

Wewnątrzpłynowa synteza immunoglobulin

Intrathecal synthesis of immunoglobulins

JACEK ZABORSKI

Z II Kliniki Neurologicznej IPiN w Warszawie

STRESZCZENIE. *W pracy omówiono najistotniejsze zagadnienia związane z wewnątrzpłynową syntezą immunoglobulin, mechanizmy patogenezy doprowadzające do wystąpienia tego procesu. Przedstawiono zastosowanie wykrywania wewnątrzpłynowej syntezy immunoglobulin w diagnostyce chorób układu nerwowego.*

SUMMARY. *Major issues concerning intrathecal synthesis of immunoglobulins, as well as the pathogenic mechanism underlying the onset of this process are dealt with in the paper. The application of intrathecal synthesis of immunoglobulins to the diagnostics of the nervous system diseases is discussed.*

Słowa kluczowe: płyn mózgowo-rdzeniowy / diagnostyka / wewnątrzpłynowa synteza immunoglobulin / stwardnienie rozsiane

Key words: cerebrospinal fluid / diagnostics / intrathecal immunoglobulins synthesis / multiple sclerosis

Za początek badań białek płynu mózgowo-rdzeniowego uważane są prace Kabata i wsp. z 1942 roku. Wykazali oni, stosując elektroforezę wg Tiseliusa, że skład białkowy płynu jest zbliżony do składu surowicy. Jednakże po obliczeniu procentowego udziału poszczególnych frakcji białkowych w białku całkowitym płynu mózgowo-rdzeniowego stwierdzili, że np. u pacjentów z kiłą ośrodkowego układu nerwowego (o.u.n.), następuje zwiększenie frakcji gammaglobulin, co nie ma swojego odbicia w zmianach białkowych surowicy. Dane te nasunęły przypuszczenie, że część frakcji gammaglobulin powstaje w o.u.n. Wyniki te korelowały ze zmianami krzywej złotowej, stwierdzanymi u chorych na stwardnienie rozsiane (s.r.) lub kiłę o.u.n. Przekonywujących dowodów na istnienie syntezy gammaglobulin w o.u.n. dostarczyli w 1958 r. Frick i Scheid-Syedel przeprowadzając doświadczenia nad dystrybucją podanych dożylnie białek znakowanych jodem I-131. Stwierdzili oni, że u chorych na s.r.

tylko część gammaglobulin płynu mózgowo-rdzeniowego pochodzi z surowicy, w przeciwieństwie do albuminy, która w całości pochodzi spoza o.u.n. W 1966 roku Tourtellotte wykazał, że stężenie IgG w zmianach demielinizacyjnych jest wyższe niż wynikałoby to ze stężenia IgG w płynie. Fakt ten pozwolił mu na stwierdzenie, że w przypadkach stwardnienia rozsianego mamy do czynienia z syntezą IgG w o.u.n.

W warunkach prawidłowych stężenie immunoglobulin w płynie mózgowo-rdzeniowym jest znacznie niższe niż w surowicy oraz nie stwierdza się ich syntezy w obrębie o.u.n. lub występuje ona w ilościach śladowych. Obecność wewnątrzpłynowej syntezy immunoglobulin jest wynikiem istnienia procesu patologicznego w układzie nerwowym, w czasie którego aktywowane limfocyty B i komórki plazmatyczne produkują immunoglobuliny. Należą one głównie do klasy IgG, lecz obecne mogą być również immunoglobuliny innych klas: IgA, IgD, IgM.

Poszczególne klony limfocytów B charakteryzują się swoistością antygenową posiadanych receptorów (posiadają określony idyotyp). W wyniku reakcji z antygenem (bakterie, wirusy, białka, itp.) limfocyty T ulegają aktywacji. Pobudzone limfocyty T, w wyniku reakcji m.in. z molekułami adhezyjnymi śródbłonna (slektyna E i P, VCAM-1, ICAM-1, ICAM-2, LFA-3), są zdolne do przekroczenia bariery krew-mózg. W o.u.n. aktywowane limfocyty T w obecności komórek prezentujących antygen (makrofagi lub komórki mikrogleju) i antygenów zgodności tkankowej typu II wydzielają m.in. cytokiny (np. interferony, TNF-alfa, interleukiny) [Bartlett i wsp. 1991, Hartung 1995, Hohlfeld i wsp. 1995, Wekerle 1991]. Są to substancje, których działanie polega m.in. na pobudzeniu limfocytów B i komórek plazmatycznych do syntezy przeciwciał. Działanie pobudzające na limfocyty B wykazują m.in. interleukina 1, 4, 5, 6 i 10. W chorobach infekcyjnych, początkowo w wyniku aktywacji, limfocyty B syntetyzują immunoglobulinę M, a w następnych etapach IgG, natomiast w przewlekłych nieswoistych procesach zapalnych od początku choroby dominuje synteza IgG. Jeżeli pobudzenie dotyczy wyłącznie jednego klonu limfocytów B mamy do czynienia z syntezą monoklonalną, jeżeli kilku – oligoklonalną, a jeżeli wielu to poliklonalną. U ludzi zdrowych występuje synteza poliklonalna związana z mnogością antygenów, z którymi kontaktuje się człowiek. W warunkach patologicznych mamy dużą ilość jednego lub najwyżej kilku antygenów, dlatego też występuje synteza monoklonalnej lub oligoklonalnej [Felgenhauer i wsp. 1987, Thompson 1988, 1995]. Te formy syntezy nie występują nigdy u ludzi zdrowych i są przeważnie związane z istnieniem przewlekłych procesów zapalnych układu nerwowego (np. stwardnienie rozsiane, neuroborelioza, toczeń układowy). Laurenzi i Link wykazali, że w przypadkach s.r. dominują lekkie łańcuchy kappa w składzie syntetyzowanej wewnątrzpłynowo IgG [Link i Laurenzi 1979]. Natomiast w innych chorobach zapalnych, takich

jak zespół Guillain-Barr'e, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, dominują lekkie łańcuchy lambda [Fryden i Link 1978, 1979].

W warunkach prawidłowych około 80% białek płynu mózgowo-rdzeniowego pochodzi z przesączania białek surowicy krwi przez barierę krew-mózg (spłoty naczyńkowe układu komorowego), a 20% jest syntetyzowanych w ośrodkowym układzie nerwowym. W przebiegu wielu procesów chorobowych proporcje te mogą ulec zachwianiu, zarówno pod względem ilościowym, jak i jakościowym. Ilość i rodzaj danego białka w płynie mózgowo-rdzeniowym, przesączanego przez barierę krew-mózg, zależy przede wszystkim od jego ciężaru, lipofilności i odczynu pH. Łatwiej przez barierę przenikają białka o większej lipofilności (np. lipoproteiny) oraz białka o odczynie kwaśnym. Skład białkowy surowicy i płynu mózgowo-rdzeniowego jest różny zarówno pod względem ilościowym, jak i jakościowym (tabl. 1).

Tablica 1. Porównanie składu białkowego płynu mózgowo-rdzeniowego i surowicy (główne frakcje) [Thompson 1988]

Płyn mózgowo-rdzeniowy	Surowica
albumina	albumina
beta globuliny	IgG
IgG	beta lipoproteina
prealbumina	alfa lipoproteina
transferyna	fibrynogen
alfa-1-antytrypsyna	transferyna
apo-A-lipoproteina	alfa-1-antytrypsyna
pasma gamma	alfa-2-makroglobulina

podano w kolejności malejącego udziału procentowego w stężeniu białka całkowitego.

Obecność wewnątrzpłynowej syntezy immunoglobulin można stwierdzić dwoma sposobami. Pierwszy – to wykazanie obecności oligoklonalnej immunoglobuliny G (również: IgA, IgM, IgD) z zastosowaniem metod elektroforetycznych (np. izoelektroogniskowanie na żelu poliakrylamidowym), drugi – to stwierdzenie obecności wewnątrzpłynowej

syntezy immunoglobulin z użyciem wskaźników matematycznych. W oparciu o własne doświadczenia, Deplech i Lichtblau (1972) wprowadzili do diagnostyki klinicznej swój wskaźnik IgG świadczący o syntezie IgG w o.u.n. Podobne wskaźniki obecności wewnątrzplynowej syntezy IgG wprowadzili: Tibbling i Link (1977), Tourtellotte (1978), Reiber (1980), Schüller i Sagar (1981) oraz Öhman (1989). Podwyższone wartości wskaźnika IgG powyżej 0,7 stwierdzano u około 70% chorych na s.r. [Link i wsp. 1977, Thompson 1977]. Do najczęściej stosowanych w praktyce klinicznej wskaźników syntezy wewnątrzplynowej immunoglobulin należą:

(1) **wskaźnik IgG** [Link i Tibbling 1977]:
wskaźnik IgG = $(\text{IgG}_{\text{plyn mózgowo-rdzeniowy}} / \text{IgG}_{\text{surowica}}) / (\text{albumina}_{\text{plyn mózgowo-rdzeniowy}} / \text{albumina}_{\text{surowica}})$,

wartości nieprawidłowe: powyżej 0,7

(2) **wskaźnik dobowej syntezy IgG**
(SRIGG w mg/dl)

[Tourtellotte i Booe 1978]:

SRIGG =

$[(\text{IgG}_{\text{plyn mózgowo-rdzeniowy}} - \text{IgG}_{\text{surowica}} / 369) - (\text{albumina}_{\text{plyn mózgowo-rdzeniowy}} - \text{albumina}_{\text{surowica}} / 230) \times (0,43)] \times 5$,

wartości nieprawidłowe:

powyżej 3,3 mg/dl/24 h

(3) **wskaźnik miejscowej syntezy IgG**
(Loc IgG w mg/dl) [Reiber 1980]:

Loc IgG =

$[(\text{IgG}_{\text{plyn mózgowo-rdzeniowy}} / \text{IgG}_{\text{surowica}}) - 0,8 \times \{(\text{albumina}_{\text{plyn mózgowo-rdzeniowy}} / \text{albumina}_{\text{surowica}})^2 + 15 \times 10^{-6}\}^{1/2} + 1,8 \times 10^{-3}] \times \text{IgG}_{\text{surowica}}$,

wartości nieprawidłowe:

powyżej 0,0 mg/dl

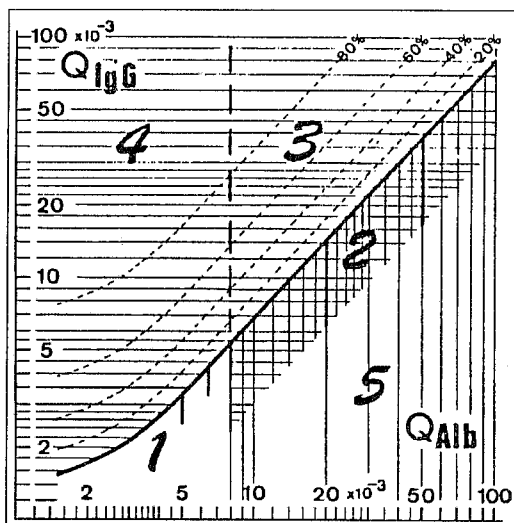
(4) **rozszerzony wskaźnik IgG (EI IgG)**
[Öhman 1989]:

EI IgG =

$(\text{IgG}_{\text{plyn mózgowo-rdzeniowy}} / \text{IgG}_{\text{surowica}}) / [(\text{albumina}_{\text{plyn mózgowo-rdzeniowy}} / \text{albumina}_{\text{surowica}})]^{1.12}$.

wartości nieprawidłowe: powyżej 1,24

Czułość wymienionych wskaźników syntezy wewnątrzplynowej immunoglobulin wynosi wg różnych autorów od 60 do 75% [Link i wsp. 1977, Öhman i wsp. 1992]. Wskaźniki te mają ograniczone znaczenie w przypadkach uszkodzonej bariery krew-płyn mózgowo-rdzeniowy (np. w wyniku sztucznego skrwawienia płynu w trakcie nakłucia łędźwiowego). Uszkodzenie bariery krew-płyn mózgowo-rdzeniowy może być przyczyną wyników zarówno fałszywie dodatnich, jak i fałszywie ujemnych. W takich przypadkach oznaczanie wskaźników syntezy wewnątrzplynowej jest bezcelowe. Należy odczekać 2-3 tygodnie i ponownie wykonać



Rysunek 1. Diagram pozwalający na stwierdzenie wewnątrzplynowej syntezy immunoglobuliny G oraz ocenę stanu bariery krew-mózg [Reiber 1980]

Qalb - albumina (płyn mózgowo-rdzeniowy) / albumina (surowica);

QIGG - IgG (płyn mózgowo-rdzeniowy) / IgG (surowica)

Pole 1: stan prawidłowy; nieuszkodzona bariera i nieobecna synteza IgG

Pole 2: izolowane uszkodzenie bariery krew-mózg (np. podczas krwotoku mózgowego)

Pole 3: obecna synteza wewnątrzplynowa oraz uszkodzona bariera krew-mózg (stany zapalne układu nerwowego, np. zapalenie opon)

Pole 4: obecna synteza wewnątrzplynowa IgG bez uszkodzenia bariery - przewlekłe procesy zapalne (np. stwardnienie rozsiane)

Pole 5: w żadnej sytuacji wynik nie może znaleźć się na tym polu - błąd laboratoryjny

oznaczenia białek płynu mózgowo-rdzeniowego. Dodatkowo, w trakcie oznaczania wskaźników syntezy wewnątrzpłynowej, wskazane jest oznaczenie wskaźnika albuminowego (QAlb) (Qalb = albumina^{płyn mózgowo-rdzeniowy} / albumina^{surowica}), świadczącego o stanie czynnościowym bariery krew-mózg. Prawidłowe wartości wskaźnika albuminowego wynoszą poniżej $7,0 \times 10^{-6}$. Obecność wewnątrzpłynowej syntezy immunoglobulin można dla celów praktycznych przedstawić w formie graficznej. Obecnie często stosuje się w praktyce klinicznej diagramy ilustrujące istnienie wewnątrzpłynowej syntezy immunoglobulin i stanu czynnościowego bariery krew-mózg. Najczęściej stosowane są wykresy wg Thompsona i wg Reibera (rys. 1).

Wskaźnik swoistych przeciwciał ()

W przypadkach chorób spowodowanych znanym czynnikiem etiologicznym (np. neuroinfekcje: kiła o.u.n., borelioza, HIV, toksoplazmoza) można oznaczać wewnątrzpłynową syntezę przeciwciał skierowanych przeciwko swoistym antygenom, jako wskaźnik syntezy swoistych przeciwciał (*antibody specificity index*, ASI) [Reiber i wsp. 1991, Felgenhauer 1992]. Wartość tego wskaźnika oblicza się w następujący sposób:

$$(1) \text{ ASI} = \text{QAb}/\text{QIgG}, \text{ gdy } \text{QIgG}/\text{Qlim} \text{ lub}$$

$$(2) \text{ ASI} = \text{QAb}/\text{Qlim}, \text{ gdy } \text{QIgG}/\text{Qlim},$$

gdzie:

$$\text{QIgG} = \text{IgG}^{\text{płyn mózgowo-rdzeniowy}} / \text{IgG}^{\text{surowica}}$$

$$\text{QAb} = \text{Abspec.}^{\text{płyn mózgowo-rdzeniowy}} / \text{Abspec.}^{\text{surowica}},$$

Abspec. = stężenie przeciwciał skierowanych przeciwko swoistym antygenom.

Wartość Qlim obliczamy wg wzoru:

$$\text{Qlim} = 0,8 \times [(\text{albumina}^{\text{płyn mózgowo-rdzeniowy}} / \text{albumina}^{\text{surowica}})^2 + 15 \times 10^{-6}]^{1/2} - 1,8 \times 10^{-3}.$$

Prawidłowa wartość ASI: poniżej 1,5.

Znany jest program komputerowy, który na podstawie stężeń IgG i albuminy w płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy oblicza wartości ASI. Oznaczanie ASI ma zastosowanie w diagnostyce wielu chorób układu nerwowego (tabl. 2) [Thompson 1995]. Dotyczy to szczególnie przypadków, w których istotnym elementem diagnostyki jest ocena, czy w przebiegu ogólnoustrojowych infekcji lub procesów zapalnych doszło do zajęcia układu nerwowego (np. w przypadkach toczenia, boreliozy, kiły, HIV).

Tablica 2. Procesy chorobowe, w których można oznaczać wskaźnik swoistych przeciwciał – ASI [Thompson 1995]

Bakterie:	S. pneumoniae H. influenzae M. tuberculosis T. pallidum B. burgdoferi
Wirusy:	odry różyczki ospy wietrznej i półpaśca opryszczki typu I i II nagminne zapalenie przyusznicy cytomegalii JC papova ECHO Ebstein-Barr HIV
Pierwotniaki:	toksoplazmoza malaria
Inne:	aspergiloza odczyn Kveima (sarkoidoza)

Podwyższone wartości ASI uprawniają np. do rozpoznania neuroboreliozy czy kiły o.u.n. W przypadkach chorób zapalnych układu nerwowego o znanej etiologii wartości ASI osiągają wysokie wartości (często powyżej 20) dla jednego antygeny. W przebiegu przewlekłych chorób zapalnych o nieustalonej etiologii, jak: stwardnie-

nie rozsiiane, toczeń z zajęciem układu nerwowego lub izolowane zapalenia naczyń o.u.n., wartości ASI mogą ulec podwyższeniu dla więcej niż jednego antygeny. Wskaźniki te nie osiągają jednak tak wysokich wartości, jak w przypadkach swoistych zakażeń układu nerwowego. W przypadkach przewlekłych procesów zapalnych o.u.n. stwierdzano obecność przeciwciał przeciw wirusom odry, różyczki, nagminnego zapalenia przyusznic, wirusa opryszczki i półpaśca [Felgenhauer 1991, Reiber i Lange 1991, Felgenhauer i Reiber 1992].

Obecność wewnątrzpłynowej syntezy immunoglobulin skierowanych przeciwko wielu antygenom (np. wirusowym), jest najprawdopodobniej wynikiem nieswoistego pobudzenia limfocytów B w następstwie licznych zaburzeń układu odpornościowego. Istnieje możliwość, że tylko niewielka część immunoglobulin jest skierowana przeciwko swoistemu antygenowi odpowiedzialnemu za wystąpienie s.r. lub innej choroby zapalnej układu nerwowego, a w większości są to przeciwciała przeciwko całemu spectrum antygenów: wirusowych, bakteryjnych, autoantygenów, jak również przeciwciała antyidiotypowe [Felgenhauer 1987, Wekerle 1991]. Ta polispecyficzna odpowiedź jest obserwowana nie tylko w przypadkach stwardnienia rozsianego. Jej obecność stwierdzono w przypadkach tocznia trzewnego rumieniowatego z objawami ze strony układu nerwowego, jak również w późnych fazach neuroinfekcji wirusowych [Reiber i Felgenhauer 1987, Reiber i Lange 1991, Sindic i wsp. 1994]. Nie jest dotychczas jasne, dlaczego istnieją determinaty antygenowe dla wirusów odry, różyczki, półpaśca i nagminnego zapalenia przyusznic. Wszystkie wyżej wymienione wirusy są prawdopodobnie obecne w układzie nerwowym częściej, niż wskazywałyby na to objawy kliniczne i być może w dzieciństwie powodują aktywację komórek B i przetrwanie ich jako komórek pamięci immunologicznej, uczynianych w wyniku niespecyficznego aktywacji układu odpornościowego [Sindic i wsp. 1994]. Obecność takich przetrwałych komórek pa-

mięci stwierdzili Gerhard i Koprowski. Napływ aktywowanych komórek T pomocniczych, przez barierę krew-płyn mózgowo-rdzeniowy, wydaje się być tym czynnikiem, który może prowadzić do reaktywacji komórek pamięci obecnych w o.u.n. [Wekerle 1991, Hohlfeld i wsp. 1995]. Reaktywacja taka powoduje syntezę oligoklonalnych przeciwciał przeciwko wirusom neurotropowym [Sindic i wsp. 1994].

Nadal nie jest jasne, czy stwierdzana w s.r. wewnątrzpłynowa synteza immunoglobulin jest wynikiem infekcji wirusowej, reakcji autoimmunologicznej, czy też jest przejawem nadwrażliwości na nieokreślony dotychczas antygen związany z występowaniem s.r. W s.r. stwierdzono również obecność przeciwciał skierowanych przeciw innym antygenom: MAG, MOG, oligodendrocytom. Tylko niewielka część IgG skierowana jest przeciwko białku zasadowemu mieliny i nie jest to zjawisko charakterystyczne dla s.r.

Od czasu opublikowania w 1994 roku *Consensus Report* w sprawie badań płynu mózgowo-rdzeniowego ustalono, że badaniem z wyboru do wykrywania wewnątrzpłynowej syntezy immunoglobulin jest oznaczanie obecności oligoklonalnej IgG [Anderson i wsp. 1994]. Czulość tego badania wynosi do 98% w przypadkach stwardnienia rozsianego. Jednakże w diagnostyce s.r. i innych chorób zapalnych układu nerwowego należałoby początkowo oznaczać co najmniej dwa wskaźniki matematyczne wewnątrzpłynowej syntezy immunoglobulin i tylko w przypadkach stwierdzenia wartości prawidłowych istnieją wskazania do oznaczania oligoklonalnej IgG, gdyż jest to badanie dość drogie i dostępne jedynie w niewielu ośrodkach.

PIŚMIENNICTWO

1. Anderson M., Alvarez-Cremeno J., Bernardi G., Cogato I., Fredman P., Frederikson J., Fredrikson S., Gallo P., Grimaldi P. i wsp.: Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1994, 57, 897.

2. Bartlett P.F., Kilpatrick T.J.: Neuroimmunology of demyelinating disease. *Curr. Opin. Neurol. Neurosurg.* 1991, 4, 181.
3. Deplech B., Lichtblau E.: Etude quantitative des immunoglobulines G et de l'albumine du liquor cephalo-rachidien. *Clin. Chim. Acta* 1972, 37, 15.
4. Felgenhauer K., Reiber H.: The diagnostic significance of antibody specificity indices in multiple sclerosis and herpes virus induces diseases of the nervous system. *Clin. Investig.* 1992, 70, 28.
5. Felgenhauer K., Wilske B.: The nature of the oligoclonal immune response within the central nervous system. *J. Neurol.* 1987, 235, 60.
6. Felgenhauer K.: Die diagnostische Bedeutung der lokal synthetisierten spezifischen Antikörper des Liquor cerebrospinalis. *Lab. Med.* 1991, 15, 208.
7. Fryden A., Link H., Norby E.: Cerebrospinal fluid and serum immunoglobulins and antibody titers in mumps meningitis and aseptic meningitis of other etiology. *Infect. Immun.* 1978, 21, 852.
8. Fryden A., Link H.: Predominance of oligoclonal IgG type lambda in CSF in aseptic meningitis. *Arch. Neurology* 1979, 36, 478.
9. Hartung H.P.: Pathogenesis of inflammatory demyelination: implication for therapy. *Curr. Opin. Neurol.* 1995, 8, 191.
10. Hohlfeld R., Meinl E., Weber F., Zipp F., Schmidt S., Sotgiu S., Goebels N., Voltz R., Iglesias A., Spuler S., Werkele H.: The role of autoimmune T lymphocytes in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neurology* 1995, 45/suppl./, S33.
11. Link H., Laurenzi M.A.: Immunoglobulin class and light chain type of oligoclonal bands in CSF in multiple sclerosis determined by agarose gel electrophoresis and immunofixation. *Ann. Neurol.* 1979, 6, 107.
12. Link H., Tibbling G.: Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. Part III. Evaluation of IgG synthesis within central nervous system in multiple sclerosis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1977, 437, 397.
13. Öhman S., Ernerudh J., Forsberg P., Henrikson A., von Schenk M., Verthem M.: Comparison of seven formulae and isoelectric focusing for detection of intrathecally produced IgG in neurological diseases. *Ann. Clin. Biochem.* 1992, 29, 405.
14. Öhman S., Forsberg P., Nelson N., Vrethem M.: An improved formula for judgment of intrathecally produced IgG in the presence of blood brain barrier damage. *Clin. Chim. Acta* 1989, 181, 265.
15. Reiber H., Lange P.: Quantification of virus-specific antibodies in cerebrospinal fluid and serum: sensitive and specific detection of antibody synthesis in brain. *Clin. Chem.* 1991, 7, 1153.
16. Reiber H.: The discrimination between different blood-CSF barrier dysfunctions and inflammatory reactions of the CNS by a recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid. *J. Neurol.* 1980, 224, 89.
17. Schüller E., Sagar H.J.: Local synthesis of CSF immunoglobulins. A neuroimmunological classification. *J. Neurol. Sci.* 1981, 49, 99.
18. Sindic C.J.M., Monteyne Ph., Laterre E.C.: The intrathecal synthesis of virus-specific oligoclonal IgG in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 1994, 54, 75.
19. Thompson E.J.: Cerebrospinal fluid. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 1995, 59, 349.
20. Thompson E.J.: Laboratory diagnosis of multiple sclerosis: immunological and biochemical aspects. *Br. Med. Bull.* 1977, 33, 28.
21. Thompson E.J.: The CSF proteins: A biochemical approach. Elsevier, Amsterdam 1988.
22. Tibbling G., Link H., Öhman S.: Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. Part I. Establishment of reference values. *Scan. J. Clin. Invest.* 1977, 37, 385.
23. Tourtellotte W.W., Booe I.: Multiple sclerosis: the blood-brain-barrier and the measurement of de novo central nervous system IgG synthesis. *Neurology* 1978, 28, 76.
24. Wekerle H.: Immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Acta Neurol.* 1991, 13, 197.

*Adres: Dr Jacek Zaborski, II Klinika Neurologiczna IPiN,
Al. Sobieskiego 1/9, 02-957 Warszawa*