

Vyšetření likvoru u roztroušené sklerózy a zánětlivých onemocnění

Pavel Štourač

Neurologická klinika FN Brno

Soubory vyšetření v mozkomíšním moku

- makroskopický popis: čirý, zkalený, xantochromní, hemorhagický
- celková bílkovina 0,15 - 0,45 g/l
- kvalitativní i kvantitativní cytologie (4 elementy/1 μ)
- laktát (2,3 mmol/l), glukóza (1/2 hodnota glykémie)
- albumin - Qalb, IgG, IgA, IgM v likvoru a séru
- oligoklonální IgG v likvoru a séru
- specifické protilátkové indexy

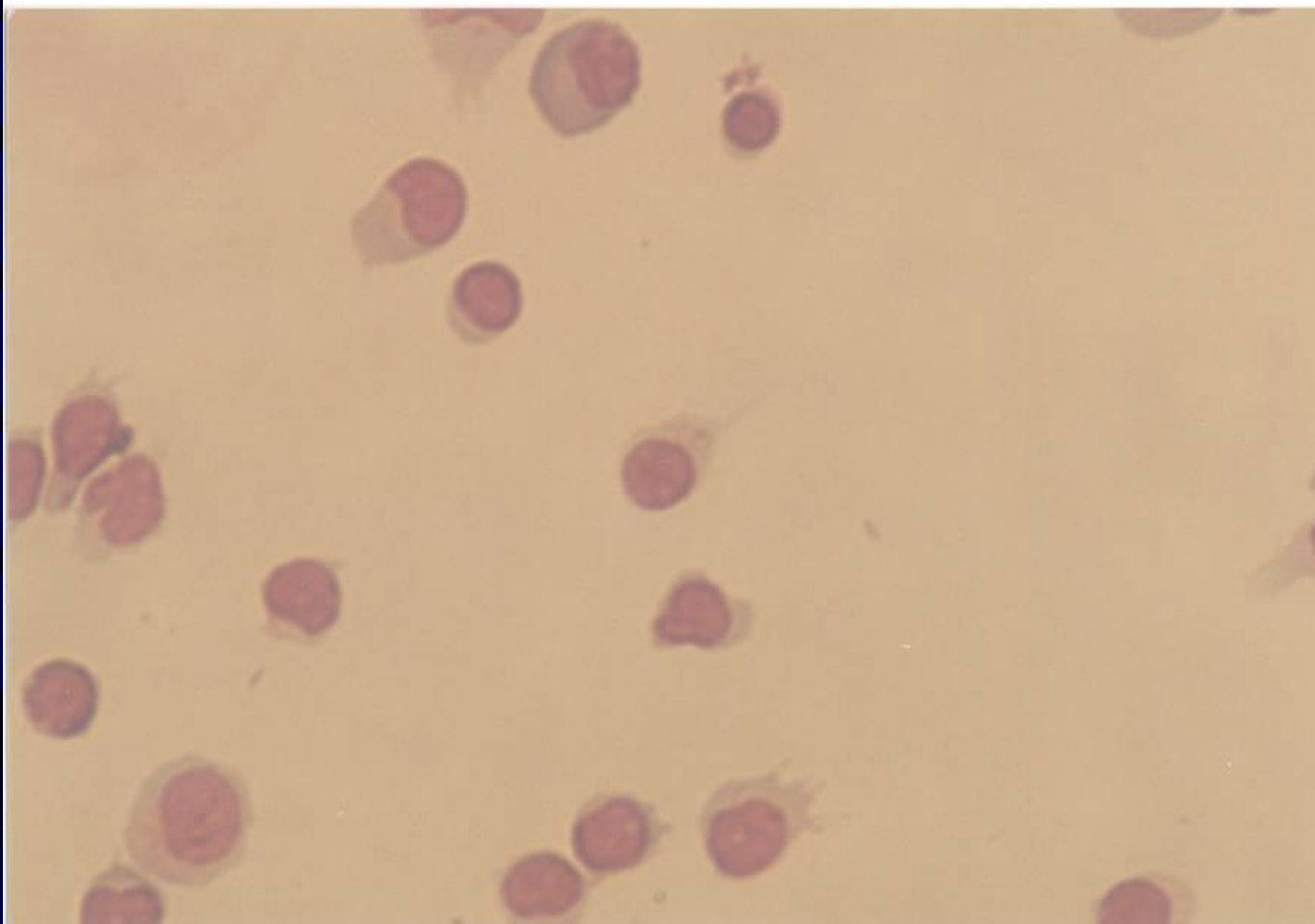
Cytologie

