



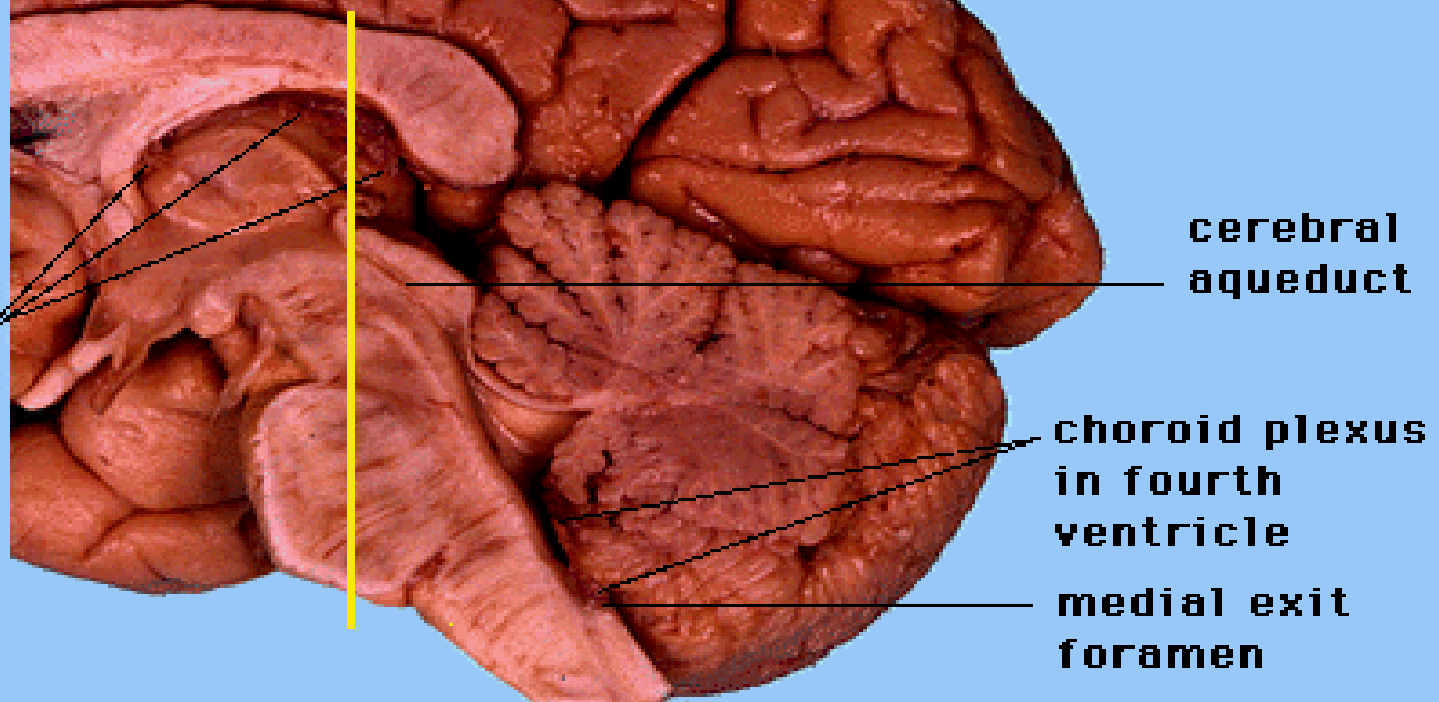
Vyšetření mozkomíšního moku

MUDr. Zdeňka Čermáková
MOU Brno

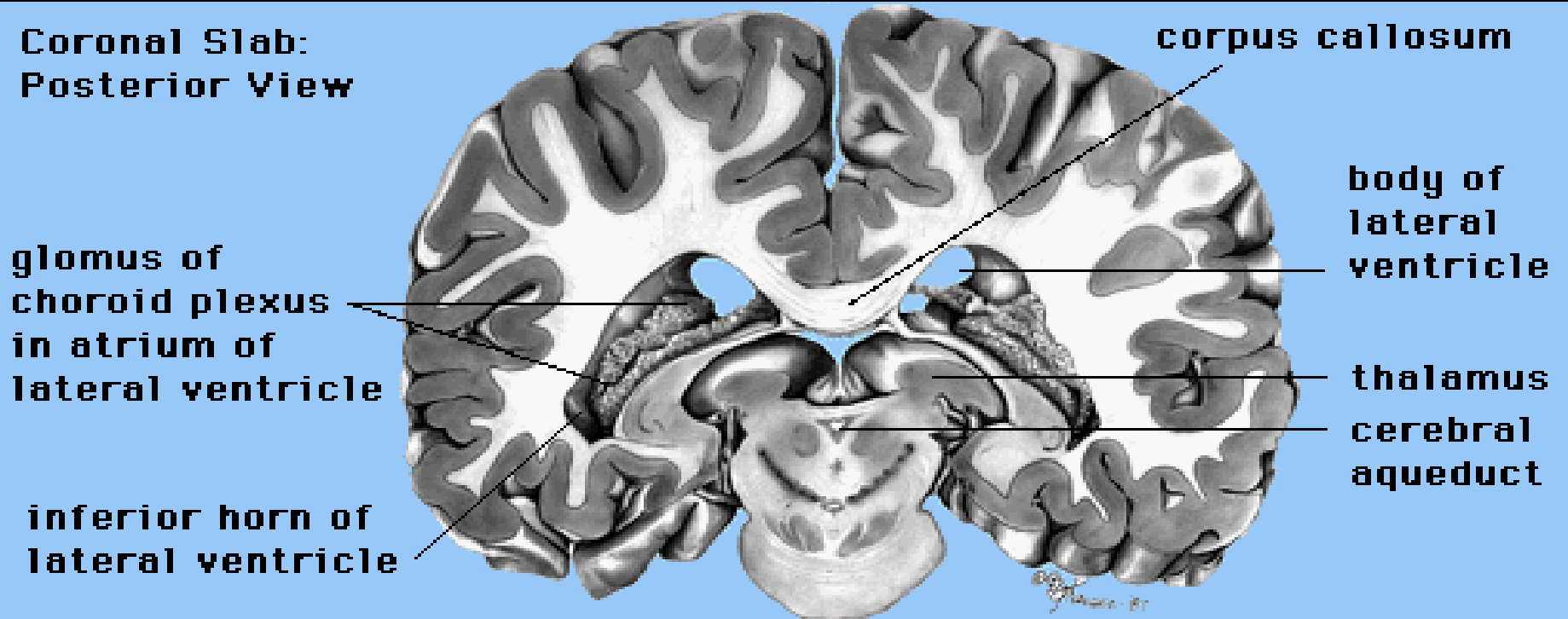
Anatomie a fyziologie

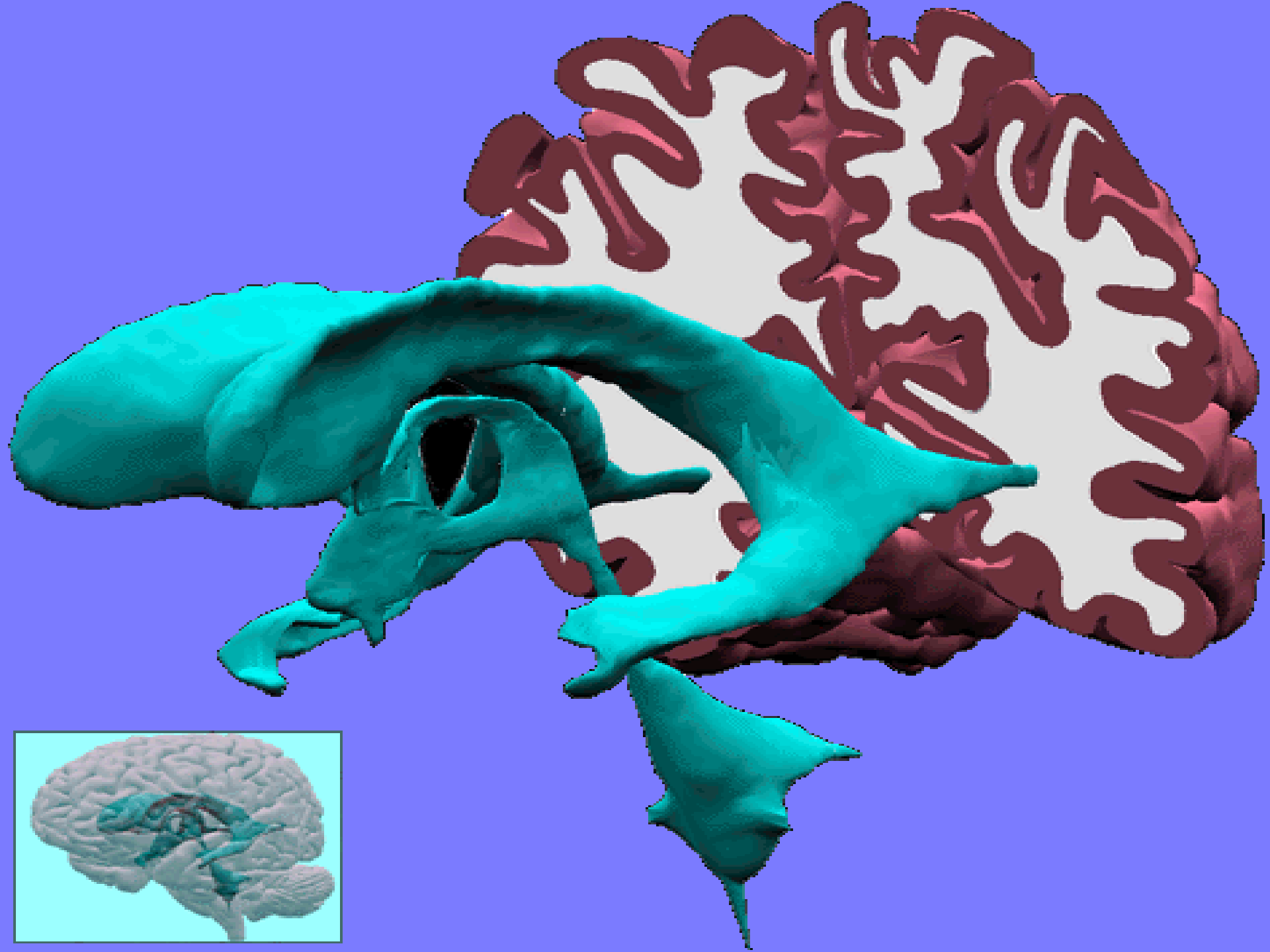
- Čirá bezbarvá tekutina
- Vyplňuje komorový systém mozku, subarachnoideální prostor mozku a míchy
- Tři membrány
 - Měkká plena mozková
 - Arachnoidea
 - Tvrdá plena mozková

