

BƯỚC ĐẦU XÂY DỰNG QUY TRÌNH XÁC ĐỊNH CHUỖI NHẹ TỰ DO KAPPA VÀ LAMDA TRONG HUYẾT TƯƠNG VÀ DỊCH NÃO TỦY CỦA BỆNH NHÂN VIÊM NÃO TỰ MIỄN

Bùi Phương Thảo^{1,2}, Lê Lan Phương¹, Nguyễn Thị Tú Linh^{1,2}, Phạm Đức Toàn¹, Dương Đức Tùng¹, Lê Thị Thanh Nhân², Phạm Văn Anh³ và Trịnh Hồng Thái^{1,2,*}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nhằm đánh giá khả năng xác định chuỗi nhẹ tự do trong bệnh viêm não tự miễn, nghiên cứu đã sử dụng phương pháp thẩm tách miễn dịch để phân tích chuỗi nhẹ tự do kappa và lamda trong dịch não tủy và huyết tương của bệnh nhân. **Đối tượng nghiên cứu:** gồm 9 cặp mẫu huyết tương và dịch não tủy của 9 bệnh nhân được chẩn đoán viêm não tự miễn do Bệnh viện Nhi Trung ương cung cấp. **Phương pháp nghiên cứu:** Albumin và IgG được phân đoạn bằng sắc ký ái lực, và được phân tách bằng điện di 2 chiều. Chuỗi nhẹ tự do kappa và lamda được xác định bằng phương pháp thẩm tách miễn dịch, sau đó được định lượng bằng phần mềm ImageJ. **Kết quả:** Albumin và IgG là 2 thành phần chủ yếu của huyết tương, chúng gồm nhiều dạng isotype được phân tách thành các dải spot trên bản gel điện di 2 chiều. Chuỗi nhẹ tự do kappa biểu hiện rõ rệt trong tất cả 9 mẫu dịch não tủy và huyết tương. Không thấy xuất hiện chuỗi nhẹ tự do lamda trong dịch não tủy của bệnh nhân. **Kết luận:** Chuỗi nhẹ tự do kappa biểu hiện mạnh trong mẫu dịch não tủy và thứ hai, phương pháp thẩm tách miễn dịch là phương pháp tiềm năng có thể được phát triển để sử dụng trong xét nghiệm hỗ trợ chẩn đoán bệnh viêm não tự miễn.

Từ khóa: Chuỗi nhẹ tự do, bệnh viêm não tự miễn, đa xơ cứng, dịch não tủy

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm não tự miễn là bệnh xảy ra do những rối loạn tại hệ thần kinh trung ương khi hệ miễn dịch của người bệnh xem chính các thành phần của cơ thể tại khu vực này là các kháng nguyên lạ và tấn công chúng [11]. Các dạng bệnh thường gặp của viêm não tự miễn bao gồm: đa xơ cứng, viêm não tủy rải rác cấp tính và viêm tủy thị thần kinh [10] [13]. Biểu hiện lâm sàng của bệnh thần kinh tự miễn rất đa dạng, còn chưa được hiểu biết đầy đủ và

dễ nhầm lẫn với nhau, do đó gây khó khăn cho công tác chẩn đoán bệnh. Tuy nhiên, những nghiên cứu về các chỉ thị phân tử của bệnh viêm não tự miễn còn khá ít. Các nghiên cứu gần đây về bệnh lý này đang tập trung sự chú ý đến chuỗi nhẹ tự do IgG [7].

Trong quá trình sản xuất các globulin miễn dịch, cơ thể người tạo ra chuỗi nhẹ tự do Ig (FLC) nhưng với hàm lượng rất thấp ở điều kiện sinh lý bình thường [1]. FLC tồn tại dưới dạng hai isotype, kappa (κ) hoặc lambda (λ) và cả κ và λ FLC đều được tìm thấy trong các dịch cơ thể khác nhau, bao gồm huyết thanh/huyết tương và dịch não tủy (CSF), ở hai dạng chính, monomer (22–27 kDa) và dimer, (44–55 kDa) [6]. Ở người bình thường, nồng độ các chuỗi nhẹ tự do trong huyết tương/huyết thanh (sFLC) được ổn định do sự cân bằng giữa 2 quá trình tổng hợp và chuyển hóa. Tuy nhiên, trong các