- **Kvantitativní cytologie: Fuchs – Rosenthalova komůrka**
- **Norma: 4 elementy/1ul**
- **Diferenciální obraz: lymfocyty 70%, monocyty 30%**
- **Neutrofilní granulocyty – bakteriální a virové záněty**
- **Plazmocyty – zánětlivá reakce**
- **Erytrofágy, siderofágy, hematoidinové krystaly**
- **Spektrofotometrie – bilirubin < 2 týdny, CT negativní SAK**
- **Lipofágy – známky tkáňové destrukce**
- **Eosinofilní granulocyty – parazitární infekce, V-P shunt**

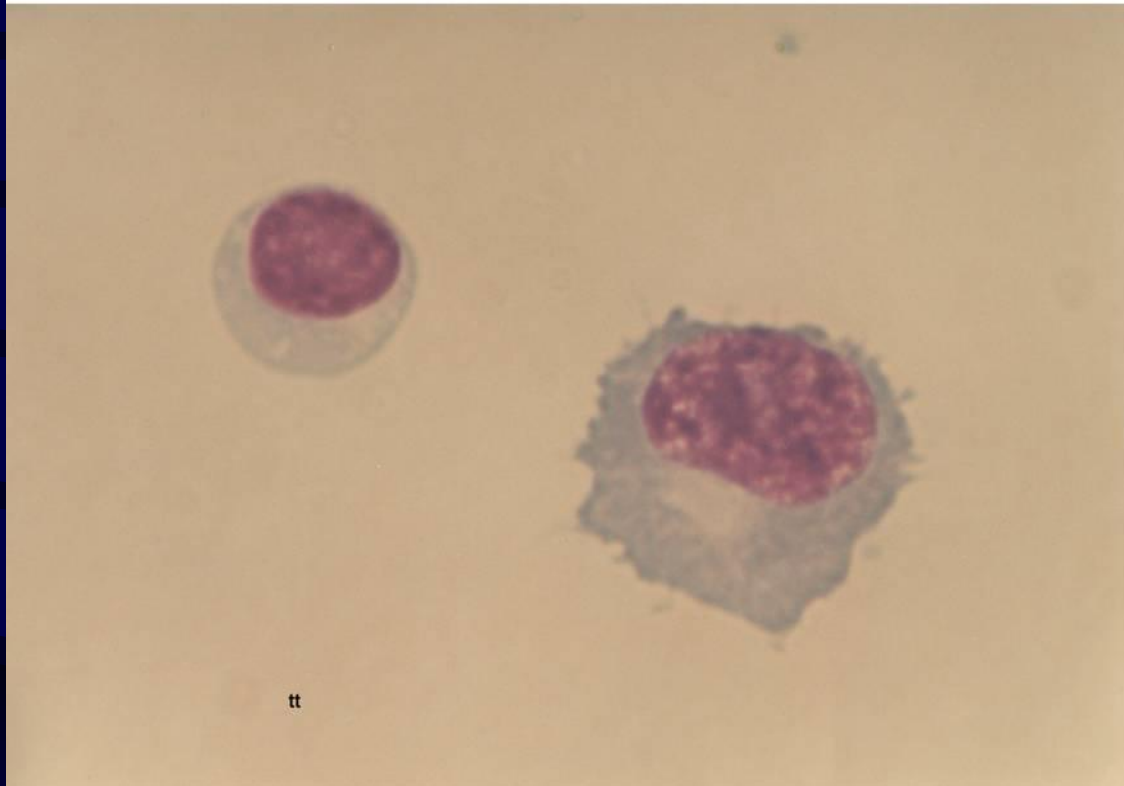
Neurologická onemocnění s autoimunitní patogenezí