**Specimen:
Sagittal View**



**Coronal Slab:
Posterior View**





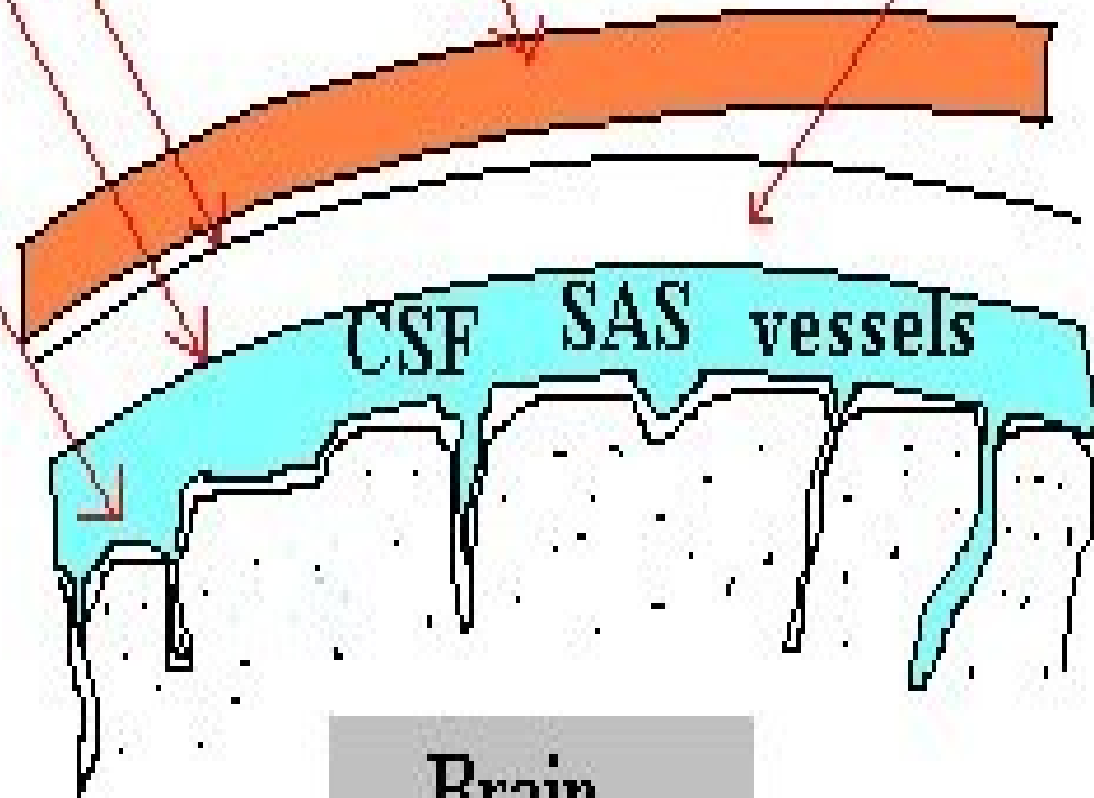
Dura

Skull bone

Subdural space

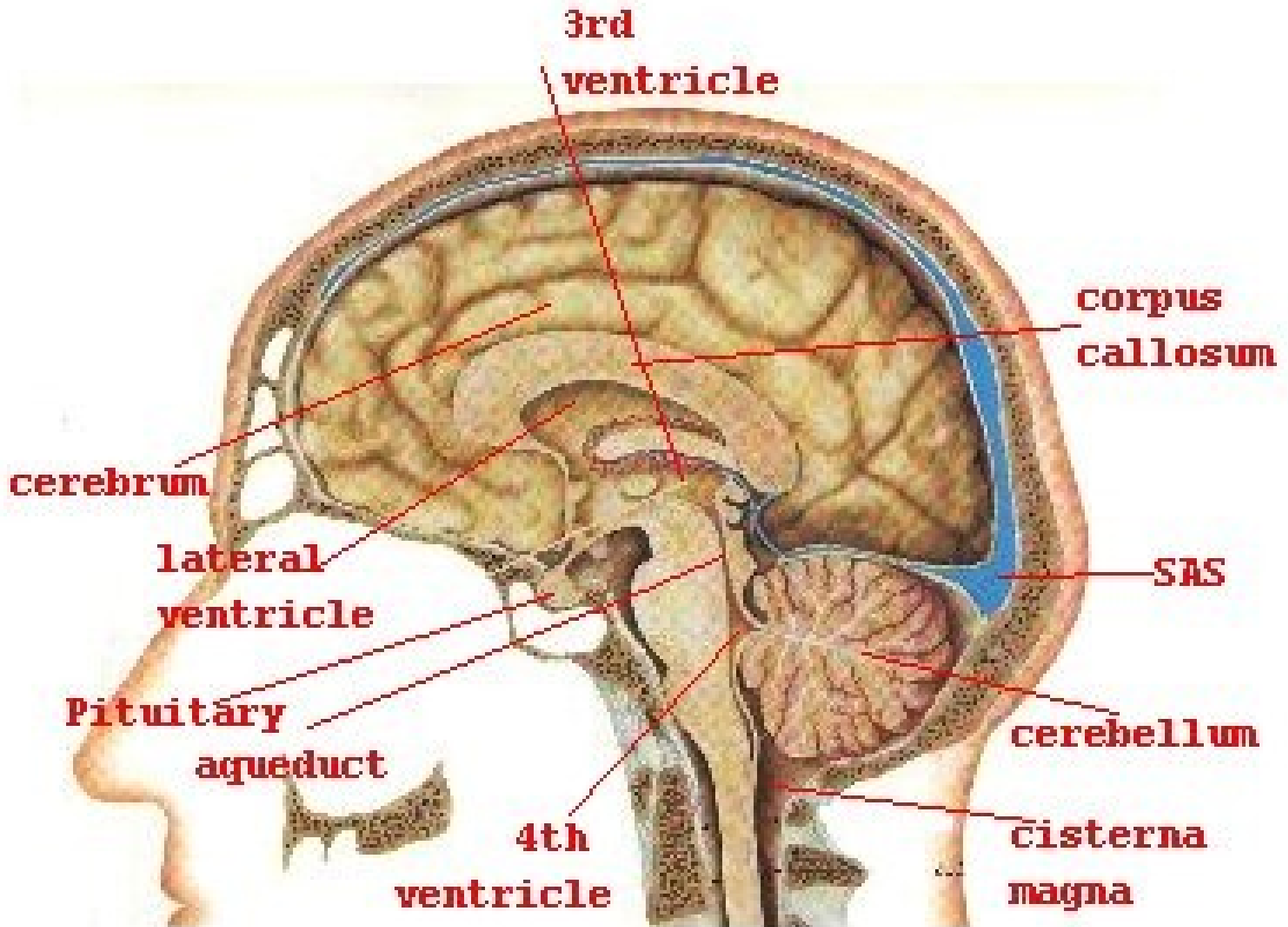
Arachnoid

Pia mater



CSF SAS vessels

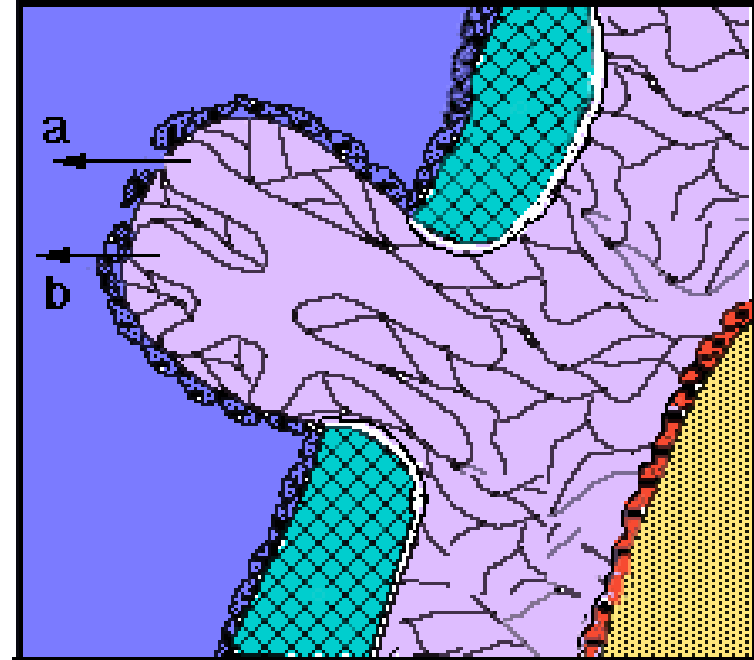
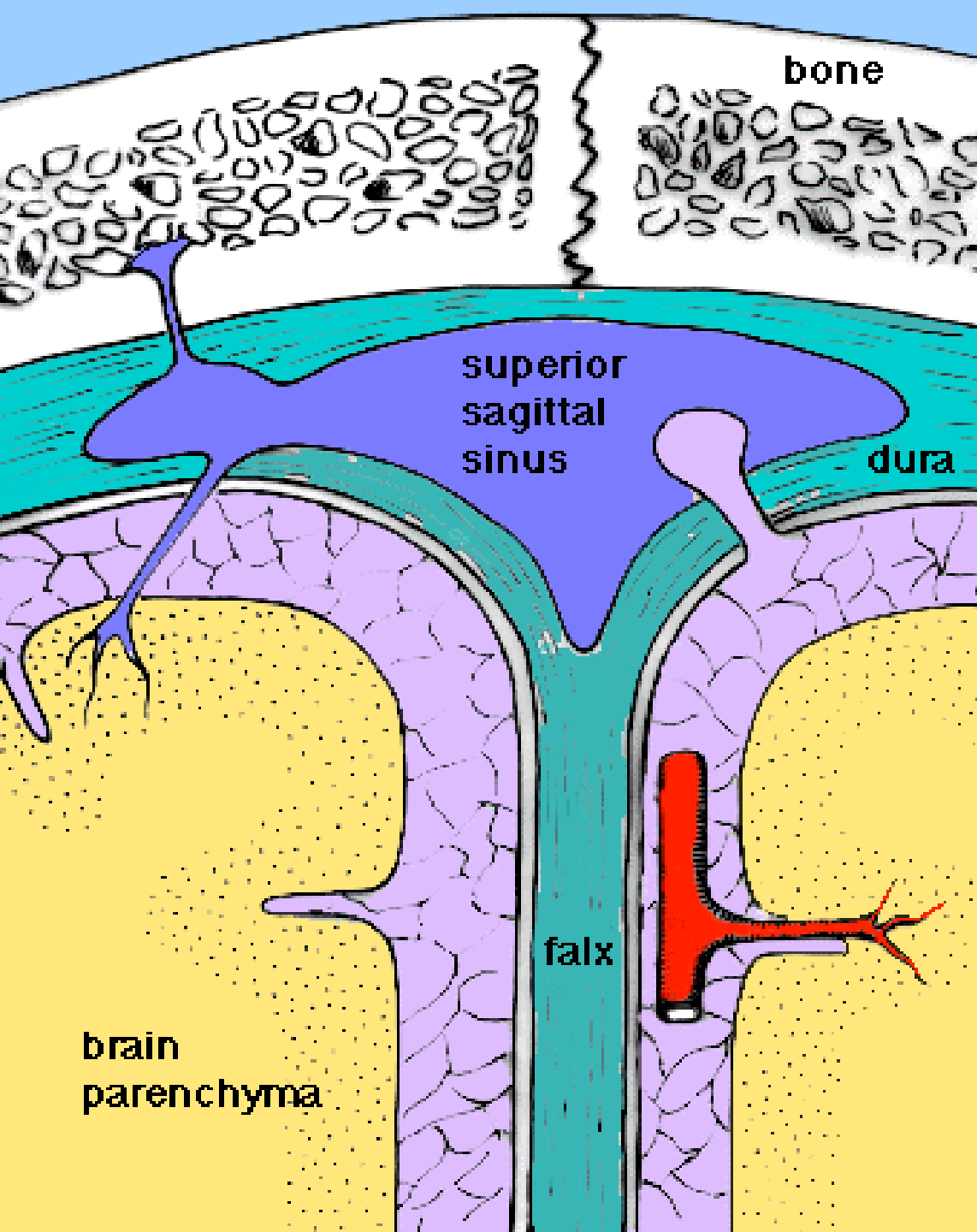
Brain