¹Khoa sinh học, Trường ĐHKHTN - ĐHQGHN

²Phòng TN Trọng điểm Công nghệ Enzyme và Protein, Trường ĐHKHTN-ĐHQGHN

³Khoa Thần Kinh, Bệnh viện Nhi Trung ương

Tác giả chịu trách nhiệm khoa học:

Bùi Phương Thảo

Tác giả liên hệ chính: **Trịnh Hồng Thái**

Email: thaith@vnu.edu.vn

Ngày tiếp nhận: 28/02/2022

Ngày phản biện: 31/03/2022

Ngày chấp nhận đăng: 30/06/2022

điều kiện bệnh lý, hàm lượng FLC tổng hợp có thể cao bất thường.

Các nghiên cứu đã chỉ ra tình trạng bất thường của FLC trong một số trường hợp bệnh lý có liên quan đến tăng sinh tế bào plasma như trong bệnh đa u tủy xương (Multiple Myeloma, MM) [9]. sFLC là một chỉ thị có thời gian bán hủy nhanh, với chuỗi kappa khoảng 2-4 giờ, chuỗi lamda khoảng 3-6 giờ, nên xét nghiệm này cho phép đánh giá hiệu quả của điều trị từ rất sớm [12]. FLC có thể định lượng được với nồng độ rất thấp, nên có thể phát hiện sớm sự tái phát của bệnh. Xét nghiệm này cũng cho phép xác định giai đoạn bệnh và là chỉ số tiên lượng sự tiến triển của bệnh MM [5]. Đối với viêm não tự miễn, nhiều nghiên cứu thực hiện với mẫu bệnh nhân đa xơ cứng (MS) đã chứng minh chuỗi nhẹ kappa tự do tăng cao trong dịch não tủy của bệnh nhân MS và chỉ ra giá trị chẩn đoán tiềm năng của chuỗi nhẹ tự do (FLC) trong dịch não tủy có thể hỗ trợ chẩn đoán MS [7].

Trước tiên nhằm hỗ trợ chuẩn đoán của chuỗi nhẹ tự do kappa và lamda trong bệnh viêm não tự miễn, nghiên cứu này nhằm mục đích bước đầu xây dựng quy trình xác định được chuỗi nhẹ tự do kappa và lamda trong mẫu huyết tương và dịch não tủy của các bệnh nhân được chuẩn đoán mắc bệnh viêm não tự miễn và từ đó làm cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm phát triển xét nghiệm chuỗi nhẹ tự do giúp hỗ trợ chẩn đoán bệnh.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Mẫu nghiên cứu bao gồm 09 cặp mẫu huyết tương và dịch não tủy được chẩn đoán mắc bệnh viêm não tự miễn được cung cấp bởi Bệnh viện Nhi Trung ương. Mẫu có các thông tin của bệnh nhân như tuổi, giới tính, mô tả biểu hiện lâm sàng và chuẩn đoán của bác sĩ với sự chấp thuận cho mẫu từ bệnh nhân.

2.2. Thu IgG sử dụng cột sắc ký ái lực

Mẫu huyết tương được xử lý bằng ProteoPrep® Immunoaffinity Albumin and IgG Depletion Kit (Sigma Aldrich, Mỹ) để thu hai protein có hàm lượng cao nhất trong huyết tương là Albumin và IgG.

2.3. Điện di 2 chiều (2-DE)

Trước tiên, hàm lượng protein có trong mẫu huyết tương trước và sau khi qua cột ProteoPrep® Immunoaffinity Albumin and IgG được định lượng bằng phương pháp Bradford. Sau đó, 100 µg protein sẽ được tính toán để trộn với đệm lysis (6M Urea, 2M Thiourea, glycerol, DTT và 2 µl Bio-lyte) với tổng thể tích cố định 125 µl trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng trước khi được ủ với thanh strip gradient pH 3-10 (IPG strip), chiều dài 7 cm (Biorad, Mỹ) trong vòng 3 giờ tiếp theo trên khay tương gel. Điện di đẳng điện chiều một được thực hiện trên hệ thống Protean IEF cell (Biorad – Mỹ).

Chiều thứ hai của điện di hai chiều được tiến hành trên gel polyacrylamide 10% có SDS, trong đó phần gel cô được thay thế bằng agarose low melting 5% chứa 0.1% bromophenol blue.

2.4. Thẩm tách miễn dịch (Western blot)

Các mẫu huyết tương và dịch não tủy được điện di trên gel SDS-PAGE sử dụng kit TGX Stain-Free™ FastCast™ (Biorad - Mỹ).

Đối với mẫu dịch não tủy, mẫu được trộn với đệm SB 5X không DTT (15% SDS, 312,5 mmol/l Tris-HCl, 10 mmol Na₂EDTA, và 0,5 mol / l sucrose, pH 6,9) theo tỷ lệ 10 µl mẫu và 5 µl đệm SB 5X. Với mẫu huyết tương, mẫu sẽ được pha loãng 80 lần với NaCl 0,9%, sau đó 1 µl mẫu sau pha loãng sẽ được trộn với 1 µl đệm SB 5X không DTT hoặc có DTT. Sau khi điện di, protein được chuyển lên màng nitrocellulose bằng hệ thống Turbo Trans Blot (Biorad, Mỹ). Sau đó, màng được ủ qua đêm với kháng thể bậc một kháng lại chuỗi nhẹ κ và λ (Santa Cruz Biotechnology, Mỹ) ở 4°C với tỉ lệ 1:200.

Sau khi rửa, màng tiếp tục được ủ với kháng thể bậc hai cộng hợp với HRP (Horseradish Peroxidase) với tỉ lệ 1:10000 trong 1 giờ.

Tiếp theo, 3 ml cơ chất A và 3 ml cơ chất B (Clarity™ Western ECL Substrate, Biorad, Mỹ) được nhỏ lên màng sao cho cơ chất dàn đều bề mặt màng để khuếch đại tín hiệu của phản ứng. Tín hiệu huỳnh quang sau đó được ghi lại bằng máy ChemiDoc (Biorad- Mỹ).

2.5. Phân tích hình ảnh bản gel điện di bằng phần mềm Image J

Trong nghiên cứu, phần mềm Image J được sử dụng để phân tích hình ảnh bản

gel Western Blot dưới dạng 8-bit. Phần mềm giúp định lượng các băng thông qua xác định mật độ (densitometry) điểm ảnh (pixel) của băng làm cơ sở để định lượng.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thành phần protein trong huyết tương và dịch não tủy của bệnh nhân

Hàm lượng protein của huyết tương và dịch não tủy trong các mẫu bệnh được xác định bằng phương pháp Bradford. Kết quả cho thấy nồng độ protein của các mẫu huyết tương khá tương đồng nhau (bảng 1). Trong khi đó, với dịch não tủy, một số mẫu bệnh có hàm lượng protein rất thấp.

Bảng 1. Kết quả định lượng protein trong các cặp mẫu dịch não tủy và huyết tương của bệnh nhân viêm não tự miễn

STT	Mẫu	Nồng độ protein (mg/ml)	
		Dịch não tủy	Huyết tương
1	T. T. M.	0.044	4.044
2	N. V. T.	0.58	3.951
3	T. Đ. T.	0.798	3.604
4	L. Q. M.	0.666	3.472
5	N. V. H.	2.999	3.966
6	N. T. T. H.	0.637	3.704
7	N. H. Y.	0.766	3.375
8	P. V. H.	0.719	4.019
9	V. T. G.	1.217	3.873

3.2. Tách albumin, IgG bằng sắc ký ái lực

Albumin và IgG được phân tách khỏi các protein của huyết tương sử dụng sắc ký ái lực. Hiệu quả tách albumin và IgG được đánh giá thông qua điện di 2 chiều (2-DE). Mẫu huyết tương của người bệnh trước và sau khi loại Albumin, IgG được điện di hai chiều và đánh giá kết quả.

Khi điện di 2-DE mẫu huyết tương sử dụng thanh gel IPG strip pH 3-10, 7cm để phân tách protein (Hình 1A, B), kết quả điện di cho thấy các protein đã được phân tách tốt. So sánh với bản gel 2-DE tham chiếu từ cơ sở dữ liệu Expasy, có sự xuất hiện của các dải spot trong hình 1A tại vị

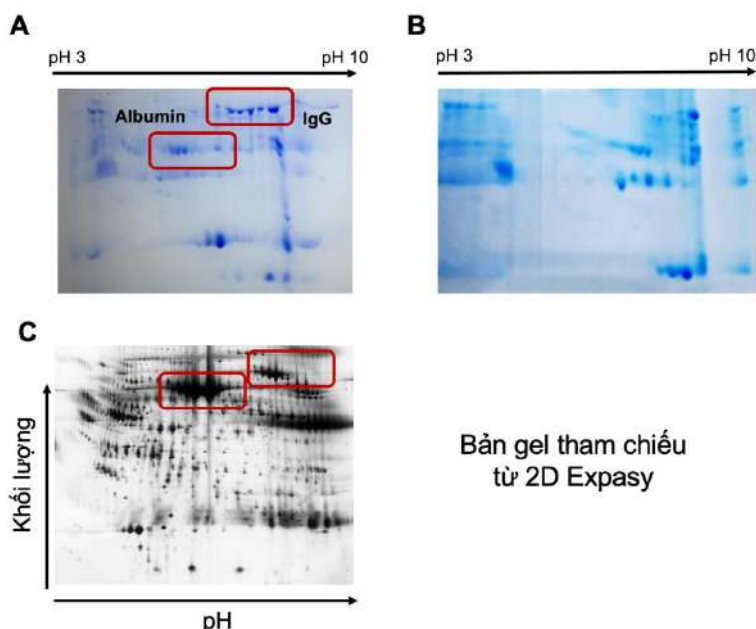
trí tương ứng với khối lượng phân tử của albumin và IgG. Các dải spot này biến mất ở hình 1B, chứng tỏ, albumin, IgG đã được thu lại hiệu quả trên cột.

3.3. Xác định chuỗi nhẹ kappa và lamda trong huyết tương và dịch não tủy của bệnh nhân viêm não tự miễn

Để xác định sự có mặt của chuỗi nhẹ kappa tự do trong mẫu huyết tương và dịch não tủy, Western blot được thực hiện trên các cặp mẫu huyết tương và dịch não tủy của bệnh nhân được nghi ngờ mắc bệnh thần kinh tự miễn, sử dụng kháng thể kháng chuỗi nhẹ kappa. Kết quả Western blot trên hình 2 cho thấy xuất hiện các

băng ở các giếng chứng tỏ đã xảy ra phản ứng đặc hiệu của kháng thể kháng chuỗi nhẹ tự do kappa trong dịch não tủy (hình 2A) và huyết tương (hình 2B). Các băng xuất hiện đặc hiệu, không có dấu hiệu của các băng ở các vị trí khác, và các băng

xuất hiện đồng đều giữa các mẫu chứng tỏ phản ứng xảy ra đặc hiệu. Vị trí các băng cho thấy đây là các kappa dimer với khối lượng phân tử khoảng 44-55 kDa, phù hợp với khối lượng phân tử lý thuyết của phân tử này.

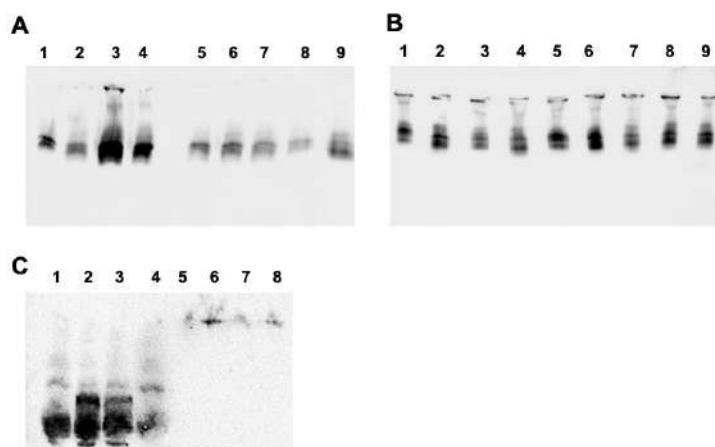


Hình 1. Hình ảnh phân tách albumin và IgG trên bản gel điện di 2 chiều. **A.** Huyết tương tổng số. **B.** Huyết tương sau khi đã loại Albumin và IgG. **C.** Bản gel tham chiếu từ cơ sở dữ liệu Expasy.

3.3.1. Chuỗi nhẹ tự do kappa

Kết quả bán định lượng xác định hàm lượng chuỗi nhẹ tự do trong các mẫu (bảng 2) sử dụng ImageJ cho thấy sự tồn tại của 3 băng khác nhau. Trong đó, băng

1 chiếm ưu thế trong dịch não tủy của bệnh nhân N.T.T.H. và trong huyết tương của bệnh nhân N.V.H.; băng 2 và băng 3 cao nhất thuộc DNT của bệnh nhân T.Đ.T. và huyết tương của bệnh nhân N.T.T.H.



Hình 2. Hình ảnh Western blot xác định sự có mặt của chuỗi nhẹ kappa trong dịch não tủy (A), huyết tương (B), và chuỗi nhẹ lamda trong huyết tương (C) của bệnh nhân. G1- G4: Mẫu được xử lý với đệm SB 5X có DTT. G5- G8: Mẫu được xử lý với đệm SB 5X không DTT.

Bảng 2. Kết quả định lượng các băng chuỗi nhẹ tự do kappa sử dụng ImageJ

TT	Mẫu	Dịch não tủy (pixel)			Huyết tương (pixel)		
		Băng 1	Băng 2	Băng 3	Băng 1	Băng 2	Băng 3
1	T. T. M.	501.607	4.692.406	5.552.255	4.641.740	13.804.066	6.269.933
2	N. V. T.	941.749	4.308.820	6.080.154	6.357.660	14.742.966	14.531.196
3	T. Đ. T.	2.341.033	12.656.43	24.883.853	3.123.548	7.000.125	9.365.539
4	L. Q. M.	2.537.083	10.287.477	9.983.740	3.299.004	8.453.681	14.892.459
5	N. V. H.	6.051.740	7.119.296	2.865.075	17.135.953	7.119.296	11.787.075
6	N.T.T.H.	6.251.912	21.818.945	4.973.832	4.051.075	21.818.945	17.179.761
7	N. H. Y.	4.620.255	6.957.681	4.218.125	4.680.347	6.957.681	13.000.874
8	P. V. H.	2.924.255	9.311.007	1.726.447	4.577.397	9.311.007	2.772.912
9	V. T. G.	190.364	3.603.335	4.785.639	4.690.125	10.391.619	15.519.246

3.3.2. Chuỗi nhẹ tự do lamda

Với chuỗi nhẹ lamda, Western blot chỉ được thực hiện trên mẫu huyết tương

và trong trường hợp mẫu được xử lý với đệm mẫu có và không có DTT (theo hình 2C).

Bảng 3. Kết quả định lượng các băng chuỗi nhẹ tự do lamda sử dụng ImageJ

Băng (pixel)	Mẫu huyết tương của bệnh nhân							
	T. Đ. T.	N. V. H.	N. T. T.H.	V. T. G.	T. Đ. T.	N. V. H.	N. T. T.H.	V. T. G.
1	-	-	-	-	4.092.346	9.022.684	3.185.296	3.082.347
2	4.123.803	15.454.735	7.718.765	11.294.329				
3	27.298.430	36.954.693	34.566.522	14.789.338				

Trong giếng G1- G4 (hình 2C), các mẫu được xử lý với đệm SB 5X có DTT, tín hiệu của giếng G1- G4 khá mạnh, các băng đậm hơn và có kích thước khoảng 20- 25 kDa tương ứng với kích thước của chuỗi nhẹ lamda tự do dạng monome. Tuy nhiên, ở G5-G8, các mẫu được xử lý với đệm SB 5X không có DTT cho kết quả với băng khá mờ, tín hiệu yếu, kích thước lớn hơn, tương ứng với dạng dimer 44-45

kDa. Kết quả bán định lượng (bảng 3) cho thấy mật độ tín hiệu của G5-G8 thấp và chỉ bằng khoảng 1/10 so với G1-G4. Tuy nhiên, độ đặc hiệu của tín hiệu cao, không có các băng vạch tín hiệu khác xuất hiện.

4. BÀN LUẬN

Thông qua thẩm tách miễn dịch, các nghiên cứu khác đã khẳng định sự tăng biểu hiện của các chuỗi nhẹ tự do kappa

và lamda trong dịch não tủy so với huyết tương của bệnh nhân đa xơ cứng [9] [4], một số nghiên cứu đã tập trung vào việc phân tích những biến đổi trong tỷ lệ FLC dạng monomer và dimer trong các tình trạng bệnh lý và từ đó cho kết quả chẩn đoán chính xác hơn [6]. Một số nghiên cứu đã đề xuất định lượng FLC như một giải pháp thay thế cho phân tích dải oligoclonal (OCB) [3], họ đã đề xuất một phân tích kết hợp của κ và λ -FLC để làm tăng độ chính xác của xét nghiệm phát hiện MS. Đến năm 2011, Kaplan và cộng sự đã phát triển một phương pháp chẩn đoán dựa trên định lượng sau western blot các monome κ - và λ -FLC trong dịch não tủy và huyết thanh của bệnh nhân và cho thấy nó có độ đặc hiệu và độ nhạy cao hơn để phát hiện bệnh. Bên cạnh thẩm tách miễn dịch, các xét nghiệm đo độ đục (nephelometric) FLC cũng được sử dụng trong việc xác định sự có mặt của các chuỗi nhẹ tự do [2] cho phép ước tính tổng lượng các dạng FLC khác nhau bao gồm các monomer, dimer và phân tử liên kết với chúng [8].

Trên thực tế, chúng ta hiện nay biết rất ít về các mô hình đơn phân FLC trong dịch não tủy và vai trò của chúng trong tiến triển của bệnh đa xơ cứng nói riêng và các bệnh viêm não tự miễn nói chung. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mức độ cao bất thường của dimer FLC- κ ở một số bệnh nhân; phát hiện này đã được xem xét khi lựa chọn các dấu hiệu hữu ích về mặt chẩn đoán cho MS. Đáng chú ý, những bất thường về tính chất dimer hóa của các FLC đã được chứng minh trong dịch não tủy của bệnh nhân viêm não xơ cứng bán cấp. Do đó, có thể sự biến đổi FLC bất thường trong MS thể hiện một đặc điểm bệnh lý quan trọng liên quan đến bệnh cần được điều tra cẩn thận hơn. Việc tín hiệu của lamda thấp hơn đáng kể so với kappa trong mẫu huyết tương và gần như không quan sát được trong các mẫu dịch não tủy có thể do thông thường các tế bào plasma

sản xuất kappa nhiều hơn so với lamda.

Các bước phân tích FLC được trình bày ở đây có thể dùng làm cơ sở để tiếp tục nghiên cứu phát triển xét nghiệm chẩn đoán mới cho MS. Trên thực tế, phương pháp được mô tả không tốn kém, không cần thiết bị đặc biệt và có thể được áp dụng trong các phòng thí nghiệm lâm sàng, sử dụng phần mềm IMAGEJ miễn phí để phân tích kết quả. Tuy nhiên, mẫu đối chứng là một thách thức vì các nghiên cứu chỉ ra rằng mức FLC trong dịch não tủy của nhóm người khỏe mạnh quá thấp, do đó trong một số trường hợp không thể xác định được. Nghiên cứu cần thực hiện trên cỡ mẫu lớn hơn với số lượng bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh MS và bệnh nhân mắc các bệnh thần kinh tự miễn khác để chứng tỏ có thể sử dụng FLC có ý nghĩa trong chẩn đoán bệnh.

Mặc dù cỡ mẫu còn khá nhỏ, tuy nhiên kết quả thẩm tách miễn dịch cho thấy sự đồng bộ và có giá trị lặp lại cho tất cả các mẫu bệnh, do đó phương pháp có thể được phát triển để trở thành quy trình xét nghiệm nhằm hỗ trợ chuẩn đoán cho bệnh viêm não tự miễn.

5. KẾT LUẬN

Kết quả bước đầu cho thấy sử dụng phương pháp thẩm tách miễn dịch, lần đầu tiên ở Việt Nam, chuỗi nhẹ tự do kappa, lamda được xác định trong cả huyết tương và dịch não tủy của bệnh nhân viêm não tự miễn.

Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn các bệnh nhân đã tự nguyện cho mẫu nghiên cứu, các y bác sĩ của Bệnh viện Nhi Trung ương đã hỗ trợ lấy mẫu. Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí từ đề tài TN.21.11 – Đại học Khoa học tự nhiên – Đại học quốc gia Hà Nội. Bên cạnh đó, chúng tôi xin gửi lời cảm ơn đến Thạc sĩ Hoàng Ngọc Anh, Viện vệ sinh dịch tễ, với những đóng góp cho phần phân tích ImageJ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bradwell AR, Carr-Smith HD, et al (2003).** Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet*, 361(9356), 489–491.
2. **Fischer C, Arneth B, Koehler J, et al (2004).** Kappa free light chains in cerebrospinal fluid as markers of intrathecal immunoglobulin synthesis. *Clin. Chem*, 50(10), 1809–1813.
3. **Haertle M, Kallweit U, Weller M, et al (2014).** The presence of oligoclonal IgG bands in human CSF during the course of neurological diseases. *J. Neurol*, 261(3), 554–560.
4. **Kaplan B, Aizenbud BM, Golderman S, et al. (2010).** Free light chain monomers in the diagnosis of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 229(1-2): 263–271
5. **Hillengass J, Usmani S, Rajkumar SV et al. (2019).** International myeloma working group consensus recommendations on imaging in monoclonal plasma cell disorders,” *Lancet Oncol*, 20(6), e302–e312.
6. **Kaplan B, Golderman S, Yahalom G, et al (2013).** Free light chain monomer-dimer patterns in the diagnosis of MS .*J. Immunol. Methods*, 390 (1–2), 74–80, 2013.
7. **Leurs CE, Twaalfhoven H, Lissenberg - Witte BI, et al (2020).** Kappa free light chains is a valid tool in the diagnostics of MS: A large multicenter study. *Mult. Scler. J*, 26(8), 912–923.
8. **Menéndez-Valladares P, García-Sánchez MI, Cuadri Benítez P, et al (2015).** Free kappa light chains in cerebrospinal fluid as a biomarker to assess risk conversion to multiple sclerosis. *Mult. Scler. J. Clin*, 1(1–9).
9. **Mygland A, Trydal T, Vinje BU, et al (2007).** Isoelectric focusing is superior to immunofixation electrophoresis in diagnosing CNS inflammation. *Acta Neurol. Scand*, 115(2), 122–125.
10. **Paliwal VK (2016).** Acute disseminated encephalomyelitis in children. *Neurol. India*, 64(6), 1193–1194.
11. **Wang L, Wang FS, Gershwin ME (2015).** Human autoimmune diseases: A comprehensive update. *J. Intern. Med*, 278(4), 369–395.
12. **Yap CYF, Wong PW, Aw TC (2011).** Free kappa and lambda light chains in plasma cell dyscrasias. *Proc. Singapore Healthc*, 20(1), 64–66.
13. **Zettl UK, Stüve O, Patejdl R, (2012).** Immune-mediated CNS diseases: A review on nosological classification and clinical features. *Autoimmun. Rev*, 11(3), 167–173.

SUMMARY

PRELIMINARY DETERMINATION OF KAPPA AND LAMDA FREE LIGHT CHAINS
IN PLASMA AND CEREBROSPINAL FLUID OF PATIENTS
WITH AUTOIMMUNE ENCEPHALITIS

Bui Phuong Thao^{1,2}, Le Lan Phuong², Pham Đức Toàn², Duong Duc Tung², Le Thi Thanh Nhan², Pham Van Anh³ và Trinh Hong Thai^{1,2}

¹Faculty of Biology, Hanoi University of Science, Vietnam National University

²The key Laboratory of Enzyme and Protein Technology, Hanoi University of Science,
Vietnam National University

³Neurology Department, Vietnam National Children's Hospital

Objectives: To evaluate the possibility to determine the presence of the free light chains (FLCs) in autoimmune encephalitis, the study utilize Western Blot to detect and semi-quantify the kappa and lamda free light chains in the cerebrospinal fluid and plasma of patients. **Subjects:** 9 pairs of plasma and cerebrospinal fluid samples from 9 patients diagnosed with autoimmune encephalitis provided by the National Children's Hospital. **Methods:** Albumin and IgG were fractionated by affinity chromatography and separated by 2-D electrophoresis. The kappa and lamda FLCs were determined by Western Blot, then quantified using ImageJ software. **Results:** Albumin and IgG are the two major components of plasma, they consist of many isotypes, separated as spots on 2D electrophoresis gel. The expression of kappa free light chain was obviously observed in all 9 CSF and plasma samples. None of lamda free light chains were recorded in the patient's CSF. **Conclusions:** The kappa free light chain is strongly expressed in CSF samples and Western Blot is a potential method that can be developed as an adjunct to the diagnosis of autoimmune encephalitis.

Keywords: Free light chains, autoimmune encephalitis, multiple sclerosis, cerebrospinal fluid.