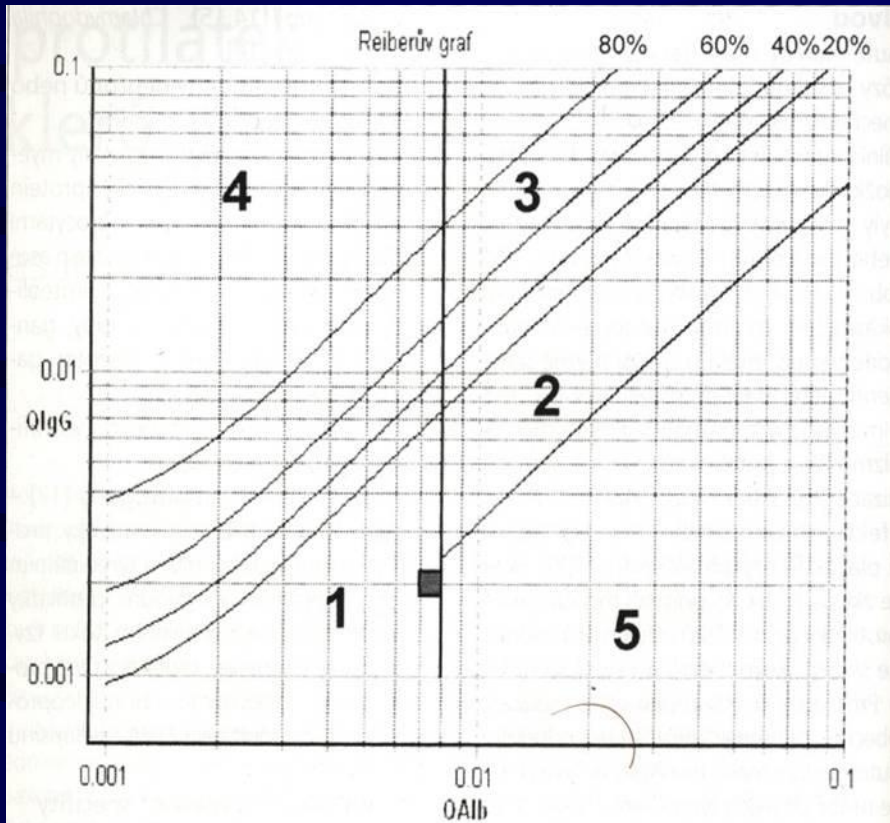
- Roztroušená skleróza mozkomíšní
- lymfocytární pleocytóza cca 60% pacientů (<5% plasmocytů)
- normální funkce hematolikvorové bariéry (Qalb <6.5x10⁻³)
- intratekální syntéza - kvantitativně IgG (98%)>IgM (25%)>IgA(9%)
- intratekální IgG kvalitativně - IgG OP - senzitivita 95%
- MRZ reakce (specifická 82-92%)

Lymfocytární pleocytósa v likvoru u pacienta s roztroušenou sklerózou.



Lymfocyt a plasmocyt v likvóru u pacienta s roztroušenou sklerózou.