Tvorba likvoru

- Aktivní sekrece –chorioideální plexy
- Ultrafiltrace plazmy
- Přestup intersticiální tekutiny z mozkové tkáně

- Objem likvoru 150-180 ml
- Denní produkce 500-600 ml
- Resorpce do žilního a lymfatického systému



Above: arachnoid villus protruding into superior sagittal sinus

Left: superior sagittal sinus and falx in coronal section

Funkce

- Mechanická ochrana mozku a míchy
- Ochrana proti patogenům

- Příklad živin, hormonů
- Homeostáza

Bariéry

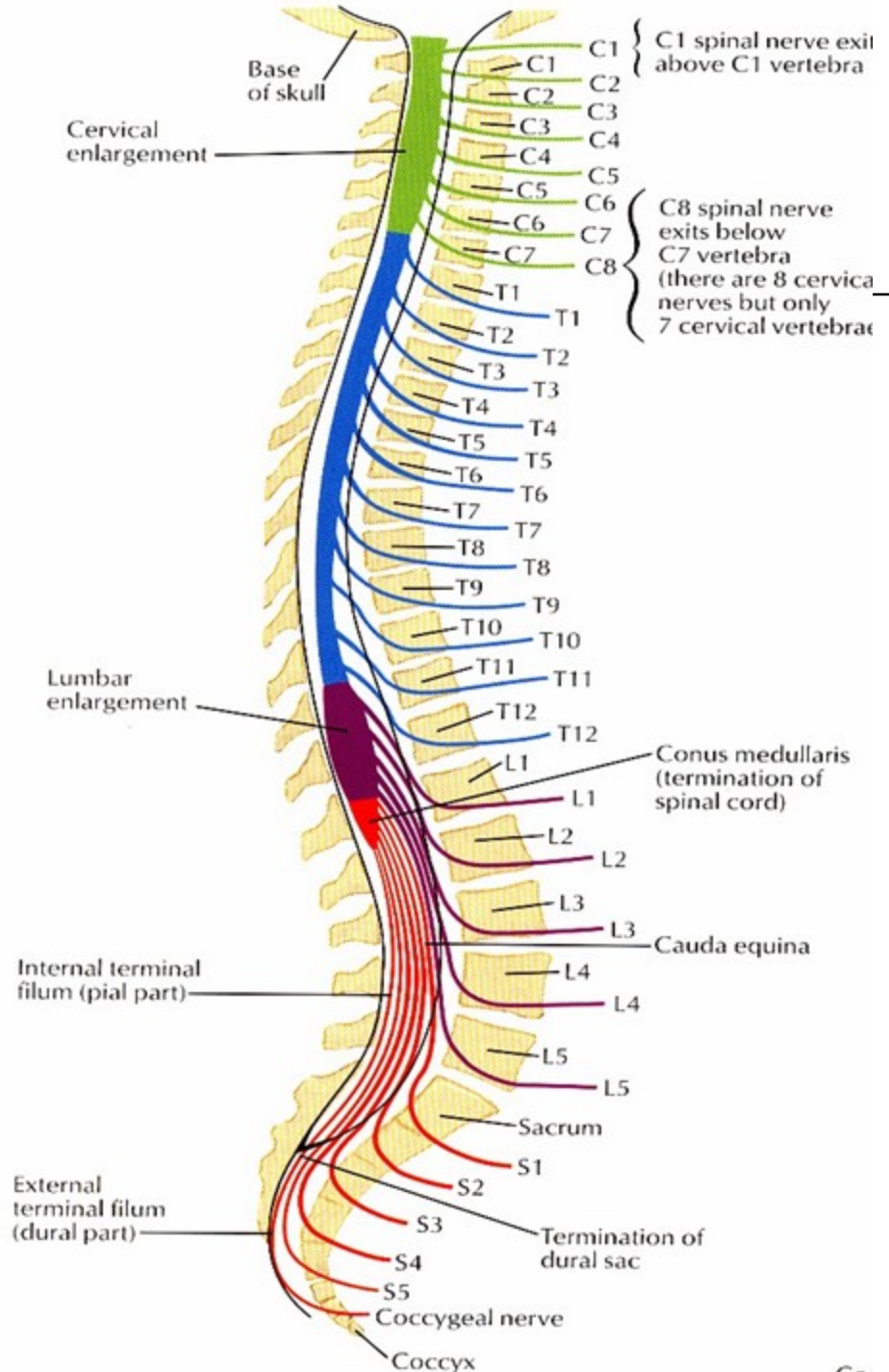
- Stálá výměna látek – plocha asi 9m²
 - krev – likvor
 - mozek – likvor
 - krev – mozek

- Mechanismy – mechanické, enzymatické (specifické přenašeče..)

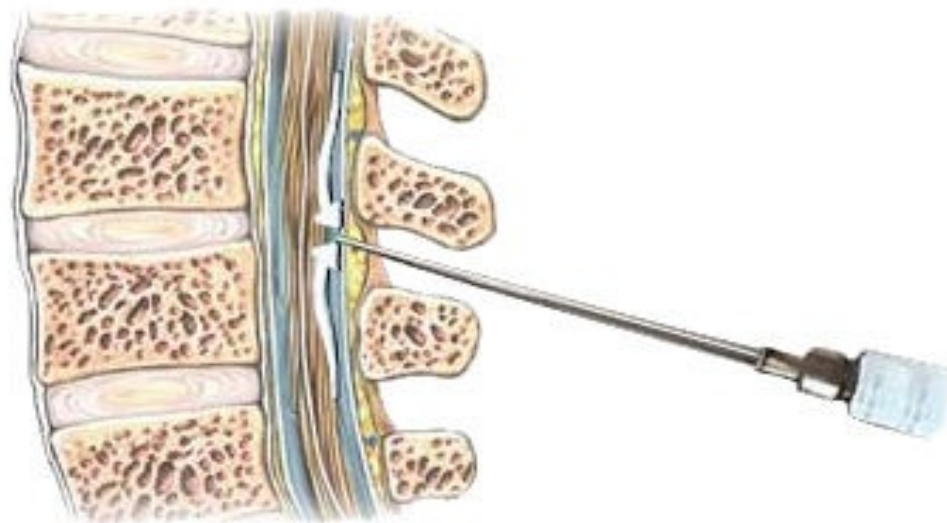
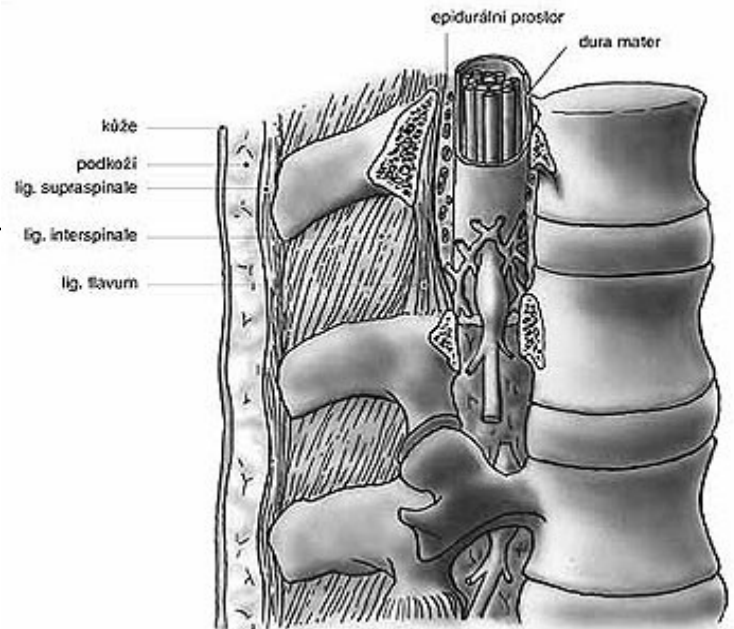
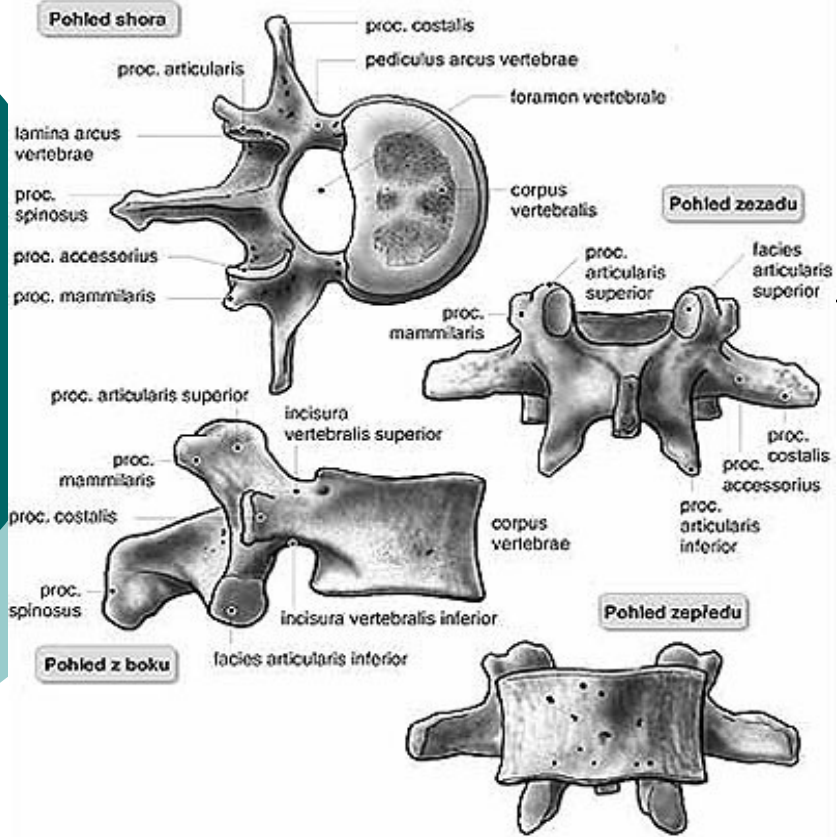
Odběr

- Lumbální punkce
- okcipitální, ventrikulární

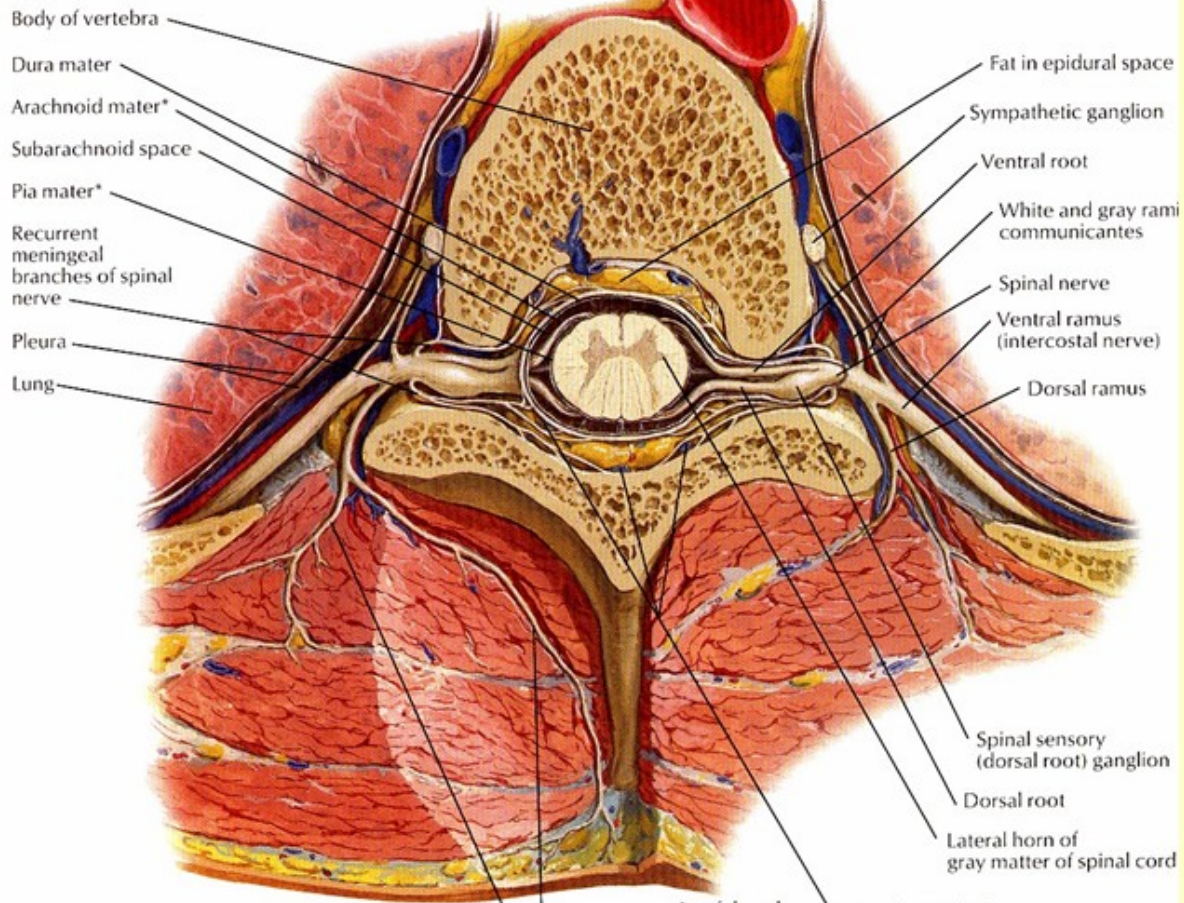
- Rychlé doručení do laboratoře
(do 1 hod. od odběru)
- Krvavý likvor (nutno stočit do 10 min.)



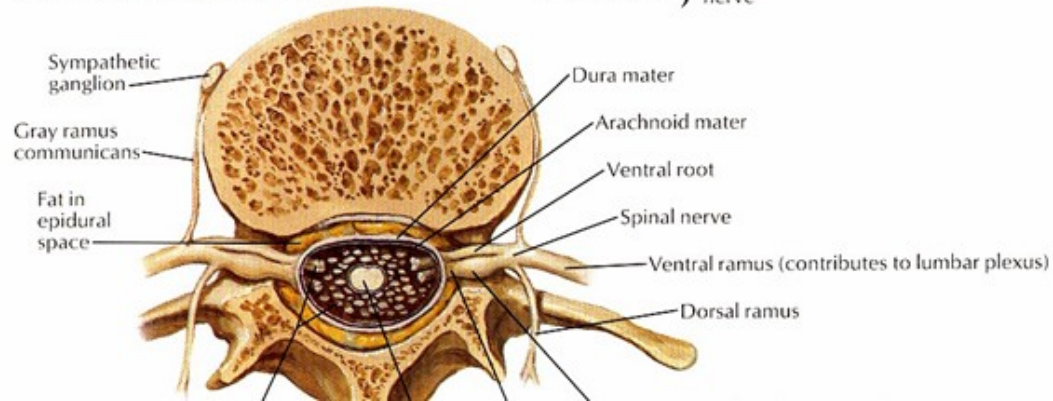




Section through thoracic vertebra



Section through lumbar vertebra



Komplikace lumbální punkce

- Suchá punkce – nesprávná poloha jehly, artrotické změny
- Traumatická lumbální punkce - poranění epidurální žilní pleteně, komplikace při vyšetření, může komplikovat stanovení diagnózy subarachnoideálního krvácení



Indikace odběru likvoru

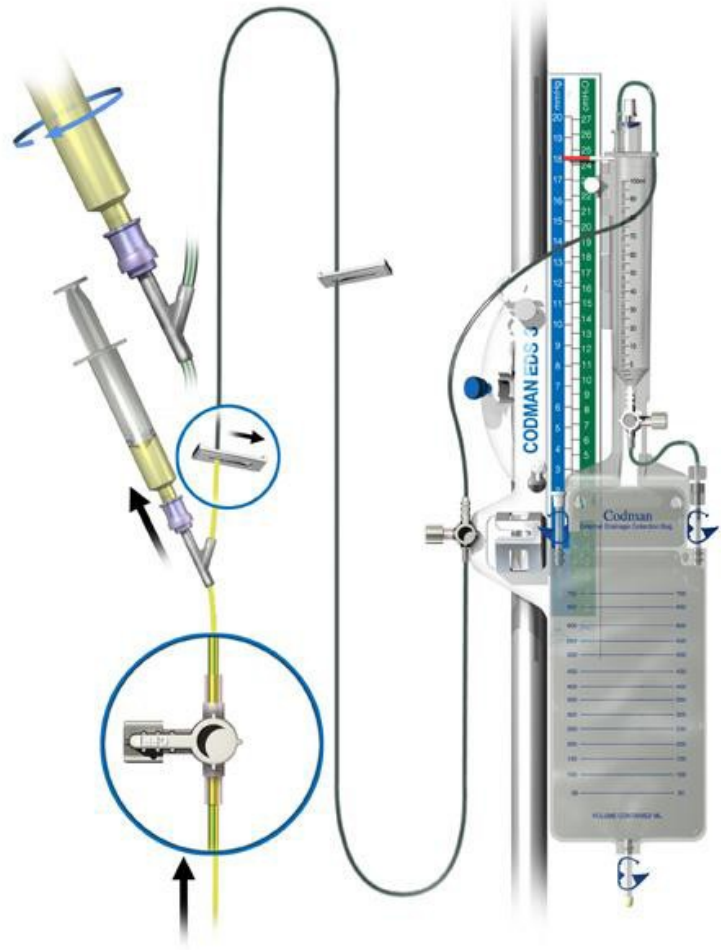
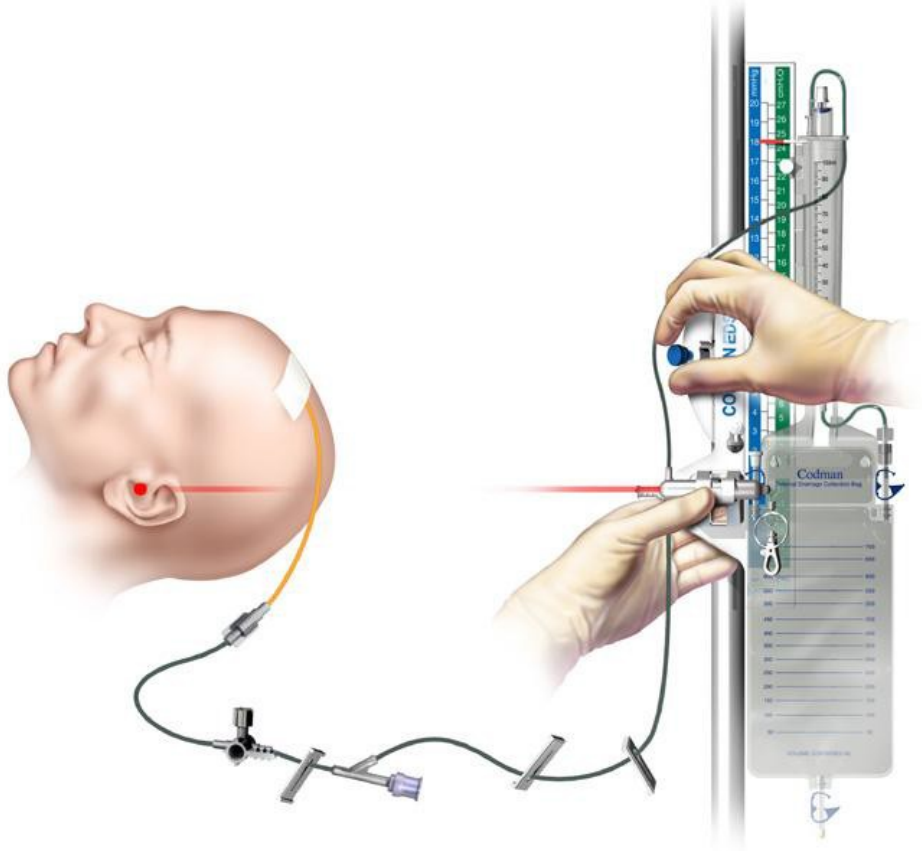
- **Infekční onemocnění**
 - zánět mozkových blan (meningitis) a zánět mozku (encephalitis)
- **Autoimunitní onemocnění**
 - Sclerosis multiplex (poškození myelinových obalů), Guillain-Baré syndrom, sarkoidóza
- **Subarachoideální krvácení**
 - které není prokazatelné jinými zobracovacími metodami.
- **Onkologická onemocnění** centrálního nervového systému nebo průkaz metastáz.

Kontraindikace lumbální punkce

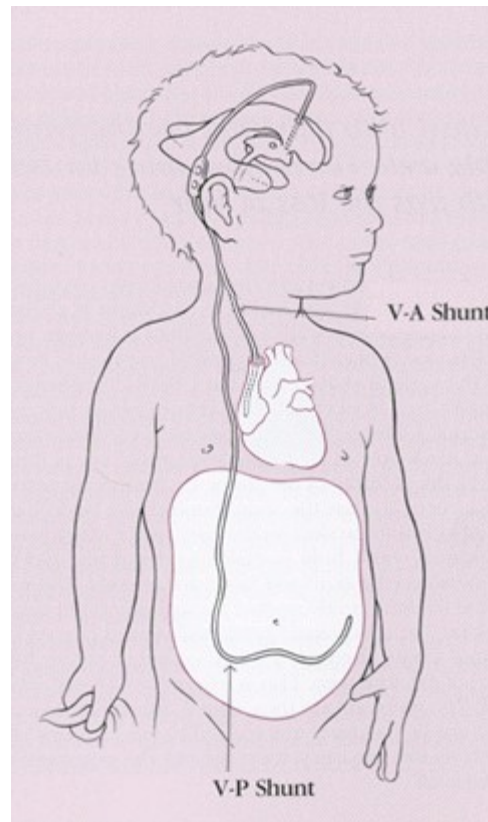
- Hemokoagulační poruchy
- U nemocných se zánětlivými afekcemi kůže nebo dekubity v oblasti bederní páteře
- Zvýšený nitrolebeční tlak

Zevní komorová drenáž

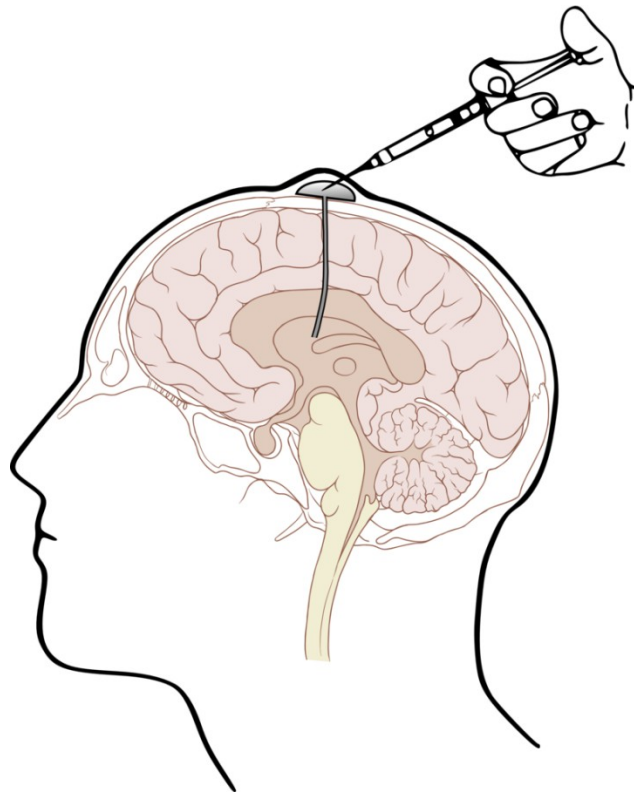
- Indikace
- **Snížení nitrolebního tlaku** (akutní hydrocefalus, dekompenzovaný chronický hydrocefalus, trauma CBS)
- **Odvod zánětlivého likvoru** (riziko akutní obstrukce vývodných cest, riziko rozvoje pozánětlivého obstrukčního hydrocefalu)
- **Odvod krvavého likvoru** po krvácení nebo operaci (riziko obstrukce vývodných cest, riziko pozdějšího rozvoje obstrukčního hydrocefalu)
- **Odklonění přirozeného toku likvoru** (hojení rány v oblasti zadní jámy lební)



Hydrocephalus, odběr z V-P shuntu



Odběr z Ommaya rezervoáru



Základní vyšetření

- Počet elementů a erytrocytů –kvantitativní cytologie
- Kvalitativní cytologie- trvalý cytologický preparát
- Celková bílkovina
- Glukóza
- Laktát

Celková bílkovina

- Fyziologická hodnota 0,15 - 0,40 g/l (stoupá s věkem)
 - albumin, prealbumin, transferin, imunoglobuliny
 - haptoglobin, C-reaktivní protein, C3 a C4 složky komplementu, antitrombin III, α 1-antitrypsin
 - orosomukoid.
- **Zvýš. CB**
 - záněty (porucha hematoencephal. bariéry)
 - porucha cirkulace likvoru
 - intratekální syntéza Ig

Stanovení celkové bílkoviny

Turbidimetrické stanovení bílkovin

Princip: Měření zákalu po denaturaci bílkovin kyselinou sulfosalicylovou, trichloroctovou, benzethoniumchloridem aj.

Turbidimetrická metoda s benzethoniem:

Chlorid benzethonia denaturuje bílkoviny v moči, vzniká velmi jemná suspenze, kterou je možno kvantifikovat při 405 nm (turbidimetrie).

Glukóza

- Základní energetický zdroj nervové tkáně
- Hladina závisí na glykémii (60% sérové hladiny)
- **Snížení:**
 - bakteriální meningitida
 - nádory
 - krvácení

Stanovení glukózy

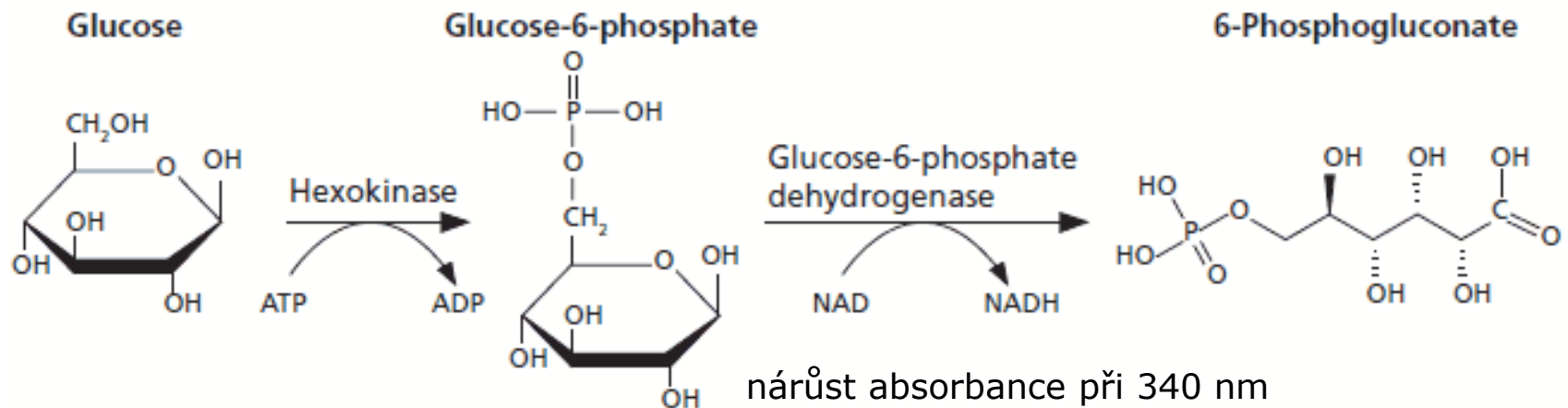
Metoda s hexokinázou

Stanovení glukózy pomocí enzymů *hexokinázy* a *glukóza-6-fosfát dehydrogenázy*

V tomto postupu je využito fosforylačních reakcí známých z biochemie cukrů, kdy je pomocí hexokinázy fosforylována glukóza na glukóza-6-fosfát, který je následně za katalýzy G6PD (glukóza-6-P dehydrogenáza) dehydrogenován na 6-P-glukonolakton. Koenzym reakce, NADP, je přitom hydrogenován.

Sleduje se nárůst absorpance při 340 nm (optický test).

Referenční metoda, používaná často i jako metoda rutinní

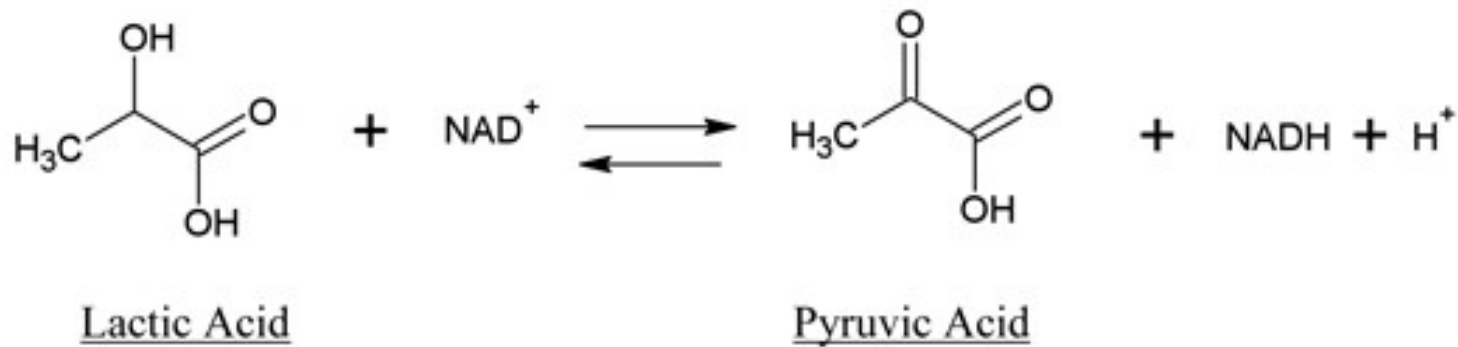


nárůst absorpance při 340 nm
(optický test).

Laktát

- Fyziologická hodnota 1,2-2,1 mmol/l
- Nezávisí na plazmatické koncentraci, prakticky neprochází přes hematoencephalickou bariéru
- **Zvýšení:**
 - Záněty – rozlišení virové a bakteriální meningitidy (produkován hlavně bakteriemi při anaerobní glykolýze)
 - Poruchy zásobení mozku kyslíkem – ischemie, krvácení
 - Zvýšení intenzity metabolismu – nádory

Stanovení laktátu



enzymaticky - laktátdehydrogenáza

Albumin

- Tvorba v játrech
- Albumin v likvoru pouze z obvodové krve
- Referenční hodnoty: CSF-Albumin: **120–300 mg/l**
- Albuminový kvocient – $Q_{alb} = \text{alb.CSF} / \text{alb.S}$ (je závislý na věku):
 - do 15 let: $\leq 5 \times 10^{-3}$
 - do 40 let: $\leq 6,5 \times 10^{-3}$
 - do 60 let: $\leq 8 \times 10^{-3}$

Albuminový kvocient se využívá k matematickému vyjádření funkce hematolikvorové bariéry:

- k hodnocení míry postižení hematolikvorové bariéry;
- pro výpočet intratékální syntézy imunoglobulinů.
- Metoda stanovení-imunoturbidimetrie, imunonefelometrie

Porucha hematolikvorové bariéry

- **Mírně porušená $7.3-10 \times 10^{-3}$**
Roztroušená skleróza, chronické neuroinfekce, serózní meningitidy, nezánětlivé polyneuropatie
- **Střední porucha $10-20 \times 10^{-3}$**
Serózní meningitidy, CMP, diabetická neuropatie
- **Těžká porucha nad 20×10^{-3}**
Meningitida bakteriální, herpetická, tuberkulózní, karcinomatóza, polyradikuloneuritis Guillain-Barrého

I při velmi vysokých hodnotách Qalb. je zachována určitá funkčnost bariéry

Imunoglobuliny

- Zdroj – sérum
- Lokální syntéza (intratékální)
 - CSF-IgG: 12,0–40,0 mg/l
 - CSF-IgM: 0,2–1,2 mg/l
 - CSF-IgA: 0,2–2,1 mg/l

Intratékální syntéza

perivaskulární infiltráty lymfocytů B, které lokálně proliferují
dozrávají v plazmocyty a produkují protilátky

Princip měření – imunochemicky, turbidimetrie, nefelometrie



 BECKMAN
COULTER

Delsia Nano Zeta Sizer
IMMAGE

Humorální imunitní reakce v CNS

- Koncentrace albuminu v moku pozitivně koreluje s koncentrací IgG

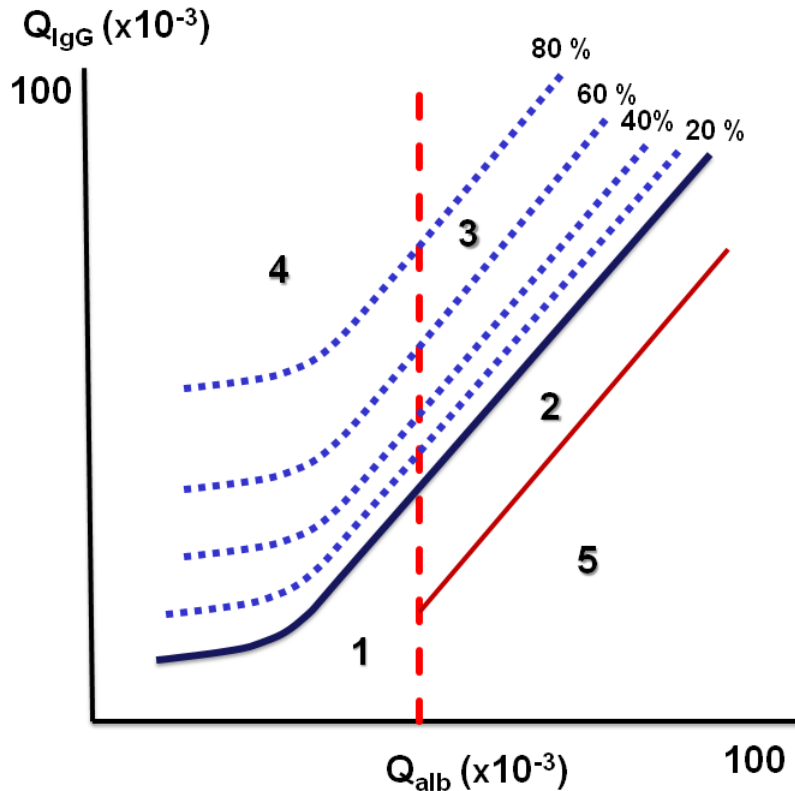
1. IgG index

$$IgG_{index} = \frac{Q_{IgG}}{Q_{alb}}$$

$$IgG_{index} = \frac{IgG_{CSF}/IgG_{sérum}}{Alb_{CSF}/Alb_{sérum}}$$

2. Kvantitativní výpočet intratékální syntézy Ig -výpočet dle Reibera
3. Kvalitativní průkaz intratékální syntézy -izoelektrická fokuzace – průkaz oligoklonálních proužků

Výpočet dle Reibera



Oblast 1 – normální nález;

Oblast 2 – izolovanou poruchu hematolikvorové bariéry bez lokální syntézy Ig

Oblast 3 – poruchu hematolikvorové bariéry společně s intratékální syntézou I

Oblast 4 – izolovaná intratékální syntéza Ig bez poruchy hematolikvorové bariéry;

Oblast 5 – oblast analytických chyb.

Kvalitativní průkaz intratékální syntézy IgG

Oligoklonální pásy

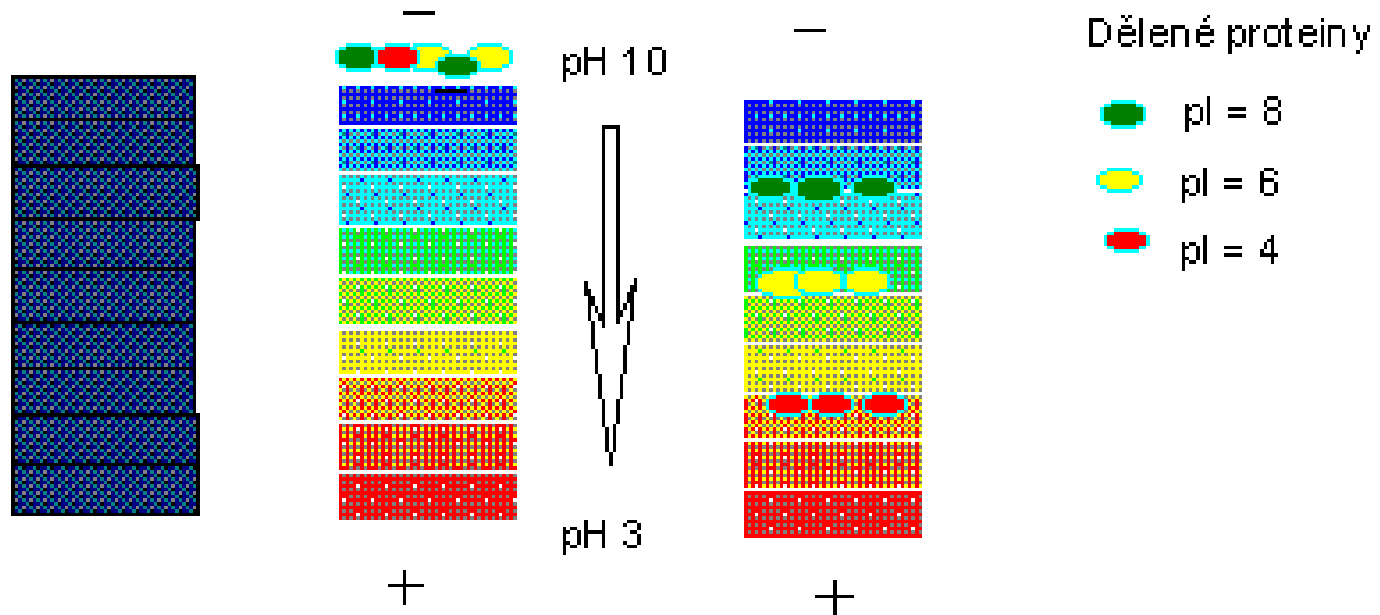
- Elektroforéza v gradientu pH – rozdělení podle izoelektrického bodu jednotlivých bílkovin
- Současně se analyzuje i sérum



Izoelektrická fokuzace

- Charakteristickou vlastností proteinů je jejich izoelektrický bod
- pH, při kterém se jejich molekuly bílkovin nepohybují v elektrickém poli
- Princip spočívá v dělení směsi proteinů na nosiči se stabilním gradientem pH rovnoměrně stoupajícím od anody ke katodě.
- Proteiny jsou fokuzovány do úzké zóny (odpovídající rozmezí až 0,01 pH kolem svého izoelektrického bodu.

Izoelektrická fokuzace



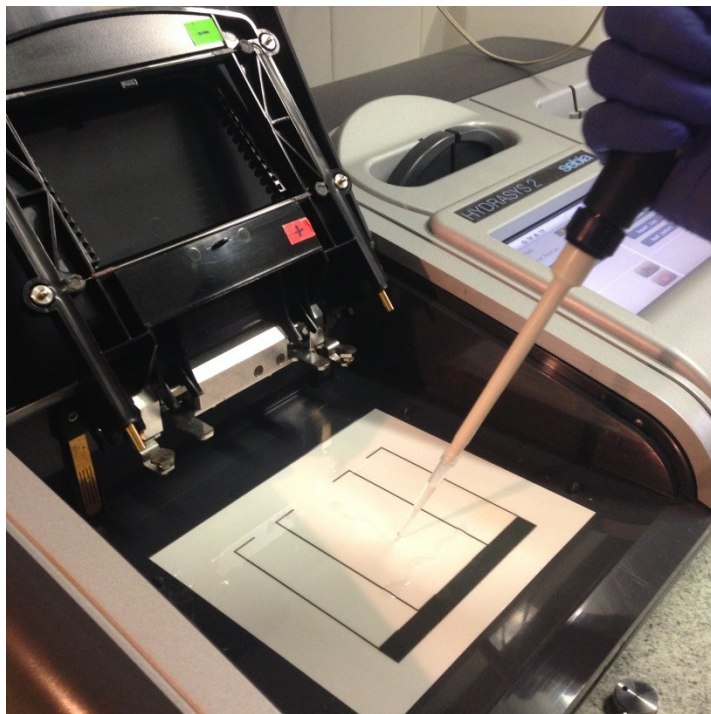
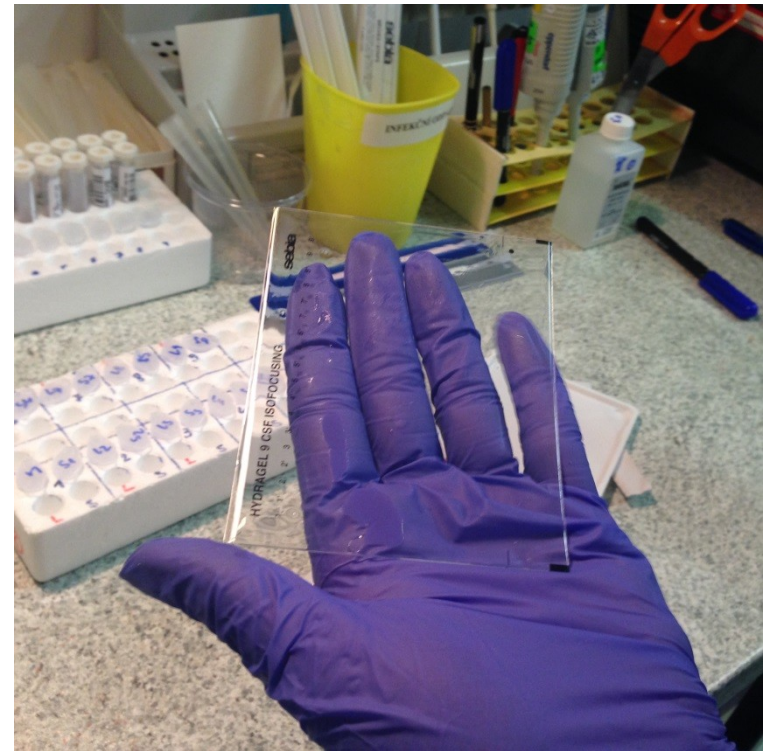
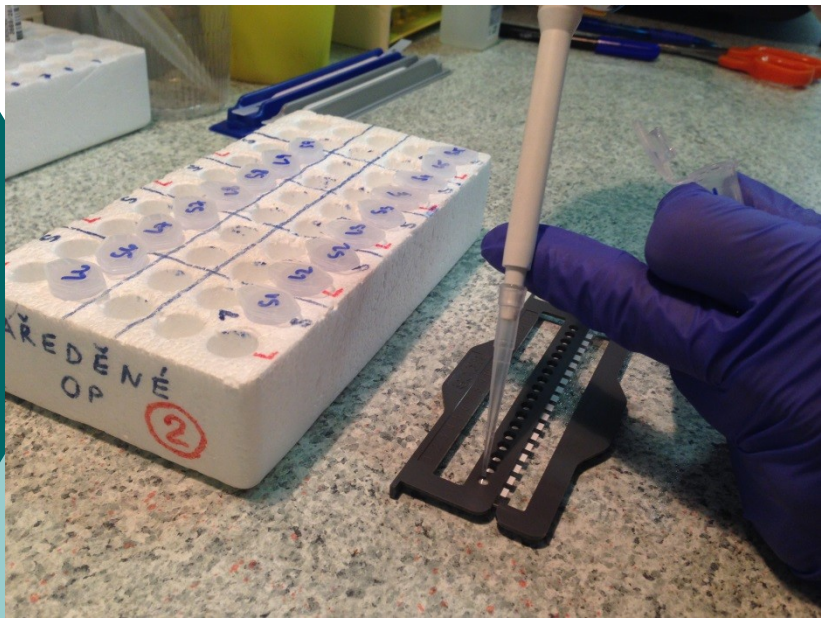
1. Sloupec směsi amfolytů

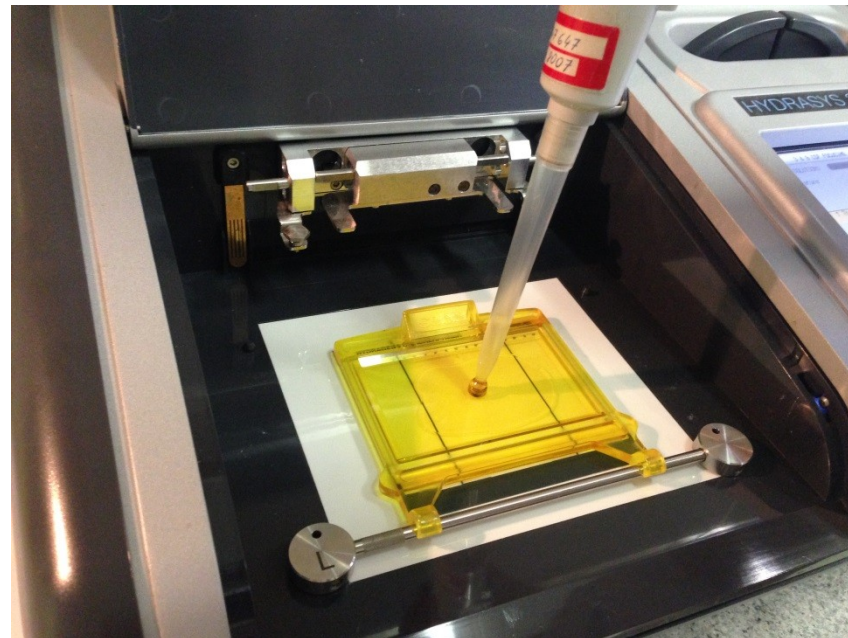
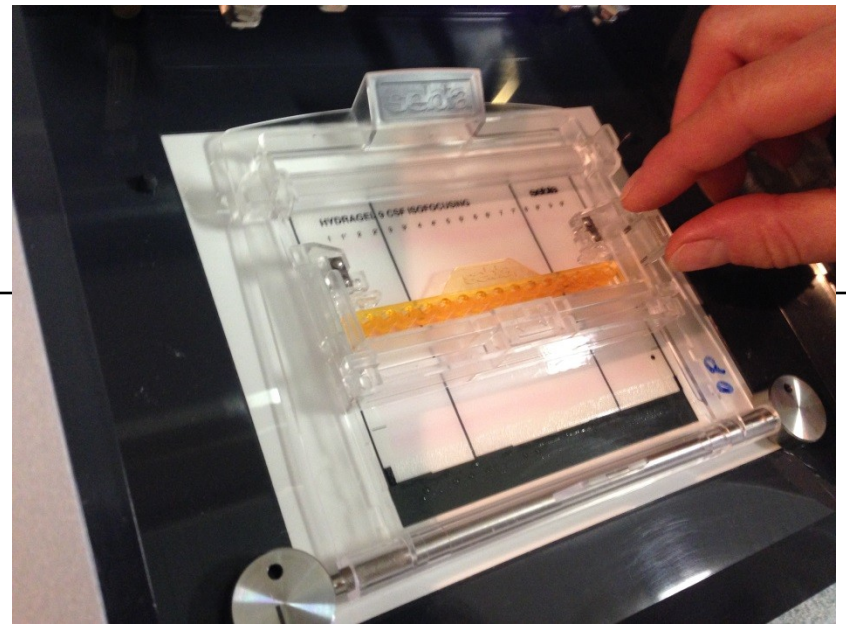
2. Vytvoření gradientu pH v elektrickém poli

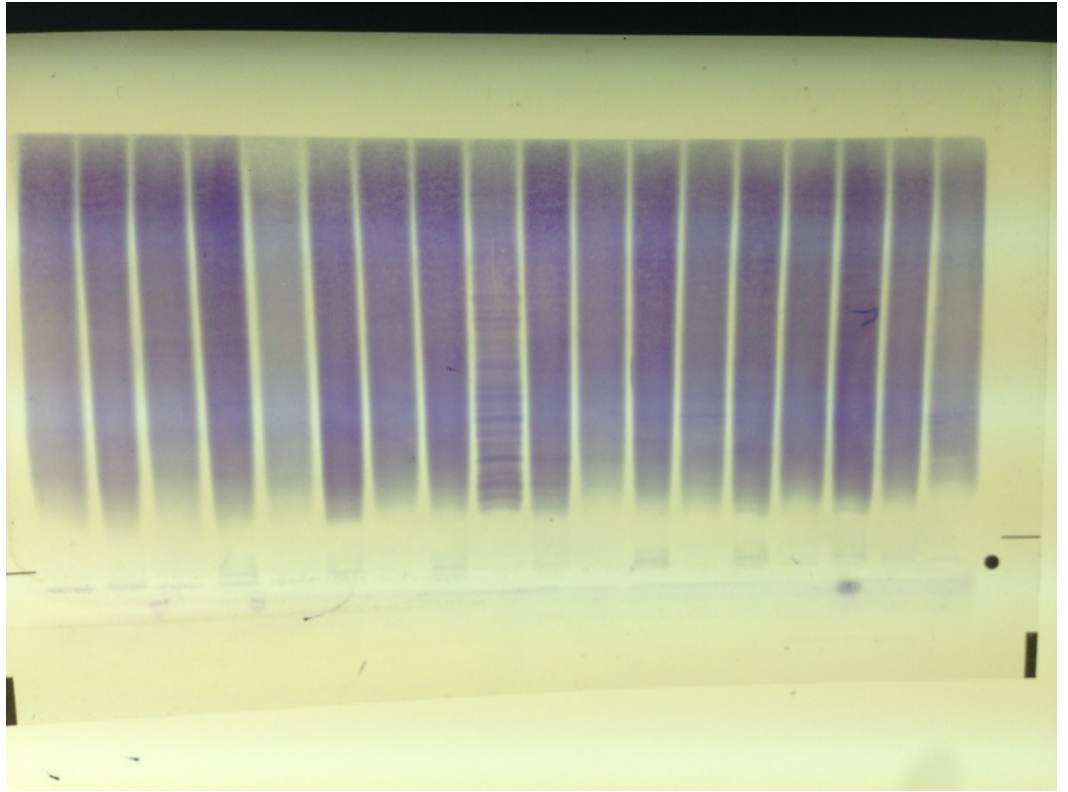
3. Nanesení směsi

4. Rozdělení směsi proteinů









CSF S



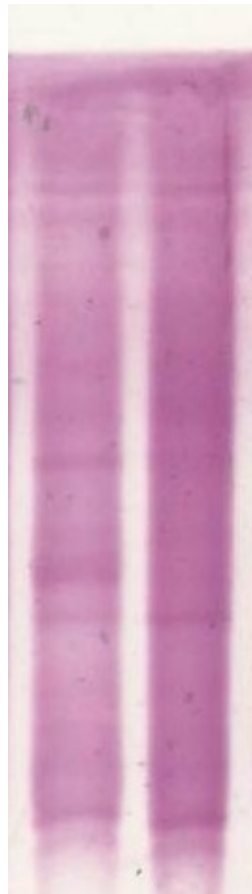
Typ 1

CSF S



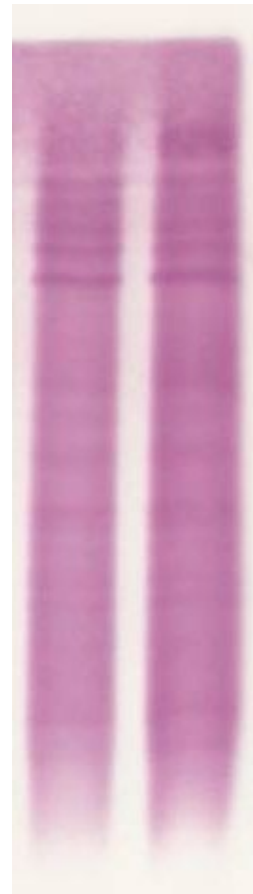
Typ 2

CSF S



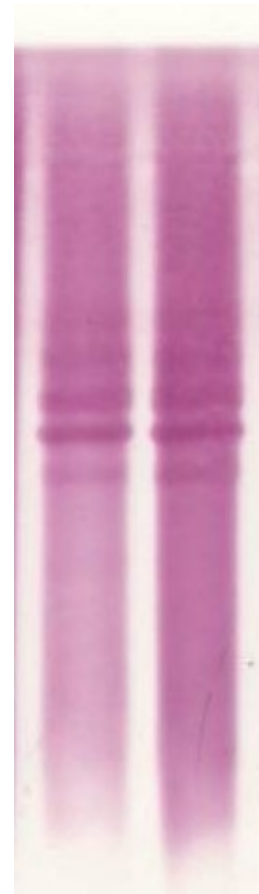
Typ 3

CSF S



Typ 4

CSF S



Typ 5

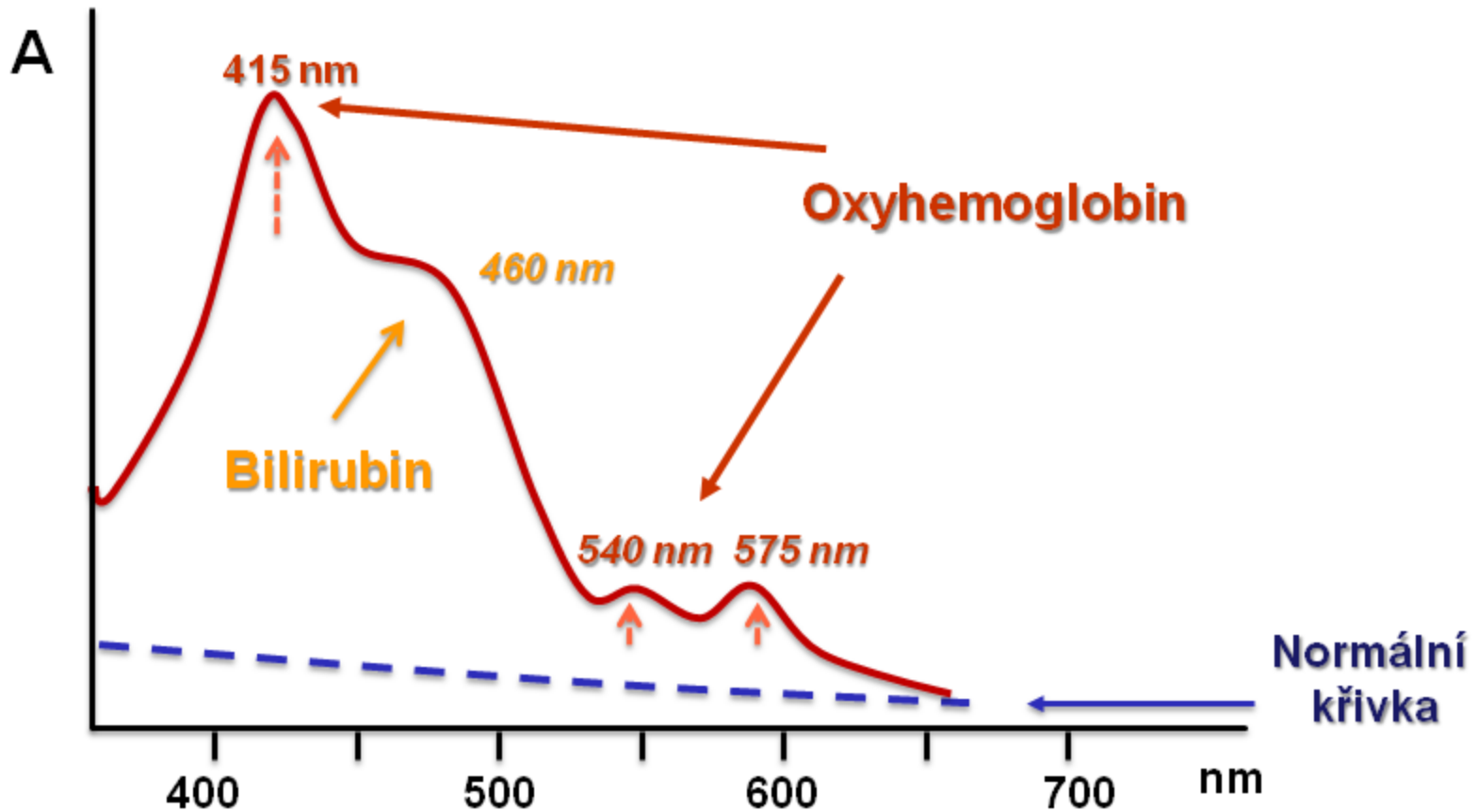
Perspektivy vývoje vyšetření likvoru

- Diagnostika degenerativních onemocnění a prionových infekcí. Dg. Creutzfeldtovy-Jakobovy choroby svědčí zvýšená koncentrace **14-3-3 proteinu** v likvoru
- Likvorová diagnostika Alzheimerovy choroby se opírá o stanovení **β -amyloidu, τ -proteinu a fosfo- τ -proteinu**. Protein β -amyloid je součástí amyloidových plak, které se akumuluji v mozku. Protein τ se vyskytuje v cytoskeletu CNS. U Alzheimerovy choroby se nachází snížené hodnoty β -amyloidu a zvýšené hodnoty τ -proteinu. Dále se hodnotí jejich vzájemný poměr, index τ/β -amyloid, který bývá zvýšený.
- Strukturální protein **S-100** patří do rodiny proteinů vážících vápník. Zvýšená hodnota S100 může svědčit pro poruchu hematolikvorové bariéry a často je známkou neuronového poškození.
- **β 2 mikroglobulin** patří k proteinům, které jsou přítomny ve všech tělních tekutinách. Vzestup jeho koncentrace v likvoru nacházíme u stavů obecně spojených s aktivací a množením lymfocytárních a makrofagických elementů.

Spektrofotometrie likvoru

- Provádí se při podezření na intermeningeální krvácení.
- Je přínosné v časných stadiích, kdy ještě nejsou změny v cytologickém obrazu.
- Spektrofotometrie je 10x citlivější než lidské oko, pozitivní nález můžeme získat i u napohled bezbarvého likvoru.
- Provádí se registrací absorbance v oblasti viditelného světla (380-700 nm), detekuje se přítomnost oxyhemoglobinu a bilirubinu.

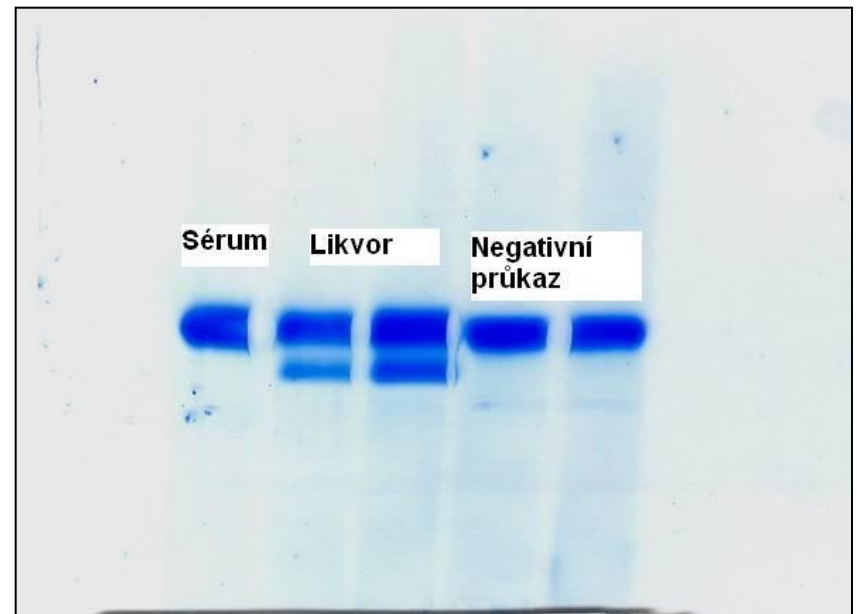
Spektrofotometrie likvoru



Průkaz likvorey


- Likvorea – závažný stav s komunikací likvorových cest
Detekce likvoru je možná stanovením parametru specifického pro likvor.
- Stanovení **beta trace proteinu** – enzym, který je syntetizován v buňkách chorioideálního plexu. V likvoru se nachází v koncentracích 20-30x vyšších než v séru.
- Dalším parametrem je **β 2 transferin**. Ze sérového transferinu se v likvorových prostorech odštěpí zbytky kyseliny sialové (mozkovou neuraminidázou), vzniká asialotransferin, který lze detekovat pomocí elektroforézy s imunofixací v β 2 zóně.

Stanovení beta 2 transferinu

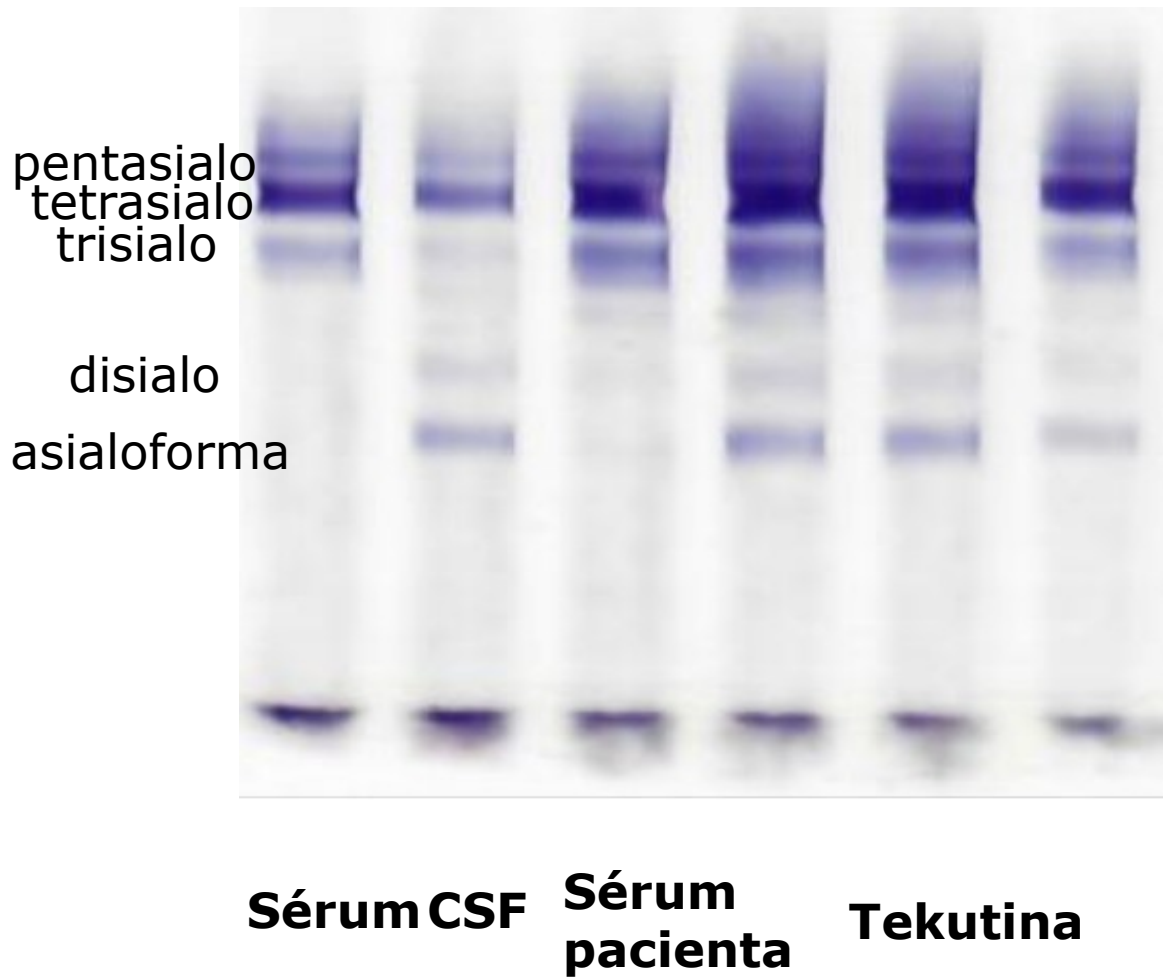


Průkaz likvorey

- Pacientka 26 let
- Během několika měsíců zduření v oblasti horní hrudní páteře ,následné zduření v oblasti krku
- Subj: poruchy citivosti v oblasti LHK, slabost LHK
- MR,CT, PET-MRI: tumor v oblasti C4-Th3, prorůstání do mediastina, infiltrace horního pólu levé plíce, pleury, 1.žebra vlevo
- Bipsie –maligní tumor z pochev periferních nervů (maligní schwannom)
- Plánovaný operační výkon – resekce tumoru v oblasti krku

- 
-
- Operace - resekce tumoru – oblast krční, hrudní, resekce části plic, části žeber
 - 2.den po operaci – zvýšení sekrece z operační rány – podezření na přítomnost likvoru
 - Odeslán vzorek na vyšetření

Průkaz β 2-transferinu



Průkaz β 2-transferinu

3.den po operaci

provedena revize rány
v oblasti C8 a T1 nalezeny
drobné trhliny tvrdé pleny,
sešity a překryty tzv.
tkáňovým lepidlem

