizačních lézí, které by svědčily pro

diagnózu komplexního demyelinizačního onemocnění jako je například roztroušená skleróza nebo neuromyelitis optica (Ramanathan S. et al., 2016). V mozkomíšním moku může být lehká pleocytóza. Oligoklonální produkce IgG představuje riziko pro rozvoj roztroušené sklerózy a je přítomna pouze u 15% pacientů s monofázickým průběhem (Heussinger N. et al., 2015). Terapeuticky jsou první volbou intravenózní kortikoidy. Při nedostatečném efektu lze podat intravenózní imunoglobuliny nebo provést sérii plazmaferéz (Yeh E.A. et al., 2016). U většiny pacientů je prognóza dobrá, existuje však riziko rozvoje relabujícího demyelinizačního onemocnění (Absoud M. et al., 2011).

3.1.4 Akutní myelitida

Akutní myelitida je další častou manifestací CIS. Přesná incidence není známa, ale odhaduje se na 1 – 3 případy/milion dětí/rok (Deiva K. et al., 2015). K různě vyjádřeným míšním projevům (porucha čítí, hybnosti, příp. sfinkterová porucha) dochází v rozmezí 4 hodin až 21 dní (Wolf V. L. et al., 2012). Na magnetické rezonanci léze postihují jak šedou tak bílou hmotu míšni a mohou mít charakter izolovaného ložiska či difuzního postižení. Jsou hyperintenzní na T2 vážených sekvencích a může docházet k jejich postkontrastnímu sycení. Léze přesahující více než 3 obratlové segmenty definují longitudinální extenzivní transverzální myelitidu (LETM) (Absoud M. et al., 2016). V mozkomíšním moku bývá až v 50% případů pleocytóza s převahou lymfocytů, ale normální nález není výjimkou. Oligoklonální pásy představují riziko rozvoje roztroušené sklerózy a u pacientů s monofázickým průběhem většinou nebývají přítomny (Halfman C., 2021). V rámci terapie jsou první volbou opět intravenózní kortikoidy (Defresne P. et al., 2001). Při nedostatečném efektu lze zvážit plazmaferézy nebo intravenózní imunoglobuliny. Na efektivitu žádné z terapií však neexistují klinické studie (Absoud M. et al., 2016). V porovnání s dospělými je outcome dětských pacientů lepší, až u poloviny dochází k plnému uzdravení. Jako následek myelitidy nejčastěji přetrvává sensorický deficit a sfinkterová porucha. Mortalita je asociována s vysoko uloženými krčními lézemi způsobujícími respirační selhání (Pidcock F.S. et al., 2007).

3.1.5 Roztroušená skleróza (RS)

Roztroušená skleróza je chronické imunitně zprostředkované demyelinizační onemocnění centrálního nervového systému. Incidence u dětí není přesně známa, dle jednotlivých studií se uvádí 0,13 – 0,51/100 000/rok (Lee J.Y. and Chitnis T., 2016). Většina dětí je diagnostikována v časně adolescenci, vzácně se onemocnění může objevit u dětí mladších 10 let (Deiva K., 2019). Až 10% pacientů léčených s roztroušenou sklerózou má své první

příznaky před 18 rokem věku (Lee J.Y. and Chitnis T., 2016). U naprosté většiny dětských pacientů má roztroušená skleróza relaps remitentní průběh, primárně progresivní forma je extrémně vzácná a vždy je nutno vyloučit jinou diagnózu (Fadda G. et al., 2021). Klinické příznaky závisí na lokalizaci lézí v CNS, mohou být monofokální i polyfokální, u dětí do 10 let je častější kmenové postižení (Lee J.Y. and Chitnis T., 2016).

V patogenezi roztroušené sklerózy dominuje chronický zánět, neurodegenerace a selhání reparačních mechanismů v CNS (Grigoriadis N. and van Pesch V., 2015). Mezi rizikové faktory pro její rozvoj patří genetická predispozice, epigenetické faktory, vlivy vnějšího prostředí jako například virové infekce, nedostatek vitamínu D, kouření, obezita a další (Yeshokumar A.K. et.al., 2017). Uplatňují se složky vrozené i získané imunity. Dochází k aktivaci antigen prezentujících dendritických buněk, jejich migraci za hematoencefalickou bariéru a indukci diferenciací paměťových T lymfocytů do prozánětlivých Th1 a Th17 lymfocytů, roli zde hrají i CD8+ T lymfocyty (Grigoriadis N. and van Pesch V., 2015). Vlivem prozánětlivých cytokinů v CNS pak makrofágy a mikroglie produkují další prozánětlivé cytokiny a radikály kyslíku a oxidu dusného, způsobující demyelinizaci a ztrátu axonů (Murphy A.C. et al., 2010). V zánětlivých lézích se nacházejí i B lymfocyty, které v rámci dysimunitní odpovědi produkují celou řadu protilátek, nejenom proti myelinu ale i proti neuronům a gliím (Fraussen J. et al., 2014). S postupem času dochází vlivem zánětu k neurodegeneraci a úbytku mozkové hmoty (Grigoriadis N. and van Pesch V., 2015).

Diagnostika se zakládá na klinickém obraze, nálezů na magnetické rezonanci mozku a míchy a vyšetření mozkomíšního moku. K poslední revizi McDonaldových diagnostických kritérií pro pacienty s roztroušenou sklerózou došlo v roce 2017 a je díky nim možné diagnostikovat roztroušenou sklerózu již v době první ataky (Tab. 3) (Thompson A.J. et. al., 2018). Kritéria jsou zatím určena pro dospělé pacienty, nicméně v běžné klinické praxi se aplikují i u dětských pacientů starších 12 let. Pro diagnózu je nezbytný důkaz diseminace v prostoru (DIS – dissemination in space) a čase (DIT – dissemination in time). Pro DIS je nutný průkaz dvou klinických epizod z různých oblastí CNS nebo nález typických demyelinizačních lézí na magnetické rezonanci nejméně ve dvou různých lokalitách (periventrikulární, juxtakortikální, infratentoriální, míšní). DIT znamená přítomnost alespoň dvou klinických epizod, popřípadě nález demyelinizačních lézí různého stáří na magnetické rezonanci, nebo přítomnost nové léze na kontrolním vyšetření. V mozkomíšním moku může být přítomna lehká lymfocytární pleocytóza, u dětí mladších 10

let jsou častěji přítomné neutrofilie, oligoklonální pásy má 50 – 90% dětských pacientů, přičemž u mladších 10 let jsou méně časté (Deiva K., 2019).

Tab. 3: McDonaldova diagnostická kritéria pro pacienty s RS z roku 2017 (Thompson A.J. et. al., 2018)

McDonaldova diagnostická kritéria pro RS 2017		
Počet atak	Počet lézí	Dodatečná data potřebná pro diagnózu RS
≥ 2	≥ 2	Nejsou nutná
≥ 2	1 (společně s jednoznačným důkazem o předchozí atace v anamnéze podmíněné lézí v jiné anatomické lokalizaci)	Nejsou nutná
≥ 2	1	Diseminace v prostoru demonstrována další klinickou atakou naznačující odlišnou lokalizaci v CNS nebo dle MR
1	≥ 2	Diseminace v čase demonstrována další klinickou atakou nebo dle MR nálezu nebo demonstrována pozitivitou OCB v likvoru
1	1	Diseminace v prostoru demonstrována další klinickou atakou naznačující odlišnou lokalizaci v CNS nebo dle MR a současně diseminace v čase demonstrována další klinickou atakou nebo dle MR nálezu nebo demonstrována pozitivitou OCB v likvoru

V rámci terapie se rozlišuje léčba akutní ataky a léčba chronická, která má za cíl stabilizaci onemocnění s dosažením tzv. NEDA (no evidence of disease activity = žádný průkaz aktivity onemocnění). V léčbě ataky se na prvním místě podávají intravenózní kortikoidy, při nedostatečném efektu lze terapii eskalovat plazmaferézou nebo intravenózními imunoglobuliny (Tenenbaum S.N., 2013). K prevenci relapsů se v první linii léčby používá glatiramer acetát nebo interferon beta, které modulují aktivitu T lymfocytů. V závislosti na aktivitě onemocnění se terapie eskaluje na další léky, které různými mechanismy ovlivňují funkci nebo migraci T lymfocytů, případně vedou k depleci T a/nebo B lymfocytů nebo i monocytů. Terapie roztroušené sklerózy a jednotlivá léčebná doporučení se neustále vyvíjí.

V porovnání s dospělými dochází u dětí k častějším relapsům. Paradoxně, i přes vysokou zánětlivou aktivitu, se děti z atak zotavují velmi dobře a jen vzácně již v dětství dochází k trvalému neurologickému deficitu (O'Mahony J. et al., 2015). Doba od první ataky do sekundárně progresivní formy je u dětí v porovnání s dospělými delší, avšak vzhledem k časnému nástupu choroby dojde k dosažení sekundární progrese v mladším věku (Yeshokumar A.K. et al., 2017).

3.1.6 Neuromyelitis optica a její spektrum (NMO/NMOSD)

Neuromyelitis optica a její spektrum je vzácné chronické zánětlivé demyelinizační onemocnění centrálního nervového systému primárně postihující optický nerv a míchu, ale i další oblasti jako je hypothalamus, area postrema a periaqueductální šedá hmota (Ferilli M.A.N. et al., 2021). Dlouho se předpokládalo, že se jedná o agresivní podtyp roztroušené sklerózy. Až objevením pro neuromyelitis optica specifických protilátek AQP4-IgG v roce 2004 se onemocnění vyčlenilo jako samostatná jednotka (Lennon V.A. et al., 2004). Stále však 10 – 40% případů zůstává AQP4-IgG negativních a diagnosticky spadají do spektra NMO (NMOSD) (Tenenbaum S. et al., 2016). Jde o vzácné onemocnění, jehož incidence je 0,05 – 0,4/100 000/rok, bez rozdílu věku (Pandit L. et al., 2015). Udává se, že zhruba u 3 – 5% případů začíná v dětství (Tenenbaum S. et al., 2016).

Jak již bylo zmíněno výše, na patofyziologii neuromyelitis optica se podílí jak komplementem, tak buňkami zprostředkovaná cytotoxicita, dochází k poškození astrocytů a sekundární demyelinizaci. V lézích, a to zejména okolo cév, se nacházejí depozita komplementu, IgM, IgG i buněčný infiltrát granulocytů (neutrofilů i eozinofilů) a T lymfocytů. Klíčovým znakem je ztráta AQP4 na astrocytech, která předchází jejich smrt (Popescu B.F., Lucchinetti C.F., 2012)

Diagnostika se zakládá na klinickém obraze, nálezích na magnetické rezonanci a v mozkomíšním moku, nezbytné je vyšetření AQP4-IgG v séru. Mezi nejčastější klinické projevy u dětí patří optická neuritida (50 – 75% pacientů) a transverzální myelitida (30 – 50% pacientů) nebo jejich kombinace. Rozvoji příznaků může předcházet infekce (Tenenbaum S. et al., 2016). Často se vyskytují kmenové příznaky, jako je zvracení, škytavka a léze kraniálních nervů (Kremer L. et al., 2014). Vzácně se popisuje diencefalický syndrom (McKeon A. et al., 2008). Poslední diagnostická kritéria z roku 2015 umožňují stanovení diagnózy i u AQP4-IgG negativních pacientů (Tab. 4) (Wingerchuk D.M. et al., 2015).

Tab. 4: Diagnostická kritéria pro NMOSD z roku 2015 (Wingerchuk D.M. et al., 2015)

<p>Diagnostická kritéria NMOSD</p>
<p>AQP4-IgG pozitivní</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. nejméně 1 hlavní klinický projev 2. pozitivní test na AQP-IgG, nejlépe metodou cell-based assay 3. vyloučení jiné možné diagnózy
<p>AQP4-IgG negativní nebo neznámý status protilátek</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. nejméně 2 hlavní klinické projevy, během jedné nebo více atak splňující následující požadavky <ul style="list-style-type: none"> - alespoň 1 z hlavních klinických projevů musí být optická neuritida, myelitida charakteru LETM nebo area postrema syndrom - diseminace v prostoru (2 a více různých hlavních klinických příznaků) - naplnění přídatných magneticko-rezonančních kritérií 2. negativní nebo nedostupný test na AQP4-IgG 3. vyloučení jiné možné diagnózy
<p>Hlavní klinické projevy</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. optická neuritida 2. akutní myelitida 3. area postrema syndrom (škytavka, zvracení) 4. akutní kmenový syndrom 5. symptomatická narkolepsie nebo akutní diencefalický syndrom s typickými diencefalickými lézemi na MR mozku 6. symptomatický cerebrální syndrom s typickými lézemi na MR mozku
<p>Přídavná magnetické-rezonanční kritéria pro AQP4-IgG negativní nebo neznámý status protilátek</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. optická neuritida: a) s normálním nálezem nebo nespecifickými změnami bílé hmoty na MR, nebo b) s T2 hyperintenzní nebo postkontrastně se sytící lézí optického nervu, přesahující více než ½ jeho délky nebo zasahující do chiasmatu 2. akutní myelitida: intramedulární léze přesahující 3 sousední míšní segmenty (LETM) nebo spinální atrofie přesahující 3 sousední míšní segmenty u pacienta s anamnézou, která je kompatibilní s akutní myelitidou 3. area postrema syndrom spojený s lézí dorzální meduly 4. akutní kmenový syndrom spojený s periependymální kmenovou lézí

Na magnetické rezonanci na T2 vážených obrazech v případě optické neuritidy nacházíme zvýšení signálu optického nervu, léze bývají typicky dlouhé, přesahující více než jednu polovinu nervu a mohou zasahovat až do chiasmatu, v akutní fázi se sytí po podání kontrastní látky, v chronických stádiích je přítomna atrofie nervu. Pro míšní postižení je charakteristický obraz longitudinální extenzivní transverzální myelitidy (LETM), kdy se jedná o centrálně uložené míšní léze zvýšeného signálu na T2 vážených obrazech přesahující více než tři míšní segmenty (Tenenbaum S. et al., 2016). Mozkové léze bývají

velké (>2cm), lokalizované v oblastech vysoké exprese AQP4, jako je okolí III. a IV. mozkové komory (McKeon A. et al., 2008).

V mozkomíšním moku nacházíme převážně lymfocytární pleocytózu, většinou výraznější než u pacientů s roztroušenou sklerózou, avšak až u 40% AQP-IgG pozitivních pacientů v době ataky může být počet leukocytů v likvoru v normě. Často jsou přítomny i neutrofilní a eozinofilní granulocyty a jejich přítomnost by neměla vést k chybné diagnóze infekce. Oligoklonální pásy bývají zhruba u 30% pacientů a v pozdějších fázích onemocnění mohou vymizet (Jarius S. et al., 2011).

V terapii se stejně jako u roztroušené sklerózy rozlišuje léčba ataky a léčba chronická, která má za cíl stabilizovat onemocnění, minimalizovat počet relapsů a zabránit vzniku těžkého neurologického deficitu. V akutním stádiu se začíná intravenózními kortikoidy, při nedostatečném efektu lze eskalovat intravenózními imunoglobuliny nebo sérií plazmaferéz. V případě těžkého relapsu je u dospělých pacientů dokonce plazmaferéza metodou první volby (Abboud H. et al., 2016). Existuje jen málo studií na efekt udržovací terapie u dětských pacientů. Používají se jiné léky než u roztroušené sklerózy, bylo dokonce prokázáno, že některé z nich naopak zhoršují průběh neuromyelitis optica (Kimbrough D.J. et al., 2012). V chronické terapii se běžně používají antimetabolity ovlivňující syntézu DNA proliferujících T a B lymfocytů, a dále pak monoklonální protilátka proti CD20, způsobující depleci B lymfocytů (Gombolay G.Y., Chitnis T., 2018; Tenenbaum S. et al., 2016). Naději na léčbu pak přinášejí některé nové monoklonální protilátky, které se začaly již používat u dospělých pacientů. Patří mezi ně inhibitor C5 složky komplementu eculizumab, protilátka proti IL-6 receptoru tocilizumab, protilátka proti CD19 inebilizumab a nepatogenní anti-AQP4 protilátka aquaporumab (Akaishi T, Nakashima I., 2017).

Prognóza dětských pacientů s NMOSD je vážná, u více než 90% pacientů dochází i přes léčbu k relapsům onemocnění a trvalému neurologickému deficitu (Gombolay G.Y., Chitnis T., 2018).

3.1.7 MOG-IgG asociovaná onemocnění

MOG-IgG asociovaná onemocnění představují nové heterogenní spektrum monofázických i relabujících demyelinizačních onemocnění CNS, která jsou asociovaná s MOG-IgG protilátkami. Jde o vzácná onemocnění s častějším výskytem v dětském věku a incidencí 0,31/100 000 dětí/rok, přičemž dívky a chlapci jsou postiženi stejně často (de Mol C.L. et al., 2020). Pozitivita MOG-IgG protilátek se vyskytuje zhruba u jedné třetiny dětí se

získaným demyelinizačním syndromem. Klinický fenotyp je různý, u mladších dětí je častější postižení mozku, kdežto u dospívajících a dospělých je častější postižení optického nervu a míchy (Bruijstens A.L. et al. 2020).

Patogeneze onemocnění není známa, doposud není jasné, zda jsou MOG-IgG přímo patogení a nebo je jejich přítomnost sekundární v důsledku destrukce myelinu. Histologicky je přítomna demyelinizace s částečným zachováním axonů, se zánětlivým infiltrátem T lymfocytů, makrofágů, známky aktivace mikroglie a depozita komplementu (Spadaro M. et al., 2015).

Nejčastějším projevem MOG- IgG asociovaných onemocnění je ADEM, který byl popsán již výše, klinicky se prakticky nedají odlišit MOG-IgG pozitivní a negativní formy (Baumann M. et al., 2015). Dalšími klinickými manifestacemi mohou být izolovaná optická neuritida, kde není výjimkou bilaterální postižení anebo transverzální myelitida charakteru LETM, časté je postižení míšního konu (Bruijstens A.L. et al. 2020). Pokud se vyskytnou současně, může mít MOG-IgG asociované onemocnění NMOSD fenotyp. Až 56% dětských pacientů s NMOSD má pozitivní MOG-IgG protilátky (Lechner C. et al., 2016). Riziko relabujícího průběhu zvyšuje přetrvávající seropozitivita MOG-IgG a vyšší věk (Waters P. et al., 2020). K relabujícím formám patří multifázický ADEM, ADEM následovaný optickou neuritidou (ADEM – ON), relabující optická neuritida (RON) a relabující NMOSD fenotyp. Vzácně se pozitivita MOG-IgG může vyskytovat u pacientů s encefalitidou i relabující, kombinací centrálního a periferního demyelinizačního postižení a u pacientů s leukodystrofií podobnému onemocnění (leukodystrophy-like fenotyp) (Bruijstens A.L. et al. 2020).

Diagnostika se kromě klinických projevů zakládá na vyšetření magnetickou rezonancí a odběru mozkomíšního moku. Nutné je vyšetření MOG-IgG v séru. V závislosti na fenotypu onemocnění na magnetické rezonanci mozku nacházíme na T2 vážených sekvencích velké neostře ohraničené léze bílé hmoty charakteristické pro ADEM, u především mladších dětí mohou být léze difuzní, splývavé a symetrické, napodobující leukodystrofií (Hacohen Y. et al., 2018). Pro míšní postižení jsou typické léze charakteru LETM s častější lokalizací v lumbální oblasti a oblasti míšního konu (Dubey D. et al., 2019). V případě postižení optického nervu bývají léze dlouhé, postihující více než polovinu nervu a lokalizované do jeho přední poloviny, časté je sycení po podání kontrastní látky (Song H. et al., 2019).

V mozkomíšním moku nacházíme pleocytózu ve 44-81% případů (Wynford-Thomas R. et al., 2019), jedná se převážně o lymfocyty a monocyty, přítomnost neutrofilů však není výjimkou (Jarius S. et al., 2020). Oligoklonální pásy jsou přítomny vzácně, pouze v 6-17% (Wynford-Thomas R. et al., 2019), většinou v souvislosti s atakou a v dalším průběhu mohou vymizet. Zhruba u poloviny pacientů je porušená hematoencefalická bariéra. Likvorologický nálezn se neliší u pacientů s monofázickým a relabujícím průběhem, může však být zcela v normě a to častěji u pacientů s fenotypem optické neuritidy (Jarius S. et al., 2020).

V terapii v akutním stádiu jsou první volbou intravenózní kortikoidy s následným perorálním taperem. V případě nedostatečného efektu lze terapii eskalovat intravenózními imunoglobuliny nebo plazmaferézou. Po první atace není doporučeno dlouhodobé podávání imunosupresivní terapie z důvodu, že onemocnění má ve většině případů monofázický průběh. Terapeutická doporučení v případě relapsu jsou dosud nejednoznačná (Bruijstens A.L. et al., 2020).

Prognóza je u většiny pacientů dobrá, v 68-96% případů dojde k plnému uzdravení. Reziduální neurologický deficit je častější u pacientů s transverzální myelitidou. Riziko relapsu je především u pacientů s přetrvávajícími vysokými titry protilátek a u pacientů kteří se prezentovali optickou neuritidou (Bruijstens A.L. et al., 2020).

3.2 Autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému s dominujícím postižením šedé hmoty

3.2.1 Anti-N-methyl-D-aspartát receptorová encefalitida (anti-NMDAR encefalitida)

Anti-NMDAR encefalitida nyní představuje nejčastější autoimunitní encefalitidu v dětském věku, přičemž se jedná o poměrně novou klinickou diagnózu. Incidence u dětí není přesně známá, udává se, že až 40% všech případů představují děti, dívky jsou postiženy častěji než chlapci (Titulaer M.J. et al., 2013; Florance N.R. et al., 2009). V 6-50% případů bývá anti-NMDAR encefalitida asociovaná s tumorem, u dívek nejčastěji s ovariálním teratomem, který může být i bilaterální (Scheer S., John R.M., 2016).

Role anti-NMDAR protilátek v patogenezi onemocnění byla popsána již výše. V histologickém obraze dominuje aktivace mikrogliie, depozita IgG ve všech oblastech, nejvíce v hippocampu. Lymfocytární infiltrát není běžný, perivaskulárně mohou být přítomny B lymfocyty a plasmocyty, vzácně T lymfocyty, stejně tak chybí depozita komplemetu (Tüzün E. et al. 2009).

Pro diagnostiku je stěžejní klinický obraz a pozitivita anti-NMDA protilátek v séru a mozkomíšním moku. Rozvoji onemocnění může předcházet prodromální stádium s „flu-like“ symptomy, jako jsou únava, bolesti hlavy a horečka. S odstupem několika dní následuje rozvoj neuropsychiatrických příznaků s poruchami chování a paměti, rozpadem řeči, insomnií, mohou být přítomny epileptické záchvaty a extrapyramidové příznaky, především typické orofaciální dyskinezy. V pozdějších stádiích dochází k poruchám vědomí, autonomní dysfunkci s centrální hypoventilací a nutností pobytu na jednotce intenzivní péče. (Dalmau J. et al., 2011). Nález na magnetické rezonanci mozku je ve většině případů v normě (Leypoldt F., Wandinger K.P., 2014). Mohou být přítomné nespecifické hyperintenzní změny na sekvencích s potlačením signálu vody (FLAIR) (Scheer S., John R.M., 2016). Lymfocytární pleocytóza s oligoklonální produkcí IgG může být přítomna v úvodu onemocnění, v pozdějších stádiích však může vymizet (Irani S.R. et al., 2010). Z pomocných diagnostických metod se využívá elektroencefalografie (EEG), která ve většině případů ukáže generalizované difuzní zpomalení (Leypoldt F., Wandinger K.P., 2014), u 30% pacientů mohou být zaznamenány vzorce takzvaných „extreme delta brush“, které jsou vysoce specifické pro anti-NMDAR encefalitidu (Schmitt S.E. et al., 2012). Nezbytné je provedení onkoscreeningu.

V první linii léčby se používají intravenózní kortikoidy, imunoglobuliny a plazmaferéza. V případě paraneoplastické etiologie je nezbytná resekce tumoru (Scheer S., John R.M., 2016).

Prognóza pacientů při včasné léčbě je dobrá, avšak rekonvalescence může trvat i více než 18 měsíců (Titulaer M.J. et al., 2013). U 25% pacientů může přetrvávat kognitivní deficit a poruchy chování a v 15% případů může dojít k relapsu (Dalmau J., Rosenfeld M.R., 2008).

3.2.2 Rasmussenova encefalitida

Rasmussenova encefalitida představuje extrémně vzácné progresivní zánětlivé onemocnění centrálního nervového systému postihující jednu mozkovou hemisféru, raritně může být postižení bilaterální. Incidence se udává 2–3 případy na 10^7 (Varadkar S. et al., 2014). Nejčastěji se vyskytuje u dětí mezi 6. a 8. rokem věku (Armangue T. et al., 2012). Projevuje se k terapii refrakterními epileptickými záchvaty až obrazem epilepsia partialis continua, kognitivní deteriorací, fokálním neurologickým deficitem a atrofizací postižené mozkové hemisféry. Etiologie onemocnění není známá, ale předpokládá se imunitní podklad s hlavní rolí cytotoxických T lymfocytů. Proč je postižení unilaterální, není jasné (Bien C.G. et al., 2005).

Stanovení diagnózy se zakládá na progresivním klinickém průběhu, nálezů atrofie jedné mozkové hemisféry na magnetické rezonanci, kde může být přítomné zvýšení signálu kortexu na T2 vážených sekvencích a sekvencích s potlačením signálu vody (Chiapparini L. et al., 2003). Nález v mozkomíšním moku bývá až v polovině případů v normě. Z pomocných vyšetření se využívá elektroencefalografie, kde je přítomna patologická aktivita nad postiženou hemisférou.

V terapii byl popsán částečný efekt intravenózních kortikosteroidů, intravenózních imunoglobulinů, rituximabu a tacrolimu na zpomalení průběhu onemocnění. Doposud jedinou možnou terapií k ovlivnění refrakterní epilepsie zůstává chirurgický výkon, takzvaná funkční hemisferotomie (Bien C.G. et al., 2005).

3.2.3 Další autoimunitní encefalitidy

Limbická encefalitida s protilátkami proti povrchovým a intracelulárním antigenům byla u dětí popsána jen v jednotkách případů (Tab. 5). Klinicky se projevuje akutním až subakutně vzniklým kognitivním deficitem, epileptickými záchvaty a psychiatrickými příznaky. Častý je paraneoplastický podklad (Armangue T. et al., 2012).

Tab. 5: Protilátky asociované s autoimunitními encefalitidami

Protilátky proti membránovému / synaptickému antigenům	anti-NMDAR	N-methyl-D-aspartát, excitační receptor pro glutamát
	anti-AMPA	alfa-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-izoxazolpro-pionát, excitační receptor pro glutamát
	anti-GABA B (=anti GluR1/2)	gamma-aminomáselná kyselina, pojednotky 1 a 2, inhibiční receptor pro glutamát
	anti-LGI, caspr-2	leucin-rich glioma inactivated protein 1, contactin-associated protein-like 2, napětově řízené draslíkové kanály
Protilátky proti intracelulárním antigenům / onkoneuronální protilátky	anti-Hu (= PCA1)	Purkinje-cell-cytoplasmic-antibody, cytoplazma Purkyňových buněk
	anti-Yo (= ANNA1), anti Ri (= ANNA2)	anti-neuronal-nuclear-antibody, jádro neuronů
	anti-Ma1, anti-Ma2	cytoplazma neuronů
	anti-amphiphysin	cytoplazma neuronů
	anti-CV2/CRMP5	collapsin-response mediator protein, cytoplazma oligodendrocytů
Ostatní	anti-GAD	intracelulární antigen, dekarboxyláza kyseliny glutamové

Imunitní podklad se předpokládá i u některých epileptických syndromů jako je horečkou indukovaný refrakterní status epilepticus (FIRES=Fever-Induced Refractory Epileptic Encephalopathy Syndrome), kde se jako spouštěč předpokládá infekce (van Baalen A. et al., 2009)

3.3 Ostatní blíže nezařazená autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému

3.3.1 Akutní cerebelitida/akutní cerebelární ataxie

Akutní cerebelitida je zánětlivé onemocnění projevující se akutním nástupem mozečkových příznaků jako je ataxie, nystagmus a dysmetrie. Doprovázející příznaky mohou být horečka, bolesti hlavy, zvracení a změny chování. Absence změněného mentálního stavu a/nebo abnormalit na magnetické rezonanci mozku je prvkem, který odlišuje akutní cerebelitidu od akutní cerebelární ataxie, která je v současné literatuře známá také jako postinfekční mozečková ataxie. Přesná incidence není známá, onemocnění se nejčastěji vyskytuje u předškolních a mladších školních dětí. Častá je asociace s virovými infekcemi, nejčastěji pak s virem varicella zoster (Bozzola E. et al., 2014), může se vyskytnout i po očkování (Lancella L. et al., 2017). Patogeneze onemocnění zůstává nejasná, může se uplatňovat jak přímé působení viru, tak neadekvátní imunitní reakce. Pro diagnostiku je stěžejní klinický obraz a průběh onemocnění. Na magnetické rezonanci mohou být přítomné zánětlivé léze v oblasti mozečku (De Bruecker Y. et al., 2004). V mozkomíšním moku bývá pleocytóza a elevace celkové bílkoviny, důležité je vyloučení neuroinfekce (Lancella L. et al., 2017). Stran terapie neexistují jasná doporučení, pacienti jsou často léčeni kombinací kortikosteroidů a antivirotik (Hennes E. et al., 2012). Prognóza pacientů je většinou dobrá a dochází k úpravě ad integrum, jsou ovšem popisovány i fulminantní případy s rozvojem nitrolební hypertenze (Levy E.I. et al., 2001).

3.3.2 Vaskulitidy centrálního nervového systému

Vaskulitida centrálního nervového systému představuje onemocnění, u kterého dochází k zánětlivému poškození mozkových cév a představuje nejčastější příčinu ischemické cévní mozkové příhody v dětství (Fullerton H.J. et al., 2007). Může se jednat o primární poškození cév centrálního nervového systému, které je extrémně vzácné nebo poškození sekundární ať už po infekční, nejčastěji po varicellové, či poškození v rámci systémových zánětlivých onemocnění. Klinický obraz je variabilní v závislosti na velikosti a počtu poškozených cév. Pro diagnostiku se využívají zobrazovací metody, kde jsou na magnetické rezonanci mozku přítomné zánětlivé či postischemické změny. Nezbytné je zobrazení cév,

které v případě postižení velkých tepen ukáže nerovnosti ve stěně cévy se zúžením jejího lumen. Při postižení malých tepen se nevyhneme mozkové biopsii s nálezem zánětlivého infiltrátu v cévní stěně. Nález v mozkomíšním moku může být zcela v normě. Terapie se odvíjí od příčiny onemocnění. Prognóza závisí na rozsahu postižení (Twilt M., Benseler S.M., 2013)

4 CÍLE PRÁCE

Mé postgraduální studium bylo zaměřeno na problematiku nových imunologických markerů v mozkomíšním moku u dětí s autoimunitním onemocněním CNS. Vyšetřovali jsme hladiny cytokinů a chemokinů asociovaných s různými podtypy imunitní odpovědi v mozkomíšním moku a séru. Zajímalo nás, zda jednotlivá onemocnění mají svůj vlastní chemo-cytokinový profil, zda vyšetřené hladiny korelují s tíží onemocnění, jeho průběhem a jsou ovlivněny použitou terapií. Dále nás zajímalo, zda by se některé z vyšetřovaných chemokinů a cytokinů daly využít v diagnostice těchto vzácných onemocnění v případech, kdy rutinní vyšetřovací metody selhávají.

Dané cíle byly řešeny v následujících studiích a výsledky publikovány (viz. přílohy):

Studie č. 1 - využití chemokinů a cytokinů pro diagnostiku zánětu CNS u dětských pacientů v kontextu rutinně využívaných biomarkerů

Studie č. 2 - stanovení hladin chemokinů a cytokinů v kontextu časného klinického průběhu u dětských pacientů s roztroušenou sklerózou

Studie č. 3 - klinický průběh protilátkově zprostředkované anti-NMDAR autoimunitní encefalitidy a jeho asociace s hladinami chemokinů a cytokinů v mozkomíšním moku

Studie č. 4 - efekt včasné imunoterapie na míru zánětu u pacientů s imunitně zprostředkovanou Rasmussenovou encefalitidou

Studie č. 5 - problematika dětských pacientů s akutní myelitidou, diagnostika a léčba

5 METODIKA, VÝSLEDKY, DISKUZE A ZÁVĚR

V následující kapitole jsou metodika, výsledky, diskuze a závěry jednotlivých studií prezentovány na souboru publikovaných prací, které vznikly v rámci řešení cílů práce.

5.1 Studie č. 1: Využitelnost chemokinů CCL2/MCP-1, CXCL8/IL-8, 10 a 13 a interleukinu 6 v dětské kohortě pacientů pro rozpoznání neurozánětu v kontextu tradičních zánětlivých biomarkerů mozkomíšního moku

Autoimunitní zánětlivé postižení CNS představuje široké spektrum závažných a často invalidizujících onemocnění. Aktuálně dostupné diagnostické možnosti zahrnují především vyšetření mozkomíšního moku, některých sérových biomarkerů a zobrazovací vyšetření magnetickou rezonancí.

Hlavní známkou zánětu v mozkomíšním moku je pleocytóza, která ovšem u autoimunitních postižení CNS nedosahuje dostatečné senzitivity a specifity. Navíc počet imunitních buněk v mozkomíšním moku může kolísat v různých stádiích onemocnění (Irani S.R. et al., 2010; Matas S.L. et al., 2013; Baunbæk Egelund G. et al., 2017). Chemokiny a cytokiny hrají hlavní roli v rozvoji zánětu a význam řady z nich byl již zkoumán u různých neurologických diagnóz avšak dosud bez jednoznačných závěrů pro klinickou praxi (Kothur K. et al., 2015)

V této práci jsme se zaměřili na možnost klinického využití chemokinů CCL2/MCP-1, CXCL8/IL-8, CXCL10 a CXCL13 a prozánětlivého cytokinu IL-6 v diagnostice zánětu CNS u dětských pacientů. Hladiny vybraných chemokinů a cytokinů jsme stanovovali pomocí multiplexové analýzy Luminex v mozkomíšním moku a séru u celkem 87 symptomatických pacientů s jak infekčním, tak autoimunitním zánětlivým postižením CNS (ADEM n=7, ADEM-ON n=1, anti-NMDAR encefalitida n=8, Rasmussenova encefalitida n=5, cerebelitida n=4, encefalitida nejasné etiologie n=7, CIS n=25, RS n=17, NMOSD n=2, neuroborrelióza n=11), u 16 pacientů byl k dispozici i vzorek po uzdravení, a u 37 kontrol. Výsledky jsme srovnávali s rutinně používanými tradičními biomarkery zánětu v mozkomíšním moku, s počtem leukocytů, oligoklonální produkcí IgG a poruchou hematoencefalické bariéry (QAlb). Zaměřily jsme se také na to, zda jednotlivé skupiny onemocnění mají svůj vlastní „chemo-cytokinový profil“, umožňující například spolehlivější diagnostiku.

U symptomatických vzorků mozkomíšního moku byly hladiny všech sledovaných chemokinů a cytokinů zvýšeny ve srovnání s kontrolami. V séru jsme zaznamenali pouze

sníženou hladinu CCL2/MCP-1. Při porovnání symptomatických vzorků a vzorků pacientů v rekonvalescenci byly v mozkomíšním moku hladiny CXCL8/IL-8, CXCL10, CXCL13 a IL-6 významně sníženy u pacientů v rekonvalescenci, u CCL2/MCP-1 nebyl žádný rozdíl. V rekonvalescentních sérech přetrvávala pouze zvýšená hladina CCL2/MCP-1. Když jsme dále porovnali pacienty v rekonvalescenci a kontroly zůstal v mozkomíšním moku zvýšený pouze IL-6, v séru nebyly žádné rozdíly.

Hladiny CXCL8/IL-8, CXCL10, CXCL13 a IL-6 pozitivně korelovaly s pleocytózou v likvoru a poruchou hematoencefalické bariéry. S oligoklonální produkcí IgG v likvoru korelovaly pouze CXCL13 a IL-6.

Zajímalo nás, zda některý z vyšetřovaných chemokinů a cytokinů může mít vyšší specifitu a senzitivitu pro stanovení zánětu v CNS než doposud používané markery. K tomu jsme využili ROC křivky. Vypočítali jsme prahové hodnoty, které poskytovaly optimální kompromis mezi specifitou a senzitivitou jako kritérium pro rozlišení zánětlivých procesů CNS (tj. optimální prahové hodnoty). Kromě optimálních prahů byly z křivek ROC pro každý chemokin a cytokin odvozeny také prahy 97% specifity a jim odpovídající senzitivity (tj. hodnoty, které zajišťovaly alespoň 97% specifitu a méně než 3% falešnou pozitivitu pro zánětlivý proces CNS). Dle ROC křivek se hladina CXCL13 v mozkomíšním moku ukázala jako nejspolehlivější indikátor zánětu v CNS, který předčil dosud nejvyužívanější počet leukocytů v likvoru (CXCL13: specifita/senzitivita: 97/72% a 97/61% u vzorků bez pleocytózy vs. počet leukocytů v likvoru: specifita/senzitivita: 97/62%). Klinická užitečnost zbývajících vyšetřovaných hladin chemokinů a cytokinů v mozkomíšním moku byla stanovena v sestupném pořadí dle senzitivity odpovídající prahům, které zajistily 97% specifitu pro zánět ve vzorcích bez pleocytózy (pg/ml; senzitivita %): IL-6 (3,8; 34), CXCL8/IL-8 (32; 26), CXCL10 (317; 24) a CCL2/MCP-1 (387; 10).

Zaznamenali jsme různé vzorce chemokinů a cytokinů v mozkomíšním moku související s určitými diagnózami. U pacientů s neuroborreliózou, Rasmussenovou encefalitou a roztroušenou sklerózou byla nápadně zvýšená hladina CXCL13, u pacientů s encefalitidami různé etiologie se vyskytovala také elevace CXCL10.

Již dříve bylo publikováno, že hladiny vybraných chemokinů a cytokinů v mozkomíšním moku jsou často zvýšené, zejména u pacientů (dospělých nebo dětí) s infekčními chorobami (Michlmayr D. et al., 2014; Pinto Junior V.L. et al., 2011; Coutinho L.G. et al., 2013; Pranzatelli M.R., 2018; Alvarez E. et al., 2013; Wang C. et al., 2016, Remy M.M et

al. 2017). V naší studii byla většina symptomatických vzorků získána od pacientů s neinfekčními zánětlivými onemocněními CNS. Hladiny všech vyšetřovaných chemokinů a cytokinů v mozkomíšním moku byly vyšší než u kontrol, zatímco v séru byly zaznamenány minimální rozdíly. Naše zjištění také korespondují s předchozím pozorováním, že hladiny některých chemokinů a cytokinů se po úspěšné léčbě nebo uzdravení snižují (Wang C. et al., 2016; Rupprecht T.A. et al., 2009; Alvarez E. et al., 2015).

Při zaměření se na chemokinové a cytokinové hladiny u jednotlivých diagnóz byly naše výsledky také v souladu s některými již dříve publikovanými daty (Pranzatelli M.R., 2018). Individuálně vysoká prediktivní hodnota CXCL13 byla pozorována u pacientů s neuroborreliózou (Remy M.M et al. 2017; Rupprecht T.A. et al., 2005; van Burgel N.D. et al.; 2011). CXCL13 a CXCL8/IL-8 byly studovány (samostatně i v kombinaci s IL-12p40 nebo CXCL10) v souvislosti s roztroušenou sklerózou a neurosyfilis (Wang C. et al., 2016; Bielekova B. et al., 2012). Navzdory rozdílným absolutním hodnotám vykazovaly oba markery vysokou prediktivní přesnost pro daná onemocnění. Zvýšené hladiny CXCL10 v mozkomíšním mozku byly popisovány u pacientů s encefalitidou infekční i neinfekční etiologie (Kothur K. et al., 2016). Prediktivní přesnost CXCL10 při obecném rozpoznání zánětu v CNS byla v naší studii nízká, specifické zaměření na vzorky od pacientů s encefalitidou však odhalilo zvýšené hladiny CXCL10 ve srovnání s pacienty s demyelinizačními poruchami nebo kontrolami.

Závěrem tato naše práce ukázala nedostatečnou senzitivitu tradičních biomarkerů v mozkomíšním moku v diagnostice neinfekčních zánětlivých onemocnění CNS a nově zohlednila hladinu CXCL13 v mozkomíšním moku jako nejlepší individuální biomarker zánětu v CNS různé etiologie, a to zejména při absenci pleocytózy. Hladiny CXCL13 byly zvýšeny u pacientů napříč diagnózami a v souladu s jinými studiemi korelovaly s tradičními biomarkery (Kowarik M.C. et al., 2012; Krumbholz M. et al., 2006; Bielekova B. et al., 2012; Brettschneider J. et al. 2010; Remy M.M et al. 2017). Ostatní individuálně zkoumané chemokiny a IL-6 v likvoru postrádaly dostatečnou specifitu pro zánětlivé onemocnění. Nejslabším prediktivním biomarkerem zánětu v CNS byl chemokin CCL2/MCP-1, což je v souladu s předchozími zprávami o omezené klinické užitečnosti hladin CCL2/MCP-1 u pacientů s roztroušenou sklerózou a encefalitidou (Kothur K. et al., 2016; Sørensen T.L. et al. 2004).

5.2 Studie č. 2: Roztroušená skleróza u dětí: Analýza hladin chemokinů a cytokinů v kontextu časného klinického průběhu

Systematická pozorování ukazují, že klinický průběh roztroušené sklerózy se u dětí a dospělých liší (Lee J.Y. and Chitnis T., 2016; Alroughani R, Boyko A, 2018). Míra zánětu je u dětských pacientů vyšší a k nezvratnému axonálnímu poškození dochází dříve (Pfeifenbring S. et al 2015). Na samém začátku je onemocnění agresivnější, často s multifokálními příznaky a k relapsům dochází častěji (Gorman M.P. et al. 2009, Benson L.A. et al 2014). Příčina agresivnějšího průběhu roztroušené sklerózy u dětí není známá, a proto se stále hledají markery a další faktory, které by průběh onemocnění predikovaly.

V této studii jsme se zaměřili na určení hladiny chemokinů a cytokinů v mozkomíšním moku a séru v době diagnózy u dětských pacientů s roztroušenou sklerózou, a dále na to, zda stanovené hladiny mají asociaci s dobou do prvního relapsu onemocnění, což by mohlo mít potenciální využití pro klinickou praxi.

U 34 dětských pacientů s roztroušenou sklerózou a 20 kontrol jsme pomocí multiplexové analýzy Luminex stanovili hladiny chemokinů CCL2/MCP-1, CXCL8/IL-8, CXCL10, CXCL13 a cytokinů IFN γ , IL-4, IL-17A a pomocí enzymové eseje ELISA hladinu BAFF.

Analyzovali jsme pouze hladiny chemokinů a cytokinů, které byly detekovány ve většině vzorků. Hladina CXCL8/IL-8 ($p=0.002$), CXCL10 ($p=0.001$) a CXCL13 ($p<0.001$) byla v mozkomíšním moku u pacientů s roztroušenou sklerózou vyšší než u kontrol, a v případě CXCL10 a CXCL13 korelovala s pleocytózou a oligoklonální produkcí IgG. Hladiny CCL2/MCP-1 v mozkomíšním moku negativně korelovala s poruchou hematoencefalické bariéry. V sérech nebyly zaznamenány žádné rozdíly.

V dalším kroku nás zajímalo, zda jsou hladiny chemokinů a cytokinů v úvodu onemocnění nějakým způsobem spojené s prvním relapsem onemocnění. Ke klinickému relapsu za dobu sledování došlo přesně u poloviny pacientů (medián 6 měsíců), přičemž doba sledování pacientů bez relapsu byla signifikantně delší než doba do prvního relapsu ($p=0.003$). Porovnali jsme proto skupinu pacientů s relapsem a skupinu bez relapsu. Ve skupině pacientů s relapsem jsme dále hladiny chemokinů a cytokinů korelovali s dobou do prvního relapsu. Jediná hladina CCL2/MCP-1 v mozkomíšním moku byla snížena u pacientů s relapsem ($p = 0,0623$) a pozitivně korelovala s dobou do prvního relapsu ($p = 0,0253$).

V souladu s pracemi publikovanými u dospělých, i u našich dětských pacientů s roztroušenou sklerózou bez léčby jsme pozorovali zvýšené hladiny CXCL13, CXCL10 a CXCL8/IL-8 v mozkomíšním moku ve srovnání s kontrolními skupinami (Renoux C. et al., 2007; Krumbholz M. et al., 2006; Khademi M. et al., 2011; Bielekova B. et al., 2012; Iwanowski P. et al., 2017; Sørensen T.L. et al., 2001; Scarpini E. et al., 2002). CXCL13 je klíčovým chemokinem pro nábor B lymfocytů do CNS a jeho hladiny běžně korelují s intratekální produkcí IgG (Krumbholz M. et al., 2006; Khademi M. et al., 2011; Bielekova B. et al., 2012; Iwanowski P. et al., 2017; Kowarik M.C. et al., 2012). Naproti tomu CXCL10, je silným chemoatraktantem pro T lymfocyty (Kurachi M. et al., 2011). CXCL13 a CXCL10 hrají významnou roli při udržování intratekálního zánětu (Bartosik-Psujek H., Stelmasiak Z., 2005; Kowarik M.C. et al., 2012; Kurachi M. et al., 2011; Phares T.W. et al., 2013). U dospělých pacientů s roztroušenou sklerózou ukazují zvýšené hladiny těchto chemokinů v mozkomíšním moku na zánětlivou aktivitu (Khademi M. et al., 2011) a jsou spojeny s pleocytózou a demyelinizací (Vazirinejad R. et al., 2014).

CXCL8/IL-8 je další prozánětlivý chemokin, který primárně přitahuje a aktivuje neutrofilů. Neutrofilů jsou četnější v mozkomíšním moku dětí s roztroušenou sklerózou (Chabas D. et al., 2010) a zřejmě hrají roli v progresi onemocnění (Casserly C.S. et al., Mar). Ve shodě s našimi zjištěními, zvýšené hladiny CXCL8/IL-8 v mozkomíšním moku na rozdíl od CXCL13 (a CXCL10) nekorelovaly s pleocytózou nebo intratekální produkcí IgG u pacientů s roztroušenou sklerózou (Bielekova B. et al., 2012).

CCL2/MCP-1 je silným chemoatraktantem pro monocyty. Na zvířecích modelech bylo prokázáno, že pokles hladiny CCL2/MCP-1 odpovídá jeho zvýšené spotřebě (Mahad D. et al., 2006). Hladina CCL2/MCP-1 v mozkomíšním moku byla jediným parametrem u našich dětských pacientů, který se nelišil od kontrol a negativně koreloval s poruchou hematoencefalické bariéry (vyjádřenou pomocí QA1b). Naproti tomu řada nezávislých studií uvádí konzistentní, významné snížení hladiny CCL2/MCP-1 v mozkomíšním moku dospělých pacientů (Sørensen T.L. et al., 2001; Scarpini E. et al., 2002; Bartosik-Psujek H., Stelmasiak Z., 2005). Kromě toho rozdílné hladiny CCL2/MCP-1 ve srovnání s jinými chemokiny a absence korelace s pleocytózou naznačují, jeho odlišné zapojení do patogeneze roztroušené sklerózy (Sørensen T.L. et al., 2001).

Studii analyzujících hladiny chemokinů/cytokinů v kontextu průběhu onemocnění u pacientů s klinicky definitivní roztroušenou sklerózou je málo. Bylo zjištěno, že v mozkomíšním moku dospělých korelují hladiny CXCL13 s mírou relapsů (Khademi M. et

al., 2011) a že zvýšené koncentrace CXCL8/IL-8 a CXCL10 a snížené koncentrace CCL2/MCP-1 jsou spojeny s relapsy (Sørensen T.L. et al., 2001; Scarpini E. et al., 2002; Bartosik-Psujek H., Stelmasiak Z., 2005). V této studii jsme hodnotili pouze prostý výskyt klinického relapsu (nikoliv počet relapsů za určité období), nezjistili jsme však významné rozdíly ve většině počátečních hladin chemokinů/cytokinů mezi pacienty s následným relapsem a bez něj. Nicméně jsme pozorovali, že hladina CCL2/MCP-1 v mozkomíšním moku měla tendenci být nižší u pacientů s relapsem než u pacientů bez relapsu a korelovala s dobou do ataky.

Závěrem lze shrnout, že v této práci jsme ukázali zvýšení hladiny chemokinů podílejících se jak na vrozené tak získané imunitní odpovědi u dětských pacientů s roztroušenou sklerózou. Iniciálně nízká hladina CCL2/MCP-1 a její korelace s dobou do prvního relapsu by v budoucnu spolu s dalšími faktory mohla pomoci při predikci rizika těžkého průběhu onemocnění a stratifikaci pacientů při volbě iniciální terapie.

5.3 Studie č. 3: Anti-N-methyl-D-aspartátová receptorová encefalitida:

klinický průběh ve světle hladin chemokinů a cytokinů v mozkomíšním moku

Anti-NMDAR encefalitida patří mezi recentně zjištěné protilátkově zprostředkované autoimunitní onemocnění CNS (Titulaer M.J. et al., 2013). Po navázání protilátky na NMDA receptor dochází k jeho internalizaci, což je spojeno s celou řadou jak neurologických tak psychiatrických příznaků (Dalmau J. et al., 2008). V úvodu onemocnění dochází k pleocytóze v mozkomíšním moku (Irani S.R. et al., 2010), postupně byla prokázána úloha B lymfocytů (Tüzün E. et al., 2009; Dalmau J. et al. 2011; Hachiya Y. et al., 2013). Jak významnou roli zde mají T lymfocyty není jasné.

Abychom přispěli k současným znalostem o imunitních mechanismech, které se podílejí na vzniku anti-NMDAR encefalitidy, vyšetřovali jsme komplexní soubor chemokinů a cytokinů souvisejících s funkcí B a T lymfocytů ve vzorcích mozkomíšních moků a sér pacientů v různých fázích onemocnění.

Pomocí multiplexové analýzy Luminex jsme vyšetřili chemokiny CCL2/MCP-1, CXCL8/IL-8 a CXCL10 a cytokiny IFN γ , IL-2, IL-4, IL-7, IL-15, IL-17A a TNF α . A pomocí metody ELISA chemokiny BAFF a CXCL13. Hladiny chemokinů a cytokinů z jednotlivých období jsem korelovali s modifikovanou Rankinovou škálou (mRS, značící klinický nález) a pleocytózou.

Do studie bylo zařazeno 9 pacientů s potvrzenou anti-NMDAR encefalitidou, od kterých bylo k dispozici celkem 27 vzorků mozkomíšních moků a sér získaných v průběhu léčby a klinického sledování. Vzorky byly rozděleny do třech časových období od nástupu klinických příznaků: období 1 (8 pacientů, časový bod odběru vzorků: medián 40 dnů, rozmezí 4-60 dnů), období 2 (7 pacientů, časový bod odběru vzorků: medián 173 dnů, rozmezí 143-200 dnů), období 3 (6 pacientů, časový bod odběru vzorků: medián 390 dnů, rozmezí 320-776 dnů).

K maximu tíže klinických projevů došlo u všech pacientů do 30 dnů od začátku onemocnění (medián 23 dnů, rozmezí 6-30 dnů). Doba zotavení trvala měsíce, mRS významně poklesla v období 2 (medián mRS = 2) ve srovnání s obdobím 1 (medián mRS = 4, $P = 0,0006$). Klinické zlepšení pokračovalo do období 3 (medián mRS = 1), ačkoli tento výsledek nebyl významný. U jedné pacientky došlo k obzvláště těžkému průběhu onemocnění.

Všichni pacienti byli léčeni dle platných mezinárodních doporučení. Terapie byla zahájena do 60 dnů od začátku onemocnění ve všech případech kromě jednoho pacienta (medián 21 dní, rozmezí 6–320 dní). Jedné pacientce v komatu, refrakterním na léčbu, byla podána experimentální terapie.

Na počátku onemocnění (období 1) byly signifikantně zvýšené hladiny chemokinů CXCL10 a CXCL13 v mozkomíšním moku, hladina CXCL10 zůstávala významně zvýšená i v následujícím období 2. Hladiny cytokinů $INF\gamma$, $TNF\alpha$ a IL-17A souvisejících s Th buněčnou imunitní odpovědí byly v mozkomíšním moku zvýšené po celou dobu sledování v porovnání s kontrolami, stejně jako hladina IL-15. Koncentrace IL-7 v mozkomíšním moku byla u pacientů ve srovnání s kontrolami mírně zvýšena až v pozdějších fázích onemocnění (během období 2 a 3). Hladiny CXCL10 a CXCL13 pozitivně korelovaly s pleocytózou. V séru jsme nezaznamenali žádné významné rozdíly. V hladinách zbylých chemokinů a cytokinů nebyly pozorovány rozdíly, nebo byly pod detekčním limitem.

Současně jsme se izolovaně zaměřili na pacientku s extrémně těžkým průběhem, u které i přes včasnou imunoterapii trvala progresse onemocnění 28 dní a následně zůstala 344 dní v kómatu. Hodnotili jsme 9 párových vzorků mozkomíšního moku a séra, které byly odebrány během 25 měsíčního období sledování. V prvních dvou vzorcích, kdy docházelo k horšení klinického stavu, byla pozorována progresse pleocytózy ($7/\mu l$, resp. $77/\mu l$) a výrazně zvýšené hladiny všech zkoumaných chemokinů a cytokinů. Zvýšení hladiny

CXCL10 dokonce předcházelo zvýšení hladin CXCL13 a BAFF a tyto koncentrace dosahovaly nejvyšších hodnot ze všech pacientů. V následujících vzorcích z období kómatu již pleocytóza nebyla přítomna a hladiny CXCL10, CXCL13 a BAFF nebyly zvýšené. Naproti tomu zůstávalo zvýšení hladin $\text{INF}\gamma$, $\text{TNF}\alpha$ a IL-17A, IL-7 a IL-15 v mozkomíšním moku po celou dobu sledování a k jejich poklesu došlo přechodně až krátce před klinickým zlepšením.

Naše studie zaměřující se na komplexní spektrum chemokinů a cytokinů v průběhu anti-NMDAR encefalidity ukázala významné změny hladin chemokinů souvisejících s T a B lymfocyty (CXCL10 a CXCL13) v mozkomíšním moku. Výrazně zvýšené hladiny těchto chemokinů byly pozorovány v časně fázi onemocnění, kdy byly klinické příznaky nejvýraznější. Jejich hladiny navíc korelovaly s pleocytózou mozkomíšního moku. Zajímavé je, že počáteční hladiny CXCL10 a CXCL13 byly nejvyšší u nekomplikovanější pacientky během jejího rychlého klinického zhoršování. Během následujících období se hladiny těchto chemokinů snižovaly. CXCL13 byl nedávno navržen jako biomarker léčebné odpovědi u anti-NMDAR encefalidity (Leypoldt F. et al., 2015). Naše zjištění týkající se CXCL10 a CXCL13 vyvolala otázku, zda by počáteční hladiny těchto chemokinů mohly být potenciálními prediktivními biomarkery závažnosti onemocnění.

Předpokládá se, že B lymfocyty v kompartmentu CNS přežívají díky hladinám BAFF (Peery H.E. et al., 2012), které byly dříve studovány u jiných patologií CNS spojených s B lymfocyty (Krumbholz M. et al., 2012; Pranzatelli M.R. et al., 2013). Navzdory tomuto očekávání nebyly v naší studii zjištěny žádné významné rozdíly v koncentracích BAFF.

Dále jsme uvažovali, že by se na imunopatogenezi onemocnění mohly podílet T lymfocyty a zkoumali soubor specifických cytokinů odrážejících jejich zapojení. Na zvířecích modelech bylo zjištěno, že Th17 lymfocyty účinněji podporují B lymfocyty mimo zárodečná centra než Th1 lymfocyty (Patakas A. et al., 2012). Naše měření ukázala mírné, avšak významné zvýšení hladin $\text{INF}\gamma$, $\text{TNF}\alpha$, IL-17A, IL-7 a IL-15 v mozkomíšním moku po celou dobu zkoumaného období. Význam těchto zjištění zůstával nejasný a vyžadoval další zkoumání.

Závěrem této práce lze shrnout, že elevace chemokinů a cytokinů pouze v mozkomíšním moku podpořila hypotézu o kompartmentalizaci imunopatologického procesu v průběhu anti-NMDAR encefalidity v oblasti CNS. Dynamika hladiny CXCL10 a CXCL13 svědčila pro to, že k chemoatrakci imunitních buněk do CNS dochází zejména v časných fázích onemocnění. Roli T lymfocytů u anti-NMDAR encefalidity jsme neobjasnili, nicméně naše

zjištění týkající se elevace CXCL10, IFN γ , TNF α , IL-17A a IL-15 poukazuje na jejich pravděpodobné zapojení v imunopatogenezi onemocnění.

5.4 Studie č. 4: Analýza účinku imunoterapie u Rasmussenovy encefalitidy

Rasmussenova encefalitida se projevuje náhlým rozvojem katastrofické farmakorezistentní epilepsie u dříve zdravých dětí, typicky v předškolním věku. Ve většině případů je postižená pouze jedna z hemisfér, ta postupně atrofuje a rozvíjí se kognitivní deteriorace s hybnou parézou na kontralaterální polovině těla. Etiologie onemocnění zatím není jasná, předpokládá se imunitní podklad (Varadkar S. et al., 2014). Imunohistochemické studie ukázaly komplexní zapojení T lymfocytů v mozku a vliv granzymu B na neurony a astrocyty, ale cílové antigeny dosud nebyly identifikovány (Bauer J. et al., 2007; Al Nimer F. et al., 2017). Klonální expanze CD8⁺ T lymfocytů v CNS je výrazným rysem Rasmussenovy encefalitidy. Sekvenování receptorů CD8⁺ T lymfocytů odhalilo, že klony nalezené v mozku expandují i na periférii a přetrvávají roky. (Schwab N. et al., 2009; Schneider-Hohendorf T. et al., 2016). Klony CD4⁺ i CD8⁺ T lymfocytů produkují množství cytokinů (Al Nimer F. et al., 2017). V jednotlivých případech či malých skupinách pacientů byl popsán efekt imunosupresivní a imunomodulační terapie. Doposud je však jedinou možností jak ovlivnit epilepsii neurochirurgický zákrok, během kterého dochází k funkčnímu rozpojení obou hemisfér, takzvaná funkční hemisferotomie.

V této práci jsme analyzovali vzorky mozkomíšních moků, krve a posléze i mozkové tkáně u 7 dětí s Rasmussenovou encefalitidou, které podstoupily funkční hemisferotomii. Hodnotili jsme vliv použité imunoterapie na imunologické parametry v mozkomíšním moku a patologické nálezy v mozkové tkáni. Srovnávali jsme lymfocytární subpopulace a 12 chemokinů a cytokinů v mozkomíšním moku a krvi mezi pacienty a kontrolami. U čtyř pacientů, kteří měli opakované odběry jsme hodnotili dynamiku výše uvedených parametrů. Celkem se nám podařilo získat 24 vzorků mozkomíšních moků, 30 vzorků krve a 45 vzorků mozkové tkáně odebrané z různých částí mozku během neurochirurgického výkonu. Správná diagnóza byla stanovena se zpožděním od výskytu prvních příznaků onemocnění (medián 9 měsíců; rozmezí 1-115) (Tab. 6). Imunoterapie byla ve všech případech zahájena v době farmakorezistentní epilepsie, výjimkou byl jeden pacient, který dostával nízkou dávku perorálních steroidů v prodromální fázi kvůli abnormálnímu zobrazovacímu vyšetření mozku. Byly použity různé typy imunoterapie (Tab.7), ale žádná z terapií nezvrátila refrakterní epilepsii, ačkoli u všech pacientů došlo k určitému dočasnému

pozitivnímu ovlivnění klinického stavu. Hemisferotomie byla nakonec provedena u všech pacientů (medián 26 měsíců od začátku onemocnění, rozmezí 12-126).

Hladiny chemokinů CCL2/MCP-1, CXCL8/IL-8, CXCL10 a CXCL13 a cytokinů IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-15, IL-17A a IFN γ byly měřené pomocí multiplexové analýzy Luminex, hladina BAFF pak pomocí metody ELISA. Ke stanovení lymfocytárních subpopulací v mozkomíšních mocích, krvi a tkáních jsme využily průtokové cytometrie. Odebrané tkáně byly dále vyšetřeny histologicky a imunohistochemicky se zaměřením na přítomnost glie a populací B a T lymfocytů.

Tab. 6: Shrnutí demografických a klinických údajů.

Pacient	postižená hemisféra	prodromy (měsíce)	Doba od prvních příznaků (měsíce)		
			do imunoterapie	do diagnózy	do operace
P1	dominantní	3	12	12	44
P2	dominantní	2	5	7	26
P3	nedominantní	1	2	1	22
P4	nedominantní	5	5	5	12
P5	nedominantní	1	3	9	13
P6	nedominantní	0,5	3	9	69
P7	nedominantní	1	115	115	129

Tab. 7: Shrnutí imunoterapie: IVIG – intravenózní imunoglobuliny, AZA – azathioprin, TAC – tacrolimus, MMF – mykofenolát mofetil, CPA – cyklefosfamid, RTX – rituximab, NAT – natalizumab, ALEM – alemtuzumab, ITMTX – intrathekální metotrexát

Pacient	Přehled imunoterapie							
	Kortikoidy	IVIG	AZA/TAC/MMF	CPA	RTX	NAT	ALEM	ITMTX
P1	ano	ano	ano	ne	ano	ne	ano	ano (8x)
P2	ano	ano	ne	ano (4x)	ne	ano	ne	ne
P3	ano	ano	ne	ano (4x)	ne	ne	ne	ne
P4	ano	ano	ne	ano (4x)	ne	ne	ne	ne
P5	ano	ano	ano	ne	ne	ne	ne	ano (1x)
P6	ano	ano	ano	ne	ne	ne	ne	ne
P7	ano	ano	ne	ne	ne	ne	ne	ne

Histopatologické nálezy v době hemisferotomie odpovídaly diagnóze Rasmussenovy encefalitidy u všech pacientů. Identifikovali jsme tři odlišné vzorce: A) U P1, P2 a P4 - **nízká zánětlivá aktivita** s ojedinělými lymfocyty, bez neuronofagie a gliových uzlů, mírná

glióza a minimální kortikální atrofie. B) U P3 a P5 – **výrazná zánětlivá aktivita** s hojnými lymfocytárními infiltráty, neuronofagií, gliovými uzlíky, výraznou gliózou a kortikální atrofií. C) U P6 a P7 - **mírná zánětlivá aktivita** s ojedinělými lymfocyty, ojedinělá gliové uzlíky, střední až těžká glióza a difuzní kortikální atrofie.

Průtoková cytometrie mozkových tkání potvrdila, že většinu infiltrujících lymfocytů tvořily T lymfocyty s fenotypem CD8⁺ a různými stavy aktivace, ve tkáních byly rovněž zjištěny CD4⁺ T lymfocyty a několik CD19⁺ B lymfocytů. Interpretace rozdílů v subpopulacích lymfocytů u jednotlivých pacientů souvisela s odpovídajícím histopatologickým obrazem.

Subpopulace lymfocytů a hladiny chemokinů a cytokinů byly porovnány ve vzorcích sér a likvorů odebraných po zahájení imunoterapie s kontrolami, aby se zjistily přetrvávající rozdíly. Na rozdíl od mozkové tkáně jsme ve většině vzorků mozkomíšního moku od léčených pacientů a kontrol pozorovali T lymfocyty s převahou fenotypu CD4⁺ a žádné B lymfocyty. Celková populace CD8⁺ T lymfocytů byla vyšší ve vzorcích mozkomíšních moků pacientů ($P = 0,0048$). Co se týče hladin chemokinů/cytokinů, CXCL10, CXCL13 a BAFF byly zvýšeny ve vzorcích mozkomíšních moků léčených pacientů ve srovnání s kontrolami ($P < 0,008$ pro všechny).

Nakonec jsme odděleně analyzovali vzorky, které byly získány od P1-3 a P5 v různých časových obdobích jejich onemocnění a ve vztahu k jejich terapii. Ze všech zkoumaných parametrů jsme se zaměřili zejména na dynamiku těch parametrů, které ve výše popsáných analýzách vykazovaly rozdíly mezi pacienty a kontrolami (tj. subpopulace CD8⁺ T lymfocytů a CXCL10, CXCL13 a BAFF).

U pacienta P1 byly na rozdíl od okamžité deplece subpopulací CD4⁺ a CD8⁺ T lymfocytů v krvi po podání alemtuzumabu (1-2 %), tyto subpopulace stále detekovatelné v mozkomíšním moku. Procento CD8⁺ T lymfocytů se v mozkomíšním moku po podání alemtuzumabu dokonce zvýšilo (41 %) a poté kontinuálně klesalo a zůstalo nízké. Poměr CD4⁺/CD8⁺ v mozkomíšním moku zůstal trvale > 1 . Na rozdíl od mozkomíšního moku se CD8⁺ T lymfocyty v krvi repopulovaly rychleji než CD4⁺ T lymfocyty. Kromě toho byly v krvi a mozkomíšním moku během období po depleční terapii alemtuzumabem pozorovány různé změny hladin chemokinů a cytokinů. Pozoruhodné je, že hladiny CXCL10, CXCL13 a BAFF v mozkomíšním moku byly zpočátku všechny nad 95. percentilem kontrol, a přestože se produkce CXCL10 a CXCL13 v mozkomíšním moku po podání biologické léčby nápadně snížila, hladiny stále zůstávaly nad tímto percentilem.

U pacienta P2 po 12 dávkách natalizumabu, kterému předcházelo podání cyklofosfamidu, byl ve vzorku mozkomíšního moku zjištěn zvrát poměru CD4+/CD8+ ve srovnání se vzorkem odebraným během léčby steroidy a intravenózními imunoglobuliny (0,74 vs. 2,4). Hladiny CXCL10, CXCL13 a BAFF v mozkomíšním moku byly nad 95. percentilem kontrol a při léčbě natalizumabem se hladiny těchto chemokinů dále zvýšily.

U pacienta P3 po třech dávkách cyklofosfamidu a **u pacienta P5** bezprostředně po podání intravenózního methylprednisolonu a intravenózních imunoglobulinů bylo pozorováno snížení procenta CD8+ T lymfocytů v mozkomíšním moku. Hladiny CXCL10, CXCL13 a BAFF v mozkomíšním moku se snížily, ale zůstaly nad 95. percentilem kontrol.

Naše práce ukázala, že trvalá a agresivní imunoterapie zaměřená na T lymfocyty zmírnila zánět v mozgovém parenchymu pacientů s Rasmussenovou encefalitiidou. Terapeutický přístup zahrnující alemtuzumab a intrathekální metotrexát byl nejúčinnější, ale se závažnými nežádoucími účinky (Libá Z. et al., 2017). Fakt, že u našich pacientů přetrvávala katastrofická epilepsie navzdory významnému poklesu zánětlivé aktivity v mozkové tkáni, naznačuje relativní nezávislost záchvatové aktivity na přítomnosti zánětu v pozdějším průběhu onemocnění. K objasnění toho, zda je agresivní imunoterapie zaměřená na T lymfocyty v časně fázi onemocnění schopna zabránit další progresi Rasmussenovy encefalidity a katastrofické epilepsii, je zapotřebí dalších studií (Libá Z. et al., 2015). Naše výsledky jsou v souladu s předchozími klinickými pozorováními, kdy se zdálo, že imunoterapie u pacientů s již rozvinutou katastrofickou epilepsií spíše zpomaluje funkční pokles, nežli ovlivňuje záchvatovou aktivitu (Bien C.G. et al., 2013; Takahashi Y. et al., 2013). Nedávná studie využívající zvířecí model tato pozorování dále podpořila (Kebir H. et al., 2018). Aktuální diagnostická kritéria, nedostatek časných klinických příznaků a laboratorních biomarkerů specifických pro onemocnění však obvykle neumožňují lékařům zahájit imunoterapii dříve, než ve stadiu s již častými záchvaty a probíhající atrofizací mozku.

Zajímavé bylo přetrvávající zvýšení prozánětlivých chemokinů a BAFF v mozkomíšním moku i během terapie cílené na lymfocyty, což naznačuje, že se na patologii Rasmussenovy encefalidity mohou podílet i další možné mechanismy, které by měly být zkoumány spolu s možnostmi léčby zaměřené na chemokiny a cytokiny. Na epileptogenezi se obecně podílí také vrozená imunita, která spolu s adaptivní imunitou přispívá k udržení epileptické aktivity různého původu (Ravizza T. et al., 2008; Webster K.M. et al., 2017).

Již byla provedena pilotní studie s anti-TNF α terapií u pacientů s Rasmussenovou encefalitiidou, která přinesla slibné výsledky (Webster K.M. et al., 2017).

Závěrem lze shrnout, že terapie cílená na T lymfocyty snížila míru zánětu v mozkové tkáni. Navzdory terapii zůstaly distribuce CD8⁺ T lymfocytů a hladiny CXCL10, CXCL13 a BAFF v mozkomíšním moku pacientů ve srovnání s kontrolami vysoké. Přestože žádná z terapií neměla efekt na farmakorezistentní epilepsii a pouze přechodný efekt na funkční klinický stav pacientů, se jako nejúčinnější na redukci zánětu jevila kombinace alemtuzumabu a intrathekálního metotrexánu. Tato kombinovaná imunoterapie vedla ke snížení histopatologických zánětlivých změn včetně počtu aktivovaných CD8⁺ T-lymfocytů v mozkové tkáni a produkci chemokinů a cytokinů v mozkomíšním moku. Dané poznatky mohou do budoucna přinést nové terapeutické cíle a možnosti tohoto devastujícího onemocnění.

5.5 Studie č. 5: Akutní myelitida u dětí – soubor 20 pacientů

V této práci jsme měli za cíl upozornit na současnou problematiku akutní myelitidy v dětském věku a sdílet naše zkušenosti s touto diagnózou na ilustrativním souboru pacientů.

U 20 dětských pacientů s akutní míšní lézí, kde byla zvažována zánětlivá etiologie, jsme provedli analýzu klinických a paraklinických dat. Zajímala nás výsledná diagnóza, zda se jednalo o infekční, autoimunitní či idiopatický zánět míchy nebo neobjasněné míšní onemocnění s diferenciatně diagnostickou možností zánětlivé etiologie. Případně zda byla naplněna diagnostická kritéria pro roztroušenou sklerózu (RS) či neuromyelitis optica a její spektrum (NMO/NMOSD) dle aktuálních mezinárodních doporučení pro pediatrickou populaci (Tab. 8).

Tab. 8: Etiologie, diagnóza a základní laboratorní nálezy při první manifestaci onemocnění; * výsledek při opakování vyšetření do 48h, ** přítomnost zánětlivých změn na MR mozku podporující diagnózu CIS/RS nebo NMOSD, *** přítomnost > 5buněk/uL

Etiologie	Konečná diagnóza	Věk	Pohlaví (dívký:chlapci)	pozitivní nález na MR míchy	pozitivní nález MR mozku **	pleocytóza *** (rozmezí, medián)	oligoklonální produkce IgG
Infekční (n = 1)	Boreliová myelitida	7 let	0:1	0/1 <i>(difuzní postižení)</i>	0/1	1/1 <i>(1106 bb/uL)</i>	0/1
Autoimunitní (n = 11)	RS/CIS (n = 8)	12 -17 let <i>(medián 15let)</i>	7:1	8/8 <i>(3 solitární ložisko, 5 difuzní postižení)</i>	7/8	4/8 <i>(8-17 bb./uL, 13 bb./uL)</i>	8/8
	NMOSD (n = 3)	6 -15 let <i>(medián 14 let)</i>	1:2	3/3 <i>(3 obraz LETM)</i>	2/3	3/3 <i>(60-254 bb/uL, 230 bb/uL)</i>	0/3
Idiopatická/ nejasná (n = 8)		4 -17 let <i>(medián 12 let)</i>	2:6	6/8 vstupně, 8/8 při kontrole* <i>(6 LETM, 1 solitární ložisko, 1 difuzní postižení)</i>	0/8	0/8 vstupně, 1/8 při kontrole* <i>(7 bb./uL)</i>	1/8

Infekční borreliová etiologie byla prokázána u jednoho pacienta.

Autoimunitní etiologie akutní myelitidy byla jednoznačně prokázána u 11 pacientů. V okamžiku manifestace myelitidy splnilo 6 pacientů diagnostická kritéria pro roztroušenou sklerózu a 2 pacienti byli diagnostikováni jako klinicky izolovaný syndrom. U obou následovala radiologická progresa při kontrolní magnetické rezonanci mozku za 3 měsíce a naplnila se tak diagnostická kritéria definitivní roztroušené sklerózy. Diagnostická kritéria pro neuromyelitis optica a její spektrum splnili dva pacienti v okamžiku manifestace myelitidy a jeden v průběhu sledování. U všech došlo po první atace k úpravě ad integrum, ale v dalším průběhu se u všech v souladu s diagnózou objevila recidiva neurologických obtíží a pacienti zůstali na dlouhodobé imunosupresivní terapii.

Diagnóza idiopatické myelitidy byla stanovena u pěti chlapců. Čtyři vyvinuli náhlý obraz kompletní transverzální míšní léze a jeden se manifestoval hemiparézou. Radiologický nález ukazoval rozsáhlé míšní postižení charakteru longitudinální extenzivní myelitidy (LETM). Imunoterapie v akutní fázi měla jen částečný efekt, bylo nutné jí eskalovat. Pouze u jednoho chlapce došlo k úpravě neurologického nálezu ad integrum. U ostatních přetrvával neurologický deficit, tři z pěti chlapců zůstali bez obnovení samostatné chůze bez opory. U žádného z těchto pacientů však nedošlo ve sledovaném období k recidivě neurologických potíží.

Neobjasněná diagnóza s možnou zánětlivou etiologií zůstala u tří pacientů. U jednoho chlapce s rychlým rozvojem kompletní transverzální míšní léze se zvažovala míšní ischemie. U jedné dívky předcházela rozvoji míšních projevů paréza lícního nervu boreliové etiologie, přestože se boreliovou etiologií myelitidy nepodařilo prokázat, léčba antibiotiky byla s dobrou odezvou. Poslední pacientka měla mírné míšní projevy a ložisko na míše podezřelé z tumoru. S odstupem 4 let se u této pacientky objevily nespecifické systémové potíže a nové demyelinizační změny v oblasti mozku v atypické lokalizaci pro roztroušenou sklerózu. Konečná diagnóza nebyla zatím stanovena.

Na ilustrativním souboru dětí jsme ukázali, že akutní myelitida může být jak samostatným onemocněním, tak jedním ze symptomů komplexních neurologických onemocnění a že je provázena různou tíží neurologického postižení s rozdílnými laboratorními a radiologickými nálezy, a to i s ohledem na konečnou diagnózu. Diagnóza CIS, definitivní RS nebo NMO/NMOSD v okamžiku manifestace akutní myelitidy umožní včasné zahájení specifické terapie a zlepši dlouhodobou prognózu. Rozlišení mezi jednotlivými klinickými entitami může však být náročné, vstupní laboratorní a radiologické nálezy mohou být nejednoznačné. Nejvíce kontroverzní je diagnóza idiopatické myelitidy a přístup k pacientům s akutně vzniklou transverzální míšní lézí a normálním likvorovým nebo radiologickým nálezem. Důležité je dlouhodobé komplexní sledování pacientů po proběhlé epizodě míšního postižení. V našem souboru byla akutní myelitida prvním projevem relabujícího onemocnění u více jak poloviny pacientů (55%). Sedm pacientů (35 %) mělo navíc normální vstupní nález v mozkomíšním moku (bez pleocytózy a oligoklonální produkce IgG), z toho se jednalo o šest chlapců s těžkým neurologickým deficitem a rozsáhlým radiologickým postižením míchy (LETM). Náhlý rozvoj kompletní transverzální míšní léze (< 4 h) v kombinaci s normálním likvorovým a iniciálním radiologickým nálezem obvykle budí podezření na míšní ischemii a vede k nejistotě stran eskalace imunosupresivní terapie (Transverse Myelitis Consortium Working Group, 2002). Míšní ischemie je však u dětí bez rizikových faktorů extrémně vzácná a její průkaz je velmi náročný (Vargas M.I. et al., 2014). Diagnóza idiopatické myelitidy ani rychlý rozvoj transverzální míšní léze nevylučují autoimunitní postižení (Deiva K. et al., 2015). Na našem pracovišti jsme se u pěti pacientů se závažným neurologickým deficitem rozhodli eskalovat imunoterapii, i přes nejistotu základní diagnózy a u tří se nám podařilo podstatně zlepšit neurologický nález, obnovit samostatnou chůzi a získat kontrolu nad sfinktery. Při eskalaci imunosuprese jsme obecně vycházeli z našich zkušeností a literárních údajů (Deiva K. et al., 2015; Absoud M. et al., 2016). Prognóza myelitidy byla závažná, u tří

pacientů zůstala neschopnost chůze se sfinkterovou poruchou. V souladu s literaturou byla nepříznivá prognóza spojena s rychlým rozvojem klinických příznaků, rozsáhlým postižením míchy a absencí pleocytózy v likvoru (Deiva K. et al., 2015).

6 SOUHRN

V posledních letech v civilizovaných zemích stále narůstá počet imunitně zprostředkovaných onemocnění, kdy dochází k poškození vlastních tkání imunopatologickým procesem, přičemž centrální nervový systém má v tomto ohledu určitá specifika. Autoimunitní onemocnění centrálního nervového systému patří mezi vzácná onemocnění, frekvence a zastoupení jednotlivých diagnóz u dětí není přesně známa. Je popsáno několik jasných klinických jednotek (např. akutní diseminovaná encefalomyelitida, roztroušená skleróza, a-NMDAR encefalitida) a v posledních letech dochází k určování nových (např. MOG-IgG asociovaná onemocnění). Navíc stále existují pacienti, u nichž se předpokládá autoimunitní příčina neurologických projevů, ale nebyli zařazeni do žádné dosud známé klinické jednotky. V takových případech panují rozpaky nad zahájením imunosupresivní či imunomodulační terapie. I přes dosavadní používané diagnostické metody je průkaz autoimunitní etiologie neurologických potíží obtížný. Proto se stále hledají nové možnosti, které by diagnostiku usnadnily.

V této práci jsme se zaměřili na vyšetření cytokinů a chemokinů v mozkomíšním moku a séru u pacientů s autoimunitním poškozením centrálního nervového systému, jakožto markerů zánětu. Objevili jsme jejich možné využití v diagnostice zánětu centrálního nervového systému, pokud běžně dostupné vyšetřovací metody selhávají. Stejně tak by se pomocí hladin některých chemokinů mohl monitorovat efekt imunoterapie, či predikovat relaps některých autoimunitních onemocnění. Naše zjištění také pomáhají poodhalit patogenезi daných onemocnění, což by v budoucnu mohlo přispět k cílenější a efektivnější terapii.

Stanovení hladin některých cytokinů a chemokinů se již dostalo do běžné praxe, nicméně v neuroimunologii je jejich využití stále ještě v procesu zkoumání, ale do budoucna se zde skrývá velký potenciál.

7 SUMMARY

In recent years, the number of immune-mediated diseases in civilized countries is increasing, when the body's own tissues are affected by immunopathological processes. The nervous system has certain specificities in this regard. Autoimmune diseases of the central nervous system are the rare diseases, and the frequency and representation of each diagnosis in children is not precisely known. Several clinical entities have been described (e.g., acute disseminated encephalomyelitis, multiple sclerosis, a-NMDAR encephalitis) and new ones have been identified in recent years (e.g., MOG-IgG associated diseases). In addition, there are still patients who are thought to have an autoimmune cause for their neurological problems but they have not been included in any known clinical entity yet. In such cases, there is confusion over the initiation of immunosuppressive or immunomodulatory therapy. Despite the diagnostic methods used to date, the proof of an autoimmune etiology of neurological disorders is difficult. Therefore, new options are constantly searching for to facilitate diagnosis.

In this study, we focused on the examination of cytokines and chemokines in cerebrospinal fluid and serum in patients with autoimmune involvement of the central nervous system as markers of inflammation. We discovered their potential use in the diagnosis of central nervous system inflammation when commonly available investigative methods fail. Similarly, the levels of some chemokines could be used to monitor the effect of immunotherapy or to predict the relapse of some autoimmune diseases. Our findings also help to shed light on the pathogenesis of these diseases, which could contribute to more targeted and effective therapies in the future.

Determination of levels of some cytokines and chemokines has already entered routine practice. However, their use in neuroimmunology is still under investigation, but there is great potential for the future.

8 LITERATURA

Abboud H, Petrak A, Mealy M, Sasidharan S, Siddique L, Levy M. Treatment of acute relapses in neuromyelitis optica: Steroids alone versus steroids plus plasma exchange. *Mult Scler*. 2016 Feb;22(2):185-92. doi: 10.1177/1352458515581438.

Absoud M, Cummins C, Desai N, Gika A, McSweeney N, Munot P, Hemingway C, Lim M, Nischal KK, Wassmer E. Childhood optic neuritis clinical features and outcome. *Arch Dis Child*. 2011 Sep;96(9):860-2. doi: 10.1136/adc.2009.175422.

Absoud M, Greenberg BM, Lim M, Lotze T, Thomas T, Deiva K. Pediatric transverse myelitis. *Neurology*. 2016 Aug 30;87(9 Suppl 2):S46-52. doi: 10.1212/WNL.0000000000002820.

Absoud M, Greenberg BM, Lim M, Lotze T, Thomas T, Deiva K. Pediatric transverse myelitis. *Neurology*. 2016 Aug 30;87(9 Suppl 2):S46-52. doi: 10.1212/WNL.0000000000002820.

Absoud M, Parslow RC, Wassmer E, Hemingway C, Duncan HP, Cummins C, Lim MJ; UK & Ireland Childhood CNS Inflammatory Demyelination Working Group and the the Paediatric Intensive Care Audit Network. Severe acute disseminated encephalomyelitis: a paediatric intensive care population-based study. *Mult Scler*. 2011 Oct;17(10):1258-61. doi: 10.1177/1352458510382554.

Akaishi T, Nakashima I. Efficiency of antibody therapy in demyelinating diseases. *Int Immunol*. 2017 Jul 1;29(7):327-335. doi: 10.1093/intimm/dxx037. PMID: 28910968.

Al Nimer F, Jelcic I, Kempf C, Pieper T, Budka H, Sospedra M, Martin R. Phenotypic and functional complexity of brain-infiltrating T cells in Rasmussen encephalitis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2017 Dec 8;5(1):e419. doi:10.1212/NXI.0000000000000419.

Alroughani R, Boyko A. Pediatric multiple sclerosis: a review. *BMC Neurol*. 2018 Mar 9;18(1):27. doi: 10.1186/s12883-018-1026-3.

Alvarez E, Piccio L, Mikesell RJ, Klawiter EC, Parks BJ, Naismith RT, Cross AH. CXCL13 is a biomarker of inflammation in multiple sclerosis, neuromyelitis optica, and other neurological conditions. *Mult Scler*. 2013 Aug;19(9):1204-8. doi: 10.1177/1352458512473362.

Alvarez E, Piccio L, Mikesell RJ, Trinkaus K, Parks BJ, Naismith RT, Cross AH. Predicting optimal response to B-cell depletion with rituximab in multiple sclerosis using CXCL13 index, magnetic resonance imaging and clinical measures. *Mult Scler J Exp Transl Clin*. 2015 Dec 24;1:2055217315623800. doi: 10.1177/2055217315623800.

Andersson M, Alvarez-Cermeño J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J, Fredrikson S, Gallo P, Grimaldi LM, Grønning M, et al. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1994 Aug;57(8):897-902. doi: 10.1136/jnnp.57.8.897.

Armangue T, Petit-Pedrol M, Dalmau J. Autoimmune encephalitis in children. *J Child Neurol*. 2012 Nov;27(11):1460-9. doi: 10.1177/0883073812448838.

Banwell B, Kennedy J, Sadovnick D, Arnold DL, Magalhaes S, Wambera K, Connolly MB, Yager J, Mah JK, Shah N, Sebire G, Meaney B, Dilenge ME, Lortie A, Whiting S, Doja A, Levin S, MacDonald EA, Meek D, Wood E, Lowry N, Buckley D, Yim C, Awuku M, Guimond C, Cooper P, Grand'Maison F, Baird JB, Bhan V, Bar-Or A. Incidence of acquired demyelination of the CNS in Canadian children. *Neurology*. 2009 Jan 20;72(3):232-9. doi: 10.1212/01.wnl.0000339482.84392.bd.

Barkovich AJ. Concepts of myelin and myelination in neuroradiology. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2000 Jun-Jul;21(6):1099-109.

- Bartosik-Psujek H, Stelmasiak Z. The levels of chemokines CXCL8, CCL2 and CCL5 in multiple sclerosis patients are linked to the activity of the disease. *Eur J Neurol*. 2005 Jan;12(1):49-54. doi: 10.1111/j.1468-1331.2004.00951.x.
- Bauer J, Elger CE, Hans VH, Schramm J, Urbach H, Lassmann H, Bien CG. Astrocytes are a specific immunological target in Rasmussen's encephalitis. *Ann Neurol*. 2007 Jul;62(1):67-80. doi: 10.1002/ana.21148.
- Baumann M, Sahin K, Lechner C, Hennes EM, Schanda K, Mader S, Karenfort M, Selch C, Häusler M, Eisenkölbl A, Salandin M, Gruber-Sedlmayr U, Blaschek A, Kraus V, Leiz S, Finsterwalder J, Gotwald T, Kuchukhidze G, Berger T, Reindl M, Rostásy K. Clinical and neuroradiological differences of paediatric acute disseminating encephalomyelitis with and without antibodies to the myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015 Mar;86(3):265-72. doi: 10.1136/jnnp-2014-308346.
- Baunbæk Egelund G, Ertner G, Langholz Kristensen K, Vestergaard Jensen A, Benfield TL, Brandt CT. Cerebrospinal fluid pleocytosis in infectious and noninfectious central nervous system disease: A retrospective cohort study. *Medicine (Baltimore)*. 2017 May;96(18):e6686. doi: 10.1097/MD.0000000000006686.
- Benarroch EE. Circumventricular organs: receptive and homeostatic functions and clinical implications. *Neurology*. 2011 Sep 20;77(12):1198-204. doi: 10.1212/WNL.0b013e31822f04a0.
- Benson LA, Healy BC, Gorman MP, Baruch NF, Gholipour T, Musallam A, Chitnis T. Elevated relapse rates in pediatric compared to adult MS persist for at least 6 years. *Mult Scler Relat Disord*. 2014 Mar;3(2):186-93. doi: 10.1016/j.msard.2013.06.004.
- Berger T, Rubner P, Schautzer F, Egg R, Ulmer H, Mayringer I, et al. Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. *N Engl J Med*. 2003;349:139-145. doi: 10.1056/NEJMoa022328.
- Bielekova B, Komori M, Xu Q, Reich DS, Wu T. Cerebrospinal fluid IL-12p40, CXCL13 and IL-8 as a combinatorial biomarker of active intrathecal inflammation. *PLoS One*. 2012;7(11):e48370. doi: 10.1371/journal.pone.0048370.
- Bien CG, Granata T, Antozzi C, Cross JH, Dulac O, Kurthen M, Lassmann H, Mantegazza R, Villemure JG, Spreafico R, Elger CE. Pathogenesis, diagnosis and treatment of Rasmussen encephalitis: a European consensus statement. *Brain*. 2005 Mar;128(Pt 3):454-71. doi: 10.1093/brain/awh415.
- Bien CG, Tiemeier H, Sassen R, Kuczaty S, Urbach H, von Lehe M, Becker AJ, Bast T, Herkenrath P, Karenfort M, Kruse B, Kurlmann G, Rona S, Schubert-Bast S, Vieker S, Vlaho S, Wilken B, Elger CE. Rasmussen encephalitis: incidence and course under randomized therapy with tacrolimus or intravenous immunoglobulins. *Epilepsia*. 2013 Mar;54(3):543-50. doi: 10.1111/epi.12042.
- Bozzola E, Bozzola M, Tozzi AE, Calcaterra V, Longo D, Krzystofiak A, Villani A. Acute cerebellitis in varicella: a ten year case series and systematic review of the literature. *Ital J Pediatr*. 2014 Jun 19;40:57. doi: 10.1186/1824-7288-40-57.
- Brettschneider J, Czerwoniak A, Senel M, Fang L, Kassubek J, Pinkhardt E, Lauda F, Kapfer T, Jesse S, Lehmsiek V, Ludolph AC, Otto M, Tumani H. The chemokine CXCL13 is a prognostic marker in clinically isolated syndrome (CIS). *PLoS One*. 2010 Aug 5;5(8):e11986. doi: 10.1371/journal.pone.0011986.
- Bruijstems AL, Breu M, Wendel EM, Wassmer E, Lim M, Neuteboom RF, Wickström R; E.U. paediatric MOG consortium, Baumann M, Bartels F, Finke C, Adamsbaum C, Hacoheh Y, Rostasy K. E.U. paediatric MOG consortium consensus: Part 4 - Outcome of paediatric myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disorders. *Eur J Paediatr Neurol*. 2020 Nov;29:32-40. doi: 10.1016/j.ejpn.2020.10.007.
- Bruijstems AL, Lechner C, Flet-Berliac L, Deiva K, Neuteboom RF, Hemingway C, Wassmer E; E.U. paediatric MOG consortium, Baumann M, Bartels F, Finke C, Adamsbaum C, Hacoheh Y, Rostasy K. E.U. paediatric MOG consortium consensus: Part 1 - Classification of clinical phenotypes of paediatric myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disorders. *Eur J Paediatr Neurol*. 2020 Nov;29:2-13. doi: 10.1016/j.ejpn.2020.10.006.

- Bruijstens AL, Wendel EM, Lechner C, Bartels F, Finke C, Breu M, Flet-Berliac L, de Chalus A, Adamsbaum C, Capobianco M, Laetitia G, Hacoheh Y, Hemingway C, Wassmer E, Lim M, Baumann M, Wickström R, Armangue T, Rostasy K, Deiva K, Neuteboom RF. E.U. paediatric MOG consortium consensus: Part 5 - Treatment of paediatric myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disorders. *Eur J Paediatr Neurol*. 2020 Nov;29:41-53. doi: 10.1016/j.ejpn.2020.10.005.
- Brunner C, Lassmann H, Waehnelndt TV, Matthieu JM, Linington C. Differential ultrastructural localization of myelin basic protein, myelin/oligodendroglial glycoprotein, and 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase in the CNS of adult rats. *J Neurochem*. 1989;52:296–304. doi: 10.1111/j.1471-4159.1989.tb10930.x.
- Carnero Contentti E, Correale J. Neuromyelitis optica spectrum disorders: from pathophysiology to therapeutic strategies. *J Neuroinflammation*. 2021 Sep 16;18(1):208. doi: 10.1186/s12974-021-02249-1.
- Carson MJ, Doose JM, Melchior B, Schmid CD, Ploix CC. CNS immune privilege: hiding in plain sight. *Immunol Rev*. 2006 Oct;213:48-65. doi: 10.1111/j.1600-065X.2006.00441.x.
- Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome. *Ann Intern Med*. 1993 Oct 15;119(8):771-8. doi: 10.7326/0003-4819-119-8-199310150-00001.
- Casserly CS, Nantes JC, Whittaker Hawkins RF, Vallières L. Neutrophil perversion in demyelinating autoimmune diseases: Mechanisms to medicine. *Autoimmun Rev*. 2017 Mar;16(3):294-307. doi: 10.1016/j.autrev.2017.01.013.
- Cole J, Evans E, Mwangi M, Mar S. Acute Disseminated Encephalomyelitis in Children: An Updated Review Based on Current Diagnostic Criteria. *Pediatr Neurol*. 2019 Nov;100:26-34. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2019.06.017.
- Coutinho LG, Grandgirard D, Leib SL, Agnez-Lima LF. Cerebrospinal-fluid cytokine and chemokine profile in patients with pneumococcal and meningococcal meningitis. *BMC Infect Dis*. 2013 Jul 17;13:326. doi: 10.1186/1471-2334-13-326.
- Coyle JT. Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis. *Cell Mol Neurobiol*. 2006 Jul-Aug;26(4-6):365-84. doi: 10.1007/s10571-006-9062-8. Epub 2006 Jun 14.
- Dale RC, Brilot F, Banwell B. Pediatric central nervous system inflammatory demyelination: acute disseminated encephalomyelitis, clinically isolated syndromes, neuromyelitis optica, and multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 2009 Jun;22(3):233-40. doi: 10.1097/wco.0b013e32832b4c47.
- Dale RC, Tantsis EM, Merheb V, Kumaran RY, Sinmaz N, Pathmanandavel K, Ramanathan S, Booth DR, Wienholt LA, Prelog K, Clark DR, Guillemain GJ, Lim CK, Mathey EK, Brilot F. Antibodies to MOG have a demyelination phenotype and affect oligodendrocyte cytoskeleton. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2014 May 22;1(1):e12. doi: 10.1212/NXI.0000000000000012.
- Dalmau J, Gleichman AJ, Hughes EG, Rossi JE, Peng X, Lai M, Dessain SK, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R, Lynch DR. Anti-NMDA-receptor encephalitis: case series and analysis of the effects of antibodies. *Lancet Neurol*. 2008;7:1091–1098.
- Dalmau J, Lancaster E, Martinez-Hernandez E, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. *Lancet Neurol*. 2011 Jan;10(1):63-74. doi: 10.1016/S1474-4422(10)70253-2.
- Dalmau J, Rosenfeld MR. Paraneoplastic syndromes of the CNS. *Lancet Neurol*. 2008 Apr;7(4):327-40. doi: 10.1016/S1474-4422(08)70060-7.
- Dalmau J, Tüzün E, Wu HY, Masjuan J, Rossi JE, Voloschin A, Baehring JM, Shimazaki H, Koide R, King D, Mason W, Sansing LH, Dichter MA, Rosenfeld MR, Lynch DR. Paraneoplastic anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with ovarian teratoma. *Ann Neurol*. 2007 Jan;61(1):25-36. doi: 10.1002/ana.21050.

- Daneman R, Prat A. The blood-brain barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015 Jan 5;7(1):a020412. doi: 10.1101/cshperspect.a020412.
- Daneman R. The blood-brain barrier in health and disease. *Ann Neurol.* 2012 Nov;72(5):648-72. doi: 10.1002/ana.23648.
- Davalos D, Grutzendler J, Yang G, Kim JV, Zuo Y, Jung S, Littman DR, Dustin ML, Gan WB. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nat Neurosci.* 2005 Jun;8(6):752-8. doi: 10.1038/nn1472.
- De Bruecker Y, Claus F, Demaerel P, Ballaux F, Sciote R, Lagae L, Buyse G, Wilms G. MRI findings in acute cerebellitis. *Eur Radiol.* 2004 Aug;14(8):1478-83. doi: 10.1007/s00330-004-2247-y.
- de Mol CL, Wong Y, van Pelt ED, Wokke B, Siepman T, Neuteboom RF, Hamann D, Hintzen RQ. The clinical spectrum and incidence of anti-MOG-associated acquired demyelinating syndromes in children and adults. *Mult Scler.* 2020 Jun;26(7):806-814. doi: 10.1177/1352458519845112.
- Defresne P, Meyer L, Tardieu M, Scalais E, Nuttin C, De Bont B, Loftus G, Landrieu P, Kadhim H, Sébire G. Efficacy of high dose steroid therapy in children with severe acute transverse myelitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2001 Aug;71(2):272-4. doi: 10.1136/jnnp.71.2.272.
- Deisenhammer F, Bartos A, Egg R, Gilhus NE, Giovannoni G, Rauer S, Sellebjerg F; EFNS Task Force. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from an EFNS task force. *Eur J Neurol.* 2006 Sep;13(9):913-22. doi: 10.1111/j.1468-1331.2006.01493.x.
- Deiva K, Absoud M, Hemingway C, Hernandez Y, Husson B, Maurey H, Niotakis G, Wassmer E, Lim M, Tardieu M; United Kingdom Childhood Inflammatory Demyelination (UK-CID) Study and French Kidbiosep Study. Acute idiopathic transverse myelitis in children: early predictors of relapse and disability. *Neurology.* 2015 Jan 27;84(4):341-9. doi: 10.1212/WNL.0000000000001179.
- Deiva K. Pediatric onset multiple sclerosis. *Rev Neurol (Paris).* 2020 Jan-Feb;176(1-2):30-36. doi: 10.1016/j.neurol.2019.02.002.
- Dubey D, Pittock SJ, Krecke KN, Morris PP, Sechi E, Zalewski NL, Weinshenker BG, Shosha E, Lucchinetti CF, Fryer JP, Lopez-Chiriboga AS, Chen JC, Jitraprakulsan J, McKeon A, Gadoth A, Keegan BM, Tillema JM, Naddaf E, Patterson MC, Messacar K, Tyler KL, Flanagan EP. Clinical, Radiologic, and Prognostic Features of Myelitis Associated With Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Autoantibody. *JAMA Neurol.* 2019 Mar 1;76(3):301-309. doi: 10.1001/jamaneurol.2018.4053.
- Duchini A, Govindarajan S, Santucci M, Zampi G, Hofman FM. Effects of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 on fluid-phase permeability and ammonia diffusion in CNS-derived endothelial cells. *J Investig Med.* 1996 Oct;44(8):474-82.
- Eckman EA, Clausen DM, Herdt AR, Pacheco-Quinto J, Halperin JJ. Specificity and Diagnostic Utility of Cerebrospinal Fluid CXCL13 in Lyme Neuroborreliosis. *Clin Infect Dis.* 2021 May 18;72(10):1719-1726. doi: 10.1093/cid/ciaa335.
- Elmqvist JK, Scammell TE, Saper CB. Mechanisms of CNS response to systemic immune challenge: the febrile response. *Trends Neurosci.* 1997 Dec;20(12):565-70. doi: 10.1016/s0166-2236(97)01138-7.
- Esen N, Rainey-Barger EK, Huber AK, Blakely PK, Irani DN. Type-I interferons suppress microglial production of the lymphoid chemokine, CXCL13. *Glia.* 2014 Sep;62(9):1452-62. doi: 10.1002/glia.22692. Epub 2014 May 14.
- Fabis MJ, Scott GS, Kean RB, Koprowski H, Hooper DC. Loss of blood-brain barrier integrity in the spinal cord is common to experimental allergic encephalomyelitis in knockout mouse models. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Mar 27;104(13):5656-61. doi: 10.1073/pnas.0701252104.
- Fadda G, Armangue T, Hacohen Y, Chitnis T, Banwell B. Paediatric multiple sclerosis and antibody-associated demyelination: clinical, imaging, and biological considerations for diagnosis and care. *Lancet Neurol.* 2021 Feb;20(2):136-149. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30432-4.

- Ferilli MAN, Paparella R, Morandini I, Papetti L, Figà Talamanca L, Ruscitto C, Ursitti F, Moavero R, Sforza G, Tarantino S, Proietti Checchi M, Vigevano F, Valeriani M. Pediatric Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder: Case Series and Literature Review. *Life (Basel)*. 2021 Dec 23;12(1):19. doi: 10.3390/life12010019.
- Florance NR, Davis RL, Lam C, Szperka C, Zhou L, Ahmad S, Campen CJ, Moss H, Peter N, Gleichman AJ, Glaser CA, Lynch DR, Rosenfeld MR, Dalmau J. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) encephalitis in children and adolescents. *Ann Neurol*. 2009 Jul;66(1):11-8. doi: 10.1002/ana.21756.
- Ford AL, Foulcher E, Lemckert FA, Sedgwick JD. Microglia induce CD4 T lymphocyte final effector function and death. *J Exp Med*. 1996 Nov 1;184(5):1737-45. doi: 10.1084/jem.184.5.1737.
- Fraussen J, Claes N, de Bock L, Somers V. Targets of the humoral autoimmune response in multiple sclerosis. *Autoimmun Rev*. 2014 Nov;13(11):1126-37. doi: 10.1016/j.autrev.2014.07.002.
- Fullerton HJ, Wu YW, Sidney S, Johnston SC. Risk of recurrent childhood arterial ischemic stroke in a population-based cohort: the importance of cerebrovascular imaging. *Pediatrics*. 2007 Mar;119(3):495-501. doi: 10.1542/peds.2006-2791.
- Fung A, Vizcaychipi M, Lloyd D, Wan Y, Ma D. Central nervous system inflammation in disease related conditions: mechanistic prospects. *Brain Res*. 2012 Mar 29;1446:144-55. doi: 10.1016/j.brainres.2012.01.061.
- Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, Nandi S, See P, Gokhan S, Mehler MF, Conway SJ, Ng LG, Stanley ER, Samokhvalov IM, Merad M. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science*. 2010 Nov 5;330(6005):841-5. doi: 10.1126/science.1194637.
- Giulian D, Li J, Li X, George J, Rutecki PA. The impact of microglia-derived cytokines upon gliosis in the CNS. *Dev Neurosci*. 1994;16(3-4):128-36. doi: 10.1159/000112099.
- Gombolay GY, Chitnis T. Pediatric Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders. *Curr Treat Options Neurol*. 2018 May 2;20(6):19. doi: 10.1007/s11940-018-0502-9.
- Gomez Perdiguero E, Klapproth K, Schulz C, Busch K, Azzoni E, Crozet L, Garner H, Trouillet C, de Bruijn MF, Geissmann F, Rodewald HR. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythromyeloid progenitors. *Nature*. 2015 Feb 26;518(7540):547-51. doi: 10.1038/nature13989.
- Gorman MP, Healy BC, Polgar-Turcsanyi M, Chitnis T. Increased relapse rate in pediatric-onset compared with adult-onset multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2009 Jan;66(1):54-9. doi: 10.1001/archneurol.2008.505.
- Gresa-Arribas N, Titulaer MJ, Torrents A, Aguilar E, McCracken L, Leypoldt F, Gleichman AJ, Balice-Gordon R, Rosenfeld MR, Lynch D, Graus F, Dalmau J. Antibody titres at diagnosis and during follow-up of anti-NMDA receptor encephalitis: a retrospective study. *Lancet Neurol*. 2014 Feb;13(2):167-77. doi: 10.1016/S1474-4422(13)70282-5.
- Grigoriadis N, van Pesch V; ParadigMS Group. A basic overview of multiple sclerosis immunopathology. *Eur J Neurol*. 2015 Oct;22 Suppl 2:3-13. doi: 10.1111/ene.12798.
- Groom JR, Luster AD. CXCR3 in T cell function. *Exp Cell Res*. 2011 Mar 10;317(5):620-31. doi: 10.1016/j.yexcr.2010.12.017.
- Gudowska-Sawczuk M, Mroczko B. Chemokine Ligand 13 (CXCL13) in Neuroborreliosis and Neurosyphilis as Selected Spirochetal Neurological Diseases: A Review of Its Diagnostic Significance. *Int J Mol Sci*. 2020 Apr 22;21(8):2927. doi: 10.3390/ijms21082927.
- Hacohen Y, Rossor T, Mankad K, Chong W, Lux A, Wassmer E, Lim M, Barkhof F, Ciccarelli O, Hemingway C. 'Leukodystrophy-like' phenotype in children with myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease. *Dev Med Child Neurol*. 2018 Apr;60(4):417-423. doi: 10.1111/dmcn.13649.
- Hachiya Y, Uruha A, Kasai-Yoshida E, Shimoda K, Satoh-Shirai I, Kumada S, Kurihara E, Suzuki K, Ohba A, Hamano S, Sakuma H. Rituximab ameliorates anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis by removal of

short-lived plasmablasts. *J Neuroimmunol.* 2013 Dec 15;265(1-2):128-30. doi: 10.1016/j.jneuroim.2013.09.017.

Halfman C. Pediatric acute demyelinating syndromes: identification and management in the emergency department. *Pediatr Emerg Med Pract.* 2021 Mar;18(3):1-16.

Hennes E, Zotter S, Dorninger L, Hartmann H, Häusler M, Huppke P, Jacobs J, Kraus V, Makowski C, Schlachter K, Ulmer H, van Baalen A, Koch J, Gotwald T, Rostasy K. Long-term outcome of children with acute cerebellitis. *Neuropediatrics.* 2012 Oct;43(5):240-8. doi: 10.1055/s-0032-1324732

Heussinger N, Kontopantelis E, Gburek-Augustat J, Jenke A, Vollrath G, Korinthenberg R, Hofstetter P, Meyer S, Brecht I, Kornek B, Herkenrath P, Schimmel M, Wenner K, Häusler M, Lutz S, Karenfort M, Blaschek A, Smitka M, Karch S, Piepkorn M, Rostasy K, Lücke T, Weber P, Trollmann R, Klepper J, Häussler M, Hofmann R, Weissert R, Merkenschlager A, Buttman M; for GRACE-MS (German-speaking Research Alliance for ChildrEn with Multiple Sclerosis). Oligoclonal bands predict multiple sclerosis in children with optic neuritis. *Ann Neurol.* 2015 Jun;77(6):1076-82. doi: 10.1002/ana.24409.

Hickey WF. Basic principles of immunological surveillance of the normal central nervous system. *Glia.* 2001 Nov;36(2):118-24. doi: 10.1002/glia.1101.

Hughes EG, Peng X, Gleichman AJ, Lai M, Zhou L, Tsou R, Parsons TD, Lynch DR, Dalmau J, Balice-Gordon RJ. Cellular and synaptic mechanisms of anti-NMDA receptor encephalitis. *J Neurosci.* 2010 Apr 28;30(17):5866-75. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0167-10.2010.

Chabas D, Ness J, Belman A, Yeh EA, Kuntz N, Gorman MP, Strober JB, De Kouchkovsky I, McCulloch C, Chitnis T, Rodriguez M, Weinstock-Guttman B, Krupp LB, Waubant E; US Network of Pediatric MS Centers of Excellence. Younger children with MS have a distinct CSF inflammatory profile at disease onset. *Neurology.* 2010 Feb 2;74(5):399-405. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181ce5db0.

Chiapparini L, Granata T, Farina L, Ciceri E, Erbetta A, Ragona F, Freri E, Fusco L, Gobbi G, Capovilla G, Tassi L, Giordano L, Viri M, Dalla Bernardina B, Spreafico R, Savoirdo M. Diagnostic imaging in 13 cases of Rasmussen's encephalitis: can early MRI suggest the diagnosis? *Neuroradiology.* 2003 Mar;45(3):171-83. doi: 10.1007/s00234-002-0923-7.

Chitnis T, Ness J, Krupp L, Waubant E, Hunt T, Olsen CS, Rodriguez M, Lotze T, Gorman M, Benson L, Belman A, Weinstock-Guttman B, Aaen G, Graves J, Patterson M, Rose JW, Casper TC. Clinical features of neuromyelitis optica in children: US Network of Pediatric MS Centers report. *Neurology.* 2016 Jan 19;86(3):245-52. doi: 10.1212/WNL.0000000000002283.

Irani SR, Bera K, Waters P, Zuliani L, Maxwell S, Zandi MS, Friese MA, Galea I, Kullmann DM, Beeson D, Lang B, Bien CG, Vincent A. N-methyl-D-aspartate antibody encephalitis: temporal progression of clinical and paraclinical observations in a predominantly non-paraneoplastic disorder of both sexes. *Brain.* 2010 Jun;133(Pt 6):1655-67. doi: 10.1093/brain/awq113.

Iwanowski P, Losy J, Kramer L, Wójcicka M, Kaufman E. CXCL10 and CXCL13 chemokines in patients with relapsing remitting and primary progressive multiple sclerosis. *J Neurol Sci.* 2017 Sep 15;380:22-26. doi: 10.1016/j.jns.2017.06.048.

Jarius S, Lechner C, Wendel EM, Baumann M, Breu M, Schimmel M, Karenfort M, Marina AD, Merkenschlager A, Thiels C, Blaschek A, Salandin M, Leiz S, Leyboldt F, Pschibul A, Hackenberg A, Hahn A, Syrbe S, Strautmanis J, Häusler M, Krieg P, Eisenkölbl A, Stoffels J, Eckenweiler M, Ayzenberg I, Haas J, Höftberger R, Kleiter I, Korporal-Kuhnke M, Ringelstein M, Ruprecht K, Siebert N, Schanda K, Aktas O, Paul F, Reindl M, Wildemann B, Rostásy K; in cooperation with the BIOMARKER study group and the Neuromyelitis optica Study Group (NEMOS). Cerebrospinal fluid findings in patients with myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) antibodies. Part 2: Results from 108 lumbar punctures in 80 pediatric patients. *J Neuroinflammation.* 2020 Sep 3;17(1):262. doi: 10.1186/s12974-020-01825-1.

Jarius S, Paul F, Franciotta D, Ruprecht K, Ringelstein M, Bergamaschi R, Rommer P, Kleiter I, Stich O, Reuss R, Rauer S, Zettl UK, Wandinger KP, Melms A, Aktas O, Kristoferitsch W, Wildemann B. Cerebrospinal fluid findings in aquaporin-4 antibody positive neuromyelitis optica: results from 211 lumbar punctures. *J Neurol Sci.* 2011 Jul 15;306(1-2):82-90. doi: 10.1016/j.jns.2011.03.038. Jarius S, Wildemann B.

- AQP4 antibodies in neuromyelitis optica: diagnostic and pathogenetic relevance. *Nat Rev Neurol*. 2010 Jul;6(7):383-92. doi: 10.1038/nrneurol.2010.72. PMID: 20639914.
- Johns TG, Bernard CC. The structure and function of myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J Neurochem*. 1999;72:1-9. doi: 10.1046/j.1471-4159.1999.0720001.x.
- Kebir H, Carmant L, Fontaine F, Béland K, Bosoi CM, Sanon NT, Alvarez JI, Desgent S, Pittet CL, Hébert D, Langlois MJ, Rébillard RM, Nguyen DK, Cieuta-Walti C, Holmes GL, Goodkin HP, Mytinger JR, Connolly MB, Prat A, Haddad E. Humanized mouse model of Rasmussen's encephalitis supports the immune-mediated hypothesis. *J Clin Invest*. 2018 May 1;128(5):2000-2009. doi: 10.1172/JCI97098.
- Keller CW, Lopez JA, Wendel EM, Ramanathan S, Gross CC, Klotz L, Reindl M, Dale RC, Wiendl H, Rostásy K, Brilot F, Lünemann JD. Complement Activation Is a Prominent Feature of MOGAD. *Ann Neurol*. 2021 Dec;90(6):976-982. doi: 10.1002/ana.26226.
- Khademi M, Kockum I, Andersson ML, Iacobaeus E, Brundin L, Sellebjerg F, Hillert J, Piehl F, Olsson T. Cerebrospinal fluid CXCL13 in multiple sclerosis: a suggestive prognostic marker for the disease course. *Mult Scler*. 2011 Mar;17(3):335-43. doi: 10.1177/1352458510389102.
- Kimbrough DJ, Fujihara K, Jacob A, Lana-Peixoto MA, Leite MI, Levy M, Marignier R, Nakashima I, Palace J, de Seze J, Stuve O, Tenenbaum SN, Traboulsee A, Waubant E, Weinschenker BG, Wingerchuk DM; GJCF-CC&BR. Treatment of Neuromyelitis Optica: Review and Recommendations. *Mult Scler Relat Disord*. 2012 Oct;1(4):180-187. doi: 10.1016/j.msard.2012.06.002.
- Knudtzen FC, Nilsson AC, Hovius JW, Skarphedinsson S. The predictive value of CXCL13 in suspected Lyme neuroborreliosis: a retrospective cross-sectional study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Aug;39(8):1461-1470. doi: 10.1007/s10096-020-03861-4.
- Kothur K, Wienholt L, Brilot F, Dale RC. CSF cytokines/chemokines as biomarkers in neuroinflammatory CNS disorders: A systematic review. *Cytokine*. 2016 Jan;77:227-37. doi: 10.1016/j.cyto.2015.10.001.
- Kothur K, Wienholt L, Mohammad SS, Tantsis EM, Pillai S, Britton PN, Jones CA, Angiti RR, Barnes EH, Schlub T, Bandodkar S, Brilot F, Dale RC. Utility of CSF Cytokine/Chemokines as Markers of Active Intrathecal Inflammation: Comparison of Demyelinating, Anti-NMDAR and Enteroviral Encephalitis. *PLoS One*. 2016 Aug 30;11(8):e0161656. doi: 10.1371/journal.pone.0161656.
- Kowarik MC, Cepok S, Sellner J, Grummel V, Weber MS, Korn T, Berthele A, Hemmer B. CXCL13 is the major determinant for B cell recruitment to the CSF during neuroinflammation. *J Neuroinflammation*. 2012 May 16;9:93. doi: 10.1186/1742-2094-9-93.
- Kowarik MC, Cepok S, Sellner J, Grummel V, Weber MS, Korn T, et al. CXCL13 is the major determinant for B cell recruitment to the CSF during neuroinflammation. *J Neuroinflammation*. 2012;9:93. doi: 10.1186/1742-2094-9-93.
- Kremer L, Mealy M, Jacob A, Nakashima I, Cabre P, Bigi S, Paul F, Jarius S, Aktas O, Elson L, Mutch K, Levy M, Takai Y, Collongues N, Banwell B, Fujihara K, de Seze J. Brainstem manifestations in neuromyelitis optica: a multicenter study of 258 patients. *Mult Scler*. 2014 Jun;20(7):843-7. doi: 10.1177/1352458513507822.
- Krumbholz M, Derfuss T, Hohlfeld R, Meinl E. B cells and antibodies in multiple sclerosis pathogenesis and therapy. *Nat Rev Neurol*. 2012 Nov 5;8(11):613-23. doi: 10.1038/nrneurol.2012.203.
- Krumbholz M, Theil D, Cepok S, Hemmer B, Kivisäkk P, Ransohoff RM, Hofbauer M, Farina C, Derfuss T, Hartle C, Newcombe J, Hohlfeld R, Meinl E. Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment. *Brain*. 2006 Jan;129(Pt 1):200-11. doi: 10.1093/brain/awh680.
- Krupp LB, Tardieu M, Amato MP, Banwell B, Chitnis T, Dale RC, Ghezzi A, Hintzen R, Kornberg A, Pohl D, Rostasy K, Tenenbaum S, Wassmer E; International Pediatric Multiple Sclerosis Study Group. International Pediatric Multiple Sclerosis Study Group criteria for pediatric multiple sclerosis and immune-mediated

central nervous system demyelinating disorders: revisions to the 2007 definitions. *Mult Scler*. 2013 Sep;19(10):1261-7. doi: 10.1177/1352458513484547.

Kurachi M, Kurachi J, Suenaga F, Tsukui T, Abe J, Ueha S, Tomura M, Sugihara K, Takamura S, Kakimi K, Matsushima K. Chemokine receptor CXCR3 facilitates CD8(+) T cell differentiation into short-lived effector cells leading to memory degeneration. *J Exp Med*. 2011 Aug 1;208(8):1605-20. doi: 10.1084/jem.20102101.

Lancella L, Esposito S, Galli ML, Bozzola E, Labalestra V, Boccuzzi E, Krzysztofiak A, Corsi L, Gattinara GC, Mirante N, Buonsenso D, Tagliabue C, Castellazzi L, Montagnani C, Tersigni C, Valentini P, Capozza M, Pata D, Di Gangi M, Dones P, Garazzino S, Baroero L, Verrotti A, Melzi ML, Sacco M, Germano M, Greco F, Uga E, Cricchiutti G, Villani A. Acute cerebellitis in children: an eleven year retrospective multicentric study in Italy. *Ital J Pediatr*. 2017 Jun 12;43(1):54. doi: 10.1186/s13052-017-0370-z.

Lau CG, Zukin RS. NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2007 Jun;8(6):413-26. doi: 10.1038/nrn2153. Erratum in: *Nat Rev Neurosci*. 2007 Jul;8(7):568.

Lebar R, Baudrimont M, Vincent C. Chronic experimental autoimmune encephalomyelitis in the guinea pig. Presence of anti-M2 antibodies in central nervous system tissue and the possible role of M2 autoantigen in the induction of the disease. *J Autoimmun*. 1989 Apr;2(2):115-32. doi: 10.1016/0896-8411(89)90149-2.

Lee JY, Chitnis T. Pediatric Multiple Sclerosis. *Semin Neurol*. 2016 Apr;36(2):148-53. doi: 10.1055/s-0036-1579738.

Lechner C, Baumann M, Hennes EM, Schanda K, Marquard K, Karenfort M, Leiz S, Pohl D, Venkateswaran S, Pritsch M, Koch J, Schimmel M, Häusler M, Klein A, Blaschek A, Thiels C, Lücke T, Gruber-Sedlmayr U, Kornek B, Hahn A, Leyboldt F, Sandrieser T, Gallwitz H, Stoffels J, Korenke C, Reindl M, Rostásy K. Antibodies to MOG and AQP4 in children with neuromyelitis optica and limited forms of the disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016 Aug;87(8):897-905. doi: 10.1136/jnnp-2015-311743.

Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Fujihara K, Nakashima I, Weinshenker BG. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet*. 2004 Dec 11-17;364(9451):2106-12. doi: 10.1016/S0140-6736(04)17551-X.

Levy EI, Harris AE, Omalu BI, Hamilton RL, Branstetter BF 4th, Pollack IF. Sudden death from fulminant acute cerebellitis. *Pediatr Neurosurg*. 2001 Jul;35(1):24-8. doi: 10.1159/000050381.

Leyboldt F, Höftberger R, Titulaer MJ, Armangue T, Gresa-Arribas N, Jahn H, Rostásy K, Schlumberger W, Meyer T, Wandinger KP, Rosenfeld MR, Graus F, Dalmau J. Investigations on CXCL13 in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: a potential biomarker of treatment response. *JAMA Neurol*. 2015 Feb;72(2):180-6. doi: 10.1001/jamaneurol.2014.2956.

Leyboldt F, Wandinger KP. Paraneoplastic neurological syndromes. *Clin Exp Immunol*. 2014 Mar;175(3):336-48. doi: 10.1111/cei.12185.

Liba Z, Muthaffar O, Tang J, Minassian B, Halliday W, Branson H, Ann Yeh E. Rasmussen encephalitis: Response to early immunotherapy in a case of immune-mediated encephalitis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2015 Feb 12;2(2):e69. doi: 10.1212/NXI.0000000000000069.

Liba Z, Sedlacek P, Sebronova V, Maulisova A, Rydenhag B, Zamecnik J, Kyncl M, Krsek P. Alemtuzumab and intrathecal methotrexate failed in the therapy of Rasmussen encephalitis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2017 May 11;4(4):e354. doi: 10.1212/NXI.0000000000000354.

Lintner H, Hochgatterer-Rechberger P, Pischinger B, Seier J, Vollmann P, Haushofer A, Rittner H, Sommer C, Topakian R. Sensitivity and specificity of cerebrospinal fluid CXCL13 for diagnosing Lyme neuroborreliosis - a study on 1410 patients and review of the literature. *J Neurol Sci*. 2020 Jul 15;414:116843. doi: 10.1016/j.jns.2020.116843.

Lynch DR, Anegawa NJ, Verdoorn T, Pritchett DB. N-methyl-D-aspartate receptors: different subunit requirements for binding of glutamate antagonists, glycine antagonists, and channel-blocking agents. *Mol Pharmacol*. 1994 Mar;45(3):540-5. PMID: 7511781.

- Lynch DR, Rattelle A, Dong YN, Roslin K, Gleichman AJ, Panzer JA. Anti-NMDA Receptor Encephalitis: Clinical Features and Basic Mechanisms. *Adv Pharmacol.* 2018;82:235-260. doi: 10.1016/bs.apha.2017.08.005.
- Mahad D, Callahan MK, Williams KA, Ubogu EE, Kivisäkk P, Tucky B, Kidd G, Kingsbury GA, Chang A, Fox RJ, Mack M, Sniderman MB, Ravid R, Staugaitis SM, Stins MF, Ransohoff RM. Modulating CCR2 and CCL2 at the blood-brain barrier: relevance for multiple sclerosis pathogenesis. *Brain.* 2006 Jan;129(Pt 1):212-23. doi: 10.1093/brain/awh655.
- Marta, C. B. et al. Signaling cascades activated upon antibody cross-linking of myelin oligodendrocyte glycoprotein: potential implications for multiple sclerosis. *J. Biol. Chem.* 280, 8985–8993 (2005).
- Matas SL, Glehn Fv, Fernandes GB, Soares CA. Cerebrospinal fluid analysis in the context of CNS demyelinating diseases. *Arq Neuropsiquiatr.* 2013 Sep;71(9B):685-8. doi: 10.1590/0004-282X20130151.
- McKeon A, Lennon VA, Lotze T, Tenenbaum S, Ness JM, Rensel M, Kuntz NL, Fryer JP, Homburger H, Hunter J, Weinshenker BG, Krecke K, Lucchinetti CF, Pittock SJ. CNS aquaporin-4 autoimmunity in children. *Neurology.* 2008 Jul 8;71(2):93-100. doi: 10.1212/01.wnl.0000314832.24682.c6.
- Miguel-Bayarri V, Casanoves-Laparra EB, Pallás-Beneyto L, Sancho-Chinesta S, Martín-Osorio LF, Tormo-Caladín C, Bautista-Rentero D. Prognostic value of the biomarkers procalcitonin, interleukin-6 and C-reactive protein in severe sepsis. *Med Intensiva.* 2012 Nov;36(8):556-62. English, Spanish. doi: 10.1016/j.medin.2012.01.014.
- Michlmayr D, Lim JK. Chemokine receptors as important regulators of pathogenesis during arboviral encephalitis. *Front Cell Neurosci.* 2014 Sep 30;8:264. doi: 10.3389/fncel.2014.00264.
- Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol.* 2012 Feb;11(2):157-69. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70274-5.
- Moscato EH, Jain A, Peng X, Hughes EG, Dalmau J, Balice-Gordon RJ. Mechanisms underlying autoimmune synaptic encephalitis leading to disorders of memory, behavior and cognition: insights from molecular, cellular and synaptic studies. *Eur J Neurosci.* 2010 Jul;32(2):298-309. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07349.x.
- Murphy AC, Lalor SJ, Lynch MA, Mills KH. Infiltration of Th1 and Th17 cells and activation of microglia in the CNS during the course of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Behav Immun.* 2010 May;24(4):641-51. doi: 10.1016/j.bbi.2010.01.014.
- Nielsen S, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, Bourque C, Agre P, Ottersen OP. Specialized membrane domains for water transport in glial cells: high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *J Neurosci.* 1997 Jan 1;17(1):171-80. doi: 10.1523/JNEUROSCI.17-01-00171.1997.
- Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science.* 2005 May 27;308(5726):1314-8. doi: 10.1126/science.1110647.
- Ousman SS, Kubes P. Immune surveillance in the central nervous system. *Nat Neurosci.* 2012 Jul 26;15(8):1096-101. doi: 10.1038/nn.3161. Erratum in: *Nat Neurosci.* 2014 Sep;17(9):1286.
- Pandit L, Asgari N, Apiwattanakul M, Palace J, Paul F, Leite MI, Kleiter I, Chitnis T; GJCF International Clinical Consortium & Biorepository for Neuromyelitis Optica. Demographic and clinical features of neuromyelitis optica: A review. *Mult Scler.* 2015 Jun;21(7):845-53. doi: 10.1177/1352458515572406.
- Paolicelli RC, Bolasco G, Pagani F, Maggi L, Scianni M, Panzanelli P, Giustetto M, Ferreira TA, Guiducci E, Dumas L, Ragozzino D, Gross CT. Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. *Science.* 2011 Sep 9;333(6048):1456-8. doi: 10.1126/science.1202529.
- Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin 4 and neuromyelitis optica. *Lancet Neurol.* 2012 Jun;11(6):535-44. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70133-3.

- Patakas A, Benson RA, Withers DR, Conigliaro P, McInnes IB, Brewer JM, Garside P. Th17 effector cells support B cell responses outside of germinal centres. *PLoS One*. 2012;7(11):e49715. doi: 10.1371/journal.pone.0049715.
- Peery HE, Day GS, Dunn S, Fritzler MJ, Prüss H, De Souza C, Doja A, Mossman K, Resch L, Xia C, Sakic B, Belbeck L, Foster WG. Anti-NMDA receptor encephalitis. The disorder, the diagnosis and the immunobiology. *Autoimmun Rev*. 2012 Oct;11(12):863-72. doi: 10.1016/j.autrev.2012.03.001.
- Pettilä V, Hynninen M, Takkunen O, Kuusela P, Valtonen M. Predictive value of procalcitonin and interleukin 6 in critically ill patients with suspected sepsis. *Intensive Care Med*. 2002 Sep;28(9):1220-5. doi: 10.1007/s00134-002-1416-1.
- Pfeifenbring S, Bunyan RF, Metz I, Röver C, Huppke P, Gärtner J, Lucchinetti CF, Brück W. Extensive acute axonal damage in pediatric multiple sclerosis lesions. *Ann Neurol*. 2015 Apr;77(4):655-67. doi: 10.1002/ana.24364.
- Phares TW, Stohlman SA, Hinton DR, Bergmann CC. Astrocyte-derived CXCL10 drives accumulation of antibody-secreting cells in the central nervous system during viral encephalomyelitis. *J Virol*. 2013 Mar;87(6):3382-92. doi: 10.1128/JVI.03307-12.
- Pidcock FS, Krishnan C, Crawford TO, Salorio CF, Trovato M, Kerr DA. Acute transverse myelitis in childhood: center-based analysis of 47 cases. *Neurology*. 2007 May 1;68(18):1474-80. doi: 10.1212/01.wnl.0000260609.11357.6f. PMID: 17470749.
- Pinto Junior VL, Rebelo MC, Gomes RN, Assis EF, Castro-Faria-Neto HC, Bóia MN. IL-6 and IL-8 in cerebrospinal fluid from patients with aseptic meningitis and bacterial meningitis: their potential role as a marker for differential diagnosis. *Braz J Infect Dis*. 2011 Mar-Apr;15(2):156-8. doi: 10.1590/s1413-86702011000200011.
- Pohl D, Alper G, Van Haren K, Kornberg AJ, Lucchinetti CF, Tenenbaum S, Belman AL. Acute disseminated encephalomyelitis: Updates on an inflammatory CNS syndrome. *Neurology*. 2016 Aug 30;87(9 Suppl 2):S38-45. doi: 10.1212/WNL.0000000000002825.
- Pohl D, Tenenbaum S. Treatment of acute disseminated encephalomyelitis. *Curr Treat Options Neurol*. 2012 Jun;14(3):264-75. doi: 10.1007/s11940-012-0170-0.
- Popescu BF, Lucchinetti CF. Pathology of demyelinating diseases. *Annu Rev Pathol*. 2012;7:185-217. doi: 10.1146/annurev-pathol-011811-132443.
- Pranzatelli MR, Tate ED, McGee NR, Travelstead AL, Colliver JA, Ness JM, Ransohoff RM. BAFF/APRIL system in pediatric OMS: relation to severity, neuroinflammation, and immunotherapy. *J Neuroinflammation*. 2013 Jan 16;10:10. doi: 10.1186/1742-2094-10-10.
- Pranzatelli MR, Tate ED, McGee NR, Travelstead AL, Verhulst SJ, Ransohoff RM. Expression of CXCR3 and its ligands CXCL9, -10 and -11 in paediatric opsoclonus-myoclonus syndrome. *Clin Exp Immunol*. 2013 Jun;172(3):427-36. doi: 10.1111/cei.12065.
- Pranzatelli MR. Advances in Biomarker-Guided Therapy for Pediatric- and Adult-Onset Neuroinflammatory Disorders: Targeting Chemokines/Cytokines. *Front Immunol*. 2018 Apr 4;9:557. doi: 10.3389/fimmu.2018.00557.
- Quarles R.H. Myelin Sheaths: Glycoproteins Involved in Their Formation, Maintenance and Degeneration. *Cell. Mol. Life Sci*. 2002;59:1851–1871. doi: 10.1007/PL00012510.
- Ramanathan S, Prelog K, Barnes EH, Tantsis EM, Reddel SW, Henderson AP, Vucic S, Gorman MP, Benson LA, Alper G, Riney CJ, Barnett M, Parratt JD, Hardy TA, Leventer RJ, Merheb V, Nosadini M, Fung VS, Brilot F, Dale RC. Radiological differentiation of optic neuritis with myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies, aquaporin-4 antibodies, and multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2016 Apr;22(4):470-82. doi: 10.1177/1352458515593406.

- Rash JE, Yasumura T, Hudson CS, Agre P, Nielsen S. Direct immunogold labeling of aquaporin-4 in square arrays of astrocyte and ependymocyte plasma membranes in rat brain and spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Sep 29;95(20):11981-6. doi: 10.1073/pnas.95.20.11981.
- Ravizza T, Gagliardi B, Noé F, Boer K, Aronica E, Vezzani A. Innate and adaptive immunity during epileptogenesis and spontaneous seizures: evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis*. 2008 Jan;29(1):142-60. doi: 10.1016/j.nbd.2007.08.012.
- Regeniter A, Kuhle J, Mehling M, Möller H, Wurster U, Freidank H, Siede WH. A modern approach to CSF analysis: pathophysiology, clinical application, proof of concept and laboratory reporting. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009 May;111(4):313-8. doi: 10.1016/j.clineuro.2008.12.004.
- Reiber H, Otto M, Trendelenburg C, Wormek A. Reporting cerebrospinal fluid data: knowledge base and interpretation software. *Clin Chem Lab Med*. 2001 Apr;39(4):324-32. doi: 10.1515/CCLM.2001.051.
- Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci*. 2001 Mar 1;184(2):101-22. doi: 10.1016/s0022-510x(00)00501-3.
- Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF)--a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci*. 1994 Apr;122(2):189-203. doi: 10.1016/0022-510x(94)90298-4.
- Reindl M, Waters P. Myelin oligodendrocyte glycoprotein antibodies in neurological disease. *Nat Rev Neurol*. 2019 Feb;15(2):89-102. doi: 10.1038/s41582-018-0112-x. PMID: 30559466.
- Remy MM, Schöbi N, Kottanattu L, Pfister S, Duppenhaler A, Suter-Riniker F. Cerebrospinal fluid CXCL13 as a diagnostic marker of neuroborreliosis in children: a retrospective case-control study. *J Neuroinflammation*. 2017 Aug 31;14(1):173. doi: 10.1186/s12974-017-0948-9.
- Renoux C, Vukusic S, Mikaeloff Y, Edan G, Clanet M, Dubois B, Debouverie M, Brochet B, Lebrun-Frenay C, Pelletier J, Moreau T, Lubetzki C, Vermersch P, Rouillet E, Magy L, Tardieu M, Suissa S, Confavreux C; Adult Neurology Departments KIDMUS Study Group. Natural history of multiple sclerosis with childhood onset. *N Engl J Med*. 2007 Jun 21;356(25):2603-13. doi: 10.1056/NEJMoa067597.
- Rostasy K, Bajer-Kornek B, Venkateswaran S, Hemingway C, Tardieu M. Differential diagnosis and evaluation in pediatric inflammatory demyelinating disorders. *Neurology*. 2016 Aug 30;87(9 Suppl 2):S28-37. doi: 10.1212/WNL.0000000000002878.
- Rupprecht TA, Pfister HW, Angele B, Kastenbauer S, Wilske B, Koedel U. The chemokine CXCL13 (BLC): a putative diagnostic marker for neuroborreliosis. *Neurology*. 2005 Aug 9;65(3):448-50. doi: 10.1212/01.wnl.0000171349.06645.79.
- Rupprecht TA, Plate A, Adam M, Wick M, Kastenbauer S, Schmidt C, Klein M, Pfister HW, Koedel U. The chemokine CXCL13 is a key regulator of B cell recruitment to the cerebrospinal fluid in acute Lyme neuroborreliosis. *J Neuroinflammation*. 2009 Dec 30;6:42. doi: 10.1186/1742-2094-6-42.
- Saraya AW, Wacharapluesadee S, Petcharat S, Sittidetboripat N, Ghai S, Wilde H, Hemachudha T. Normocellular CSF in herpes simplex encephalitis. *BMC Res Notes*. 2016 Feb 15;9:95. doi: 10.1186/s13104-016-1922-9.
- Scarpini E, Galimberti D, Baron P, Clerici R, Ronzoni M, Conti G, Scarlato G. IP-10 and MCP-1 levels in CSF and serum from multiple sclerosis patients with different clinical subtypes of the disease. *J Neurol Sci*. 2002 Mar 15;195(1):41-6. doi: 10.1016/s0022-510x(01)00680-3.
- Sheng J, Ruedl C, Karjalainen K. Most Tissue-Resident Macrophages Except Microglia Are Derived from Fetal Hematopoietic Stem Cells. *Immunity*. 2015 Aug 18;43(2):382-93. doi: 10.1016/j.immuni.2015.07.016.
- Scheer S, John RM. Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor Encephalitis in Children and Adolescents. *J Pediatr Health Care*. 2016 Jul-Aug;30(4):347-58. doi: 10.1016/j.pedhc.2015.09.004.

- Schmitt SE, Pargeon K, Frechette ES, Hirsch LJ, Dalmau J, Friedman D. Extreme delta brush: a unique EEG pattern in adults with anti-NMDA receptor encephalitis. *Neurology*. 2012 Sep 11;79(11):1094-100. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182698cd8.
- Schneider-Hohendorf T, Mohan H, Bien CG, Breuer J, Becker A, Görlich D, Kuhlmann T, Widman G, Herich S, Elpers C, Melzer N, Dornmair K, Kurlemann G, Wiendl H, Schwab N. CD8(+) T-cell pathogenicity in Rasmussen encephalitis elucidated by large-scale T-cell receptor sequencing. *Nat Commun*. 2016 Apr 4;7:11153. doi: 10.1038/ncomms11153.
- Schultzberg M, Lindberg C, Aronsson AF, Hjorth E, Spulber SD, Oprica M. Inflammation in the nervous system--physiological and pathophysiological aspects. *Physiol Behav*. 2007 Sep 10;92(1-2):121-8. doi: 10.1016/j.physbeh.2007.05.050.
- Schwab N, Bien CG, Waschbisch A, Becker A, Vince GH, Dornmair K, Wiendl H. CD8+ T-cell clones dominate brain infiltrates in Rasmussen encephalitis and persist in the periphery. *Brain*. 2009 May;132(Pt 5):1236-46. doi: 10.1093/brain/awp003.
- Song H, Zhou H, Yang M, Xu Q, Sun M, Wei S. Clinical characteristics and outcomes of myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-seropositive optic neuritis in varying age groups: A cohort study in China. *J Neurol Sci*. 2019 May 15;400:83-89. doi: 10.1016/j.jns.2019.03.014.
- Sørensen TL, Ransohoff RM, Strieter RM, Sellebjerg F. Chemokine CCL2 and chemokine receptor CCR2 in early active multiple sclerosis. *Eur J Neurol*. 2004 Jul;11(7):445-9. doi: 10.1111/j.1468-1331.2004.00796.x.
- Sørensen TL, Sellebjerg F, Jensen CV, Strieter RM, Ransohoff RM. Chemokines CXCL10 and CCL2: differential involvement in intrathecal inflammation in multiple sclerosis. *Eur J Neurol*. 2001 Nov;8(6):665-72. doi: 10.1046/j.1468-1331.2001.00327.x.
- Sorte DE, Poretti A, Newsome SD, Boltshauser E, Huisman TA, Izbudak I. Longitudinally extensive myelopathy in children. *Pediatr Radiol*. 2015 Feb;45(2):244-57; quiz 241-3. doi: 10.1007/s00247-014-3225-4.
- Spadaro M, Gerdes LA, Mayer MC, Ertl-Wagner B, Laurent S, Krumbholz M, Breithaupt C, Högen T, Straube A, Giese A, Hohlfeld R, Lassmann H, Meinl E, Kümpfel T. Histopathology and clinical course of MOG-antibody-associated encephalomyelitis. *Ann Clin Transl Neurol*. 2015 Mar;2(3):295-301. doi: 10.1002/acn3.164. Epub 2015 Jan 14.
- Suppiej A, Cainelli E, Casara G, Cappellari A, Nosadini M, Sartori S. Long-term neurocognitive outcome and quality of life in pediatric acute disseminated encephalomyelitis. *Pediatr Neurol*. 2014 Apr;50(4):363-7. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2013.12.006.
- Süße M, Saathoff N, Hannich M, von Podewils F. Cerebrospinal fluid changes following epileptic seizures unrelated to inflammation. *Eur J Neurol*. 2019 Jul;26(7):1006-1012. doi: 10.1111/ene.13924.
- Takahashi Y, Yamazaki E, Mine J, Kubota Y, Imai K, Mogami Y, Baba K, Matsuda K, Oguni H, Sugai K, Ohtsuka Y, Fujiwara T, Inoue Y. Immunomodulatory therapy versus surgery for Rasmussen syndrome in early childhood. *Brain Dev*. 2013 Sep;35(8):778-85. doi: 10.1016/j.braindev.2013.01.010.
- Tea F, Lopez JA, Ramanathan S, Merheb V, Lee FXZ, Zou A, Pilli D, Patrick E, van der Walt A, Monif M, Tantsis EM, Yiu EM, Vucic S, Henderson APD, Fok A, Fraser CL, Lechner-Scott J, Reddel SW, Broadley S, Barnett MH, Brown DA, Lunemann JD, Dale RC, Brilot F; Australasian and New Zealand MOG Study Group. Characterization of the human myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody response in demyelination. *Acta Neuropathol Commun*. 2019 Sep 3;7(1):145. doi: 10.1186/s40478-019-0786-3.
- Tenembaum S, Chamoles N, Fejerman N. Acute disseminated encephalomyelitis: a long-term follow-up study of 84 pediatric patients. *Neurology*. 2002 Oct 22;59(8):1224-31. doi: 10.1212/wnl.59.8.1224.
- Tenembaum S, Chitnis T, Nakashima I, Collongues N, McKeon A, Levy M, Rostasy K. Neuromyelitis optica spectrum disorders in children and adolescents. *Neurology*. 2016 Aug 30;87(9 Suppl 2):S59-66. doi: 10.1212/WNL.0000000000002824.

- Tenembaum SN. Treatment of multiple sclerosis and neuromyelitis optica in children and adolescents. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013 Dec;115 Suppl 1:S21-9. doi: 10.1016/j.clineuro.2013.09.016.
- Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, Correale J, Fazekas F, Filippi M, Freedman MS, Fujihara K, Galetta SL, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Marrie RA, Miller AE, Miller DH, Montalban X, Mowry EM, Sorensen PS, Tintoré M, Traboulsee AL, Trojano M, Uitdehaag BMJ, Vukusic S, Waubant E, Weinshenker BG, Reingold SC, Cohen JA. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*. 2018 Feb;17(2):162-173. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2.
- Titulaer MJ, McCracken L, Gabilondo I, Armangué T, Glaser C, Iizuka T, Honig LS, Benseler SM, Kawachi I, Martinez-Hernandez E, Aguilar E, Gresa-Arribas N, Ryan-Florance N, Torrents A, Saiz A, Rosenfeld MR, Balice-Gordon R, Graus F, Dalmau J. Treatment and prognostic factors for long-term outcome in patients with anti-NMDA receptor encephalitis: an observational cohort study. *Lancet Neurol*. 2013 Feb;12(2):157-65. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70310-1.
- Trabatti C, Foadelli T, Sparta MV, Gagliardone C, Rinaldi B, Delmonte M, Lozza A, Savasta S. Paediatric clinically isolated syndromes: report of seven cases, differential diagnosis and literature review. *Childs Nerv Syst*. 2016 Jan;32(1):69-77. doi: 10.1007/s00381-015-2959-0.
- Transverse Myelitis Consortium Working Group. Proposed diagnostic criteria and nosology of acute transverse myelitis. *Neurology*. 2002 Aug 27;59(4):499-505. doi: 10.1212/wnl.59.4.499.
- Tremblay MÈ, Lowery RL, Majewska AK. Microglial interactions with synapses are modulated by visual experience. *PLoS Biol*. 2010 Nov 2;8(11):e1000527. doi: 10.1371/journal.pbio.1000527.
- Tüzün E, Zhou L, Baehring JM, Bannykh S, Rosenfeld MR, Dalmau J. Evidence for antibody-mediated pathogenesis in anti-NMDAR encephalitis associated with ovarian teratoma. *Acta Neuropathol*. 2009 Dec;118(6):737-43. doi: 10.1007/s00401-009-0582-4.
- Twilt M, Benseler SM. CNS vasculitis in children. *Mult Scler Relat Disord*. 2013 Jul;2(3):162-71. doi: 10.1016/j.msard.2012.11.002.
- van Baalen A, Stephani U, Kluger G, Häusler M, Dulac O. FIRES: febrile infection responsive epileptic (FIRE) encephalopathies of school age. *Brain Dev*. 2009 Jan;31(1):91; author reply 92-3. doi: 10.1016/j.braindev.2008.05.004.
- van Burgel ND, Bakels F, Kroes AC, van Dam AP. Discriminating Lyme neuroborreliosis from other neuroinflammatory diseases by levels of CXCL13 in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol*. 2011 May;49(5):2027-30. doi: 10.1128/JCM.00084-11.
- Varadkar S, Bien CG, Kruse CA, Jensen FE, Bauer J, Pardo CA, Vincent A, Mathern GW, Cross JH. Rasmussen's encephalitis: clinical features, pathobiology, and treatment advances. *Lancet Neurol*. 2014 Feb;13(2):195-205. doi: 10.1016/S1474-4422(13)70260-6.
- Vargas MI, Gariani J, Sztajzel R, Barnaure-Nachbar I, Delattre BM, Lovblad KO, Dietemann JL. Spinal cord ischemia: practical imaging tips, pearls, and pitfalls. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2015 May;36(5):825-30. doi: 10.3174/ajnr.A4118.
- Vazirinejad R, Ahmadi Z, Kazemi Arababadi M, Hassanshahi G, Kennedy D. The biological functions, structure and sources of CXCL10 and its outstanding part in the pathophysiology of multiple sclerosis. *Neuroimmunomodulation*. 2014;21(6):322-30. doi: 10.1159/000357780.
- Verkman AS, Phuan PW, Asavapanumas N, Tradtrantip L. Biology of AQP4 and anti-AQP4 antibody: therapeutic implications for NMO. *Brain Pathol*. 2013 Nov;23(6):684-95. doi: 10.1111/bpa.12085.
- Wake H, Moorhouse AJ, Jinno S, Kohsaka S, Nabekura J. Resting microglia directly monitor the functional state of synapses in vivo and determine the fate of ischemic terminals. *J Neurosci*. 2009 Apr 1;29(13):3974-80. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4363-08.2009.
- Waldman AT, Gorman MP, Rensel MR, Austin TE, Hertz DP, Kuntz NL; Network of Pediatric Multiple Sclerosis Centers of Excellence of National Multiple Sclerosis Society. Management of pediatric central

nervous system demyelinating disorders: consensus of United States neurologists. *J Child Neurol.* 2011 Jun;26(6):675-82. doi: 10.1177/0883073810395141.

Waldman AT, Stull LB, Galetta SL, Balcer LJ, Liu GT. Pediatric optic neuritis and risk of multiple sclerosis: meta-analysis of observational studies. *J AAPOS.* 2011 Oct;15(5):441-6. doi: 10.1016/j.jaapos.2011.05.020.

Wang C, Wu K, Yu Q, Zhang S, Gao Z, Liu Y, Ni L, Cheng Y, Guan Z, Shi M, Lu H, Lou Y, Zhou P. CXCL13, CXCL10 and CXCL8 as Potential Biomarkers for the Diagnosis of Neurosyphilis Patients. *Sci Rep.* 2016 Sep 21;6:33569. doi: 10.1038/srep33569..

Waters P, Fadda G, Woodhall M, O'Mahony J, Brown RA, Castro DA, Longoni G, Irani SR, Sun B, Yeh EA, Marrie RA, Arnold DL, Banwell B, Bar-Or A; Canadian Pediatric Demyelinating Disease Network. Serial Anti-Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody Analyses and Outcomes in Children With Demyelinating Syndromes. *JAMA Neurol.* 2020 Jan 1;77(1):82-93. doi: 10.1001/jamaneurol.2019.2940.

Waters P, Reindl M, Saiz A, Schanda K, Tuller F, Kral V, Nytrova P, Sobek O, Nielsen HH, Barington T, Lillevang ST, Illes Z, Rentzsch K, Berthele A, Berki T, Granieri L, Bertolotto A, Giometto B, Zuliani L, Hamann D, van Pelt ED, Hintzen R, Höftberger R, Costa C, Comabella M, Montalban X, Tintoré M, Siva A, Altintas A, Deniz G, Woodhall M, Palace J, Paul F, Hartung HP, Aktas O, Jarius S, Wildemann B, Vedeler C, Ruiz A, Leite MI, Trillenber P, Probst M, Saschenbrecker S, Vincent A, Marignier R. Multicentre comparison of a diagnostic assay: aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2016 Sep;87(9):1005-15. doi: 10.1136/jnnp-2015-312601.

Waxman EA, Lynch DR. N-methyl-D-aspartate receptor subtypes: multiple roles in excitotoxicity and neurological disease. *Neuroscientist.* 2005 Feb;11(1):37-49. doi: 10.1177/1073858404269012.

Webb AA, Muir GD. The blood-brain barrier and its role in inflammation. *J Vet Intern Med.* 2000 Jul-Aug;14(4):399-411. PMID: 10935890.

Webster KM, Sun M, Crack P, O'Brien TJ, Shultz SR, Semple BD. Inflammation in epileptogenesis after traumatic brain injury. *J Neuroinflammation.* 2017 Jan 13;14(1):10. doi: 10.1186/s12974-016-0786-1.

Wingerchuk DM, Banwell B, Bennett JL, Cabre P, Carroll W, Chitnis T, de Seze J, Fujihara K, Greenberg B, Jacob A, Jarius S, Lana-Peixoto M, Levy M, Simon JH, Tenenbaum S, Traboulsee AL, Waters P, Wellik KE, Weinshenker BG; International Panel for NMO Diagnosis. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology.* 2015 Jul 14;85(2):177-89. doi: 10.1212/WNL.0000000000001729

Wolf VL, Lupo PJ, Lotze TE. Pediatric acute transverse myelitis overview and differential diagnosis. *J Child Neurol.* 2012 Nov;27(11):1426-36. doi: 10.1177/0883073812452916.

Wynford-Thomas R, Jacob A, Tomassini V. Neurological update: MOG antibody disease. *J Neurol.* 2019 May;266(5):1280-1286. doi: 10.1007/s00415-018-9122-2.

Yeh EA, Graves JS, Benson LA, Wassmer E, Waldman A. Pediatric optic neuritis. *Neurology.* 2016 Aug 30;87(9 Suppl 2):S53-8. doi: 10.1212/WNL.0000000000002822.

Yeshokumar AK, Narula S, Banwell B. Pediatric multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol.* 2017 Jun;30(3):216-221. doi: 10.1097/WCO.0000000000000452.

Young NP, Weinshenker BG, Parisi JE, Scheithauer B, Giannini C, Roemer SF, Thomsen KM, Mandrekar JN, Erickson BJ, Lucchinetti CF. Perivenous demyelination: association with clinically defined acute disseminated encephalomyelitis and comparison with pathologically confirmed multiple sclerosis. *Brain.* 2010 Feb;133(Pt 2):333-48. doi: 10.1093/brain/awp321.

9 PŘÍLOHY