Interpretace grafu (pro věk 40–60 let):

1. Oblast normálních hodnot
2. Porucha hemato-likvorové bariéry bez lokální syntézy IgG
3. Porucha hemato-likvorové bariéry spojená intratekální (autochtónní) syntézou IgG
4. Intratekální syntéza IgG při normální funkci hemato-likvorové bariéry
5. V této oblasti se nemohou vyskytovat žádné hodnoty (odběrová nebo analytická chyba)

Diagnostické markery

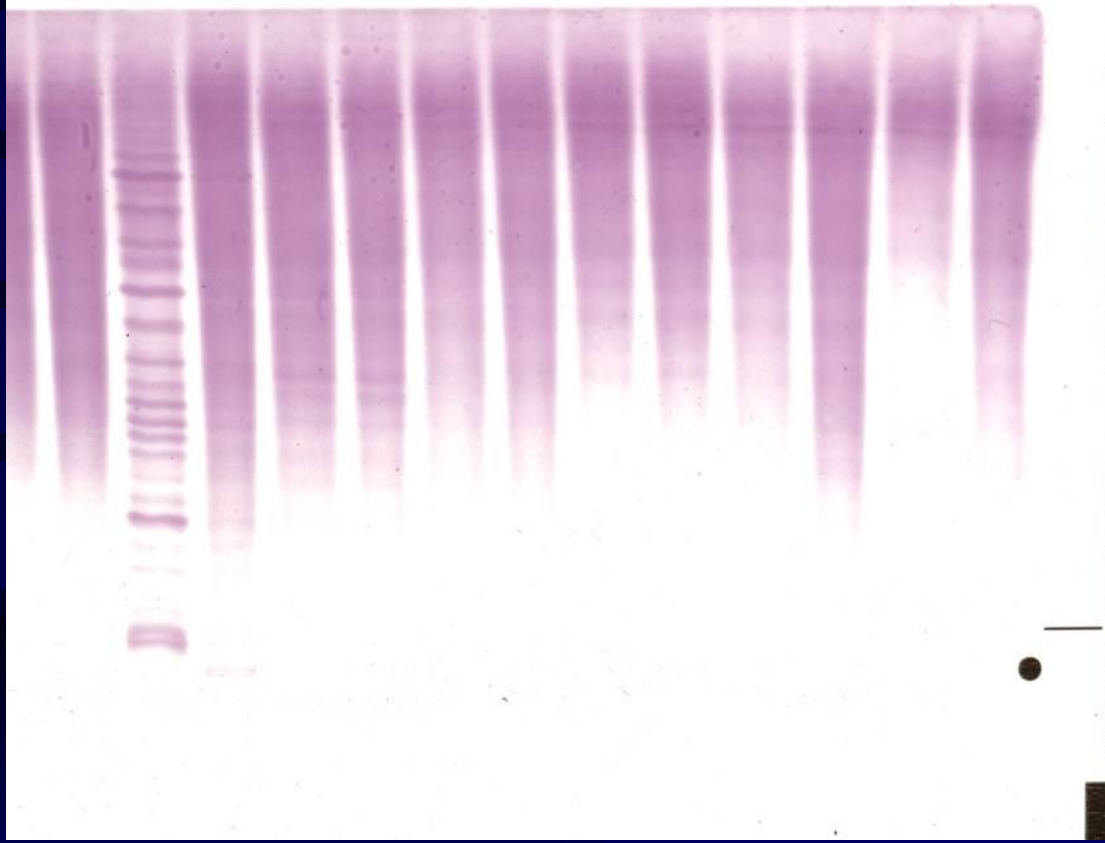
- oligoklonální IgG
- MRZ
- neurofilamenta neuronálního a gliového cytoskeletu - nutnost longitudinálního sledování
- opakované lumbální punkce
- tau protein, fosforylovaný tau protein, beta - amyloid

Oligoklonální IgG

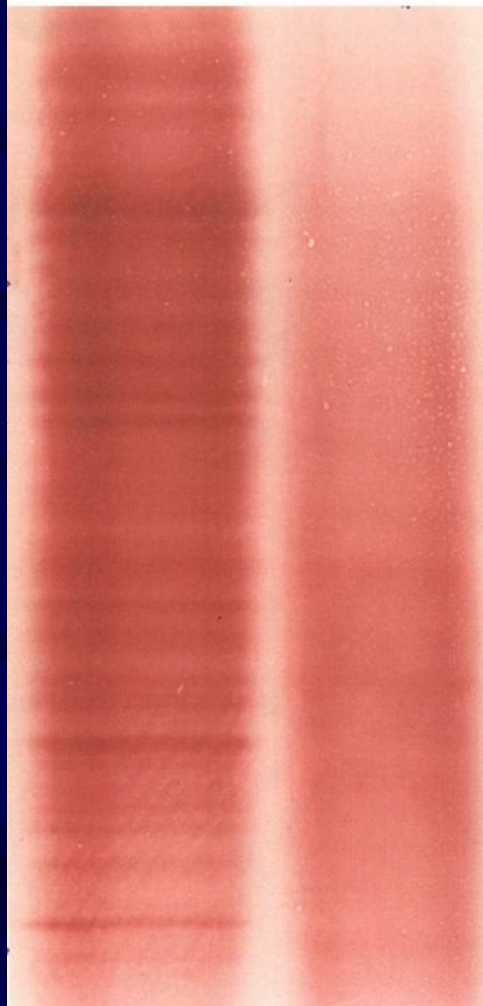
- **Metodika - izoelektrická fokuzace, imunobloting, imunoenzymatické barvení**
- **5 typů oligoklonálního IgG při paralelním vyšetření v moku a séru**
- **normální (polyklonální) IgG v likvoru a séru**
- **oligoklonální IgG pouze v likvoru (sclerosis multiplex)**
- **oligoklonální IgG v likvoru (větší počet resp. další IgG pásy) ve srovnání s počtem IgG pásů v séru**
- **monoklonální IgG v likvoru a séru (myelom, monoklonální gammapatie)**

Oligoklonální IgG pásy v likvoru pacienta s roztroušenou sklerózou (firma Sebia).

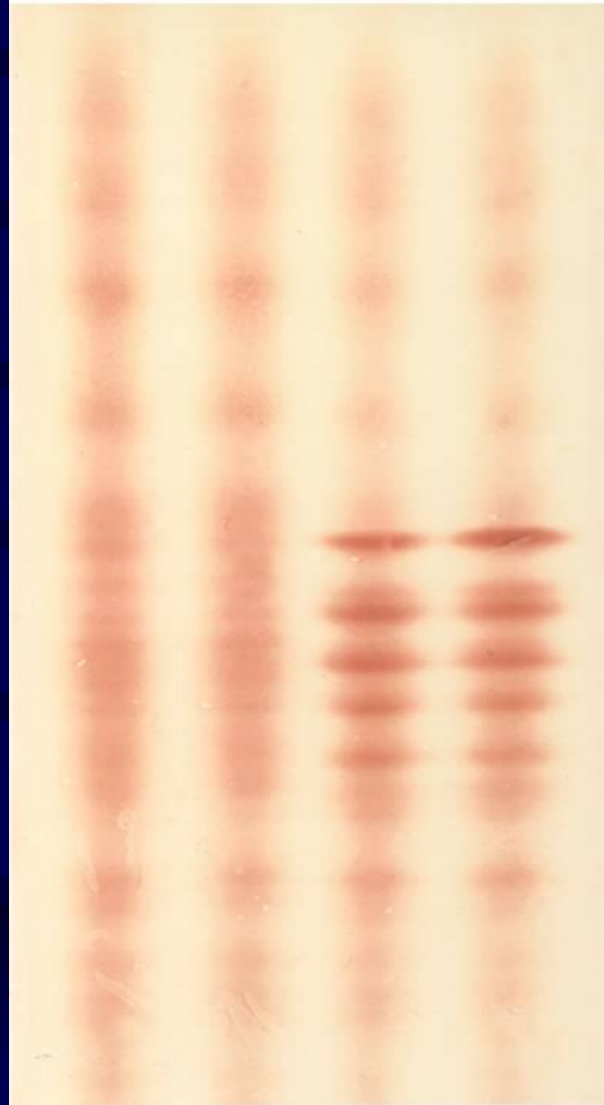
3' 4 4' 5 5' 6 6' 7 7' 8 8' 9 9'



Oligoklonální IgG pásy v likvoru metodou
isoelektrické fokusace.



Obraz monoklonálního IgG v likvoru a séru.



MRZ reakce

- **Intratekální protilátková syntéza proti jednomu, dvěma nebo třem následujícím virům**
- **M-measles - spalničky, R - rubella - zarděnky, Z - varicella zoster virus**
- **MRZ - chronický autoimunitní typ onemocnění**
- **senzitivita MRZ u SM je 84 - 92 %**
- **frekvence a velikost protilátkových indexů narůstá se zvyšující se celkovou intratekální IgG syntézou**

Zánětlivá onemocnění CNS s přítomností oligoklonálních IgG pásů v likvoru

- Roztroušená skleróza 95%
- Autoimunitní :
 - SLE – neuroforma 50%
 - Behcetova choroba – neuroforma 20%
 - Neurosarkoidóza 40%
 - Meningo – uveitida 60%
- Infekční:
 - Akutní virová encefalitida 5%
 - Akutní bakteriální meningitida 5%

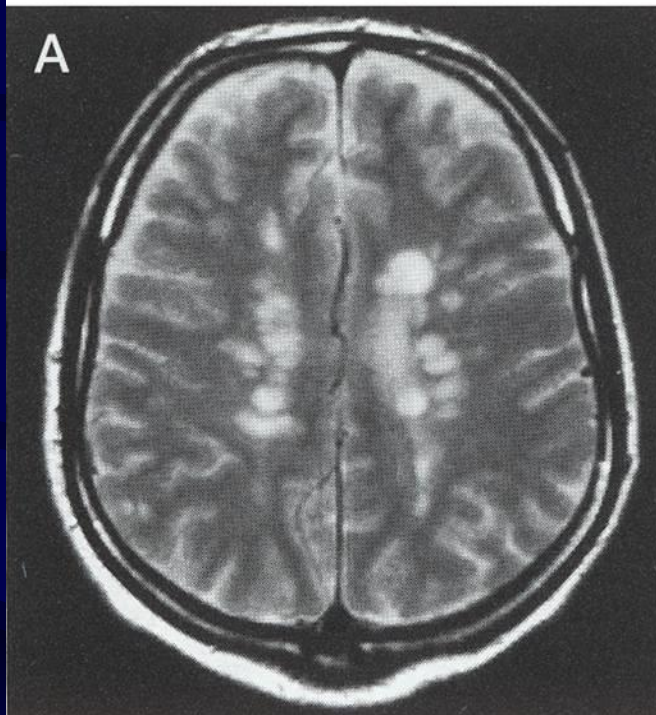
Zánětlivá onemocnění CNS s přítomností oligoklonálních IgG pásů v likvoru

• Subakutní sklerozující panencefalitida	100%
• Neurosyfilis	95%
• Progresivní rubeolová encefalitida	100%
• Neuro-AIDS	80%
• Neuroborrelióza	70-80%
• Tumory	5%
• Hereditární onemocnění	
• Ataxia – teleangiectatica	60%
• Adrenoleukodystrofie	100%

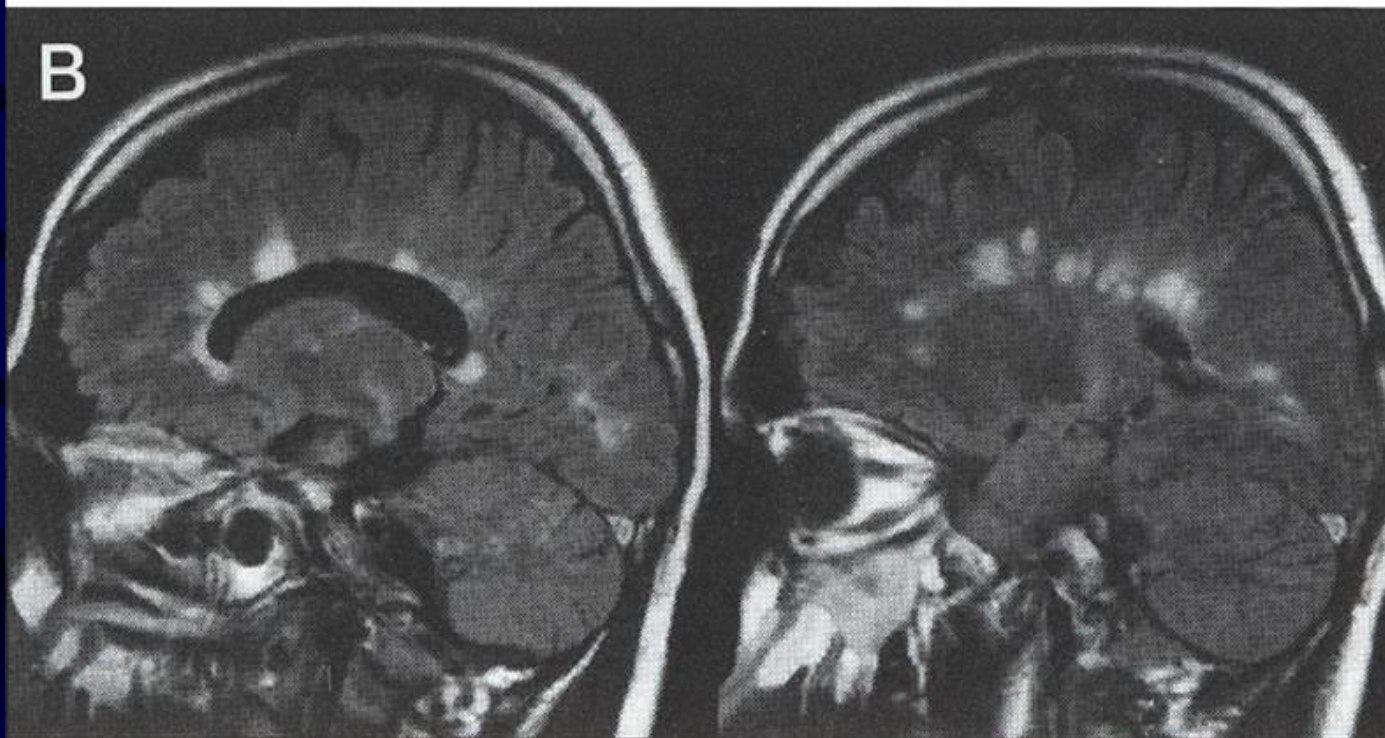
Polyspecifická imunitní reakce v CNS a protilátkové indexy

- Protilátkový index
- **antibody index -AI** určuje patologickou, intratekálně syntetizovanou frakci specifických protilátek v likvoru
- **referenční rozmezí AI = 0,7-1,3**
- **patologické hodnoty AI >1,4**

**Hyperintenzní ložiska v bílé hmotě
u pacienta s roztroušenou
sklerózou.**



**Hyperintenzní ložiska v bílé hmotě u pacienta
s roztroušenou sklerózou v oblasti corpus callosum.**



Neurologická onemocnění s autoimunitní patogenezí

- Paraneoplastické autoimunitní neurologické syndromy
anti-Hu, anti-Yo, anti-Ri, anti-Ta/Ma2, anti-CV2, anti-amphiphysin, NMDRA,

NMO - neuromyelitis optica Devic - varianta demyelinizačního onemocnění s přítomností IgG specifických protilátek -NMO -IgG (AQP - 4 Ab)
imunoblot, imunohistochemie

Neurologická onemocnění s autoimunitní patogenezi

- Systemová autoimunitní onemocnění s postižením CNS
- lupus erythematoses, Sjogrenův syndrom, Wegenerova granulomatóza - MRZ reakce
- AIDP - syndrom Guillain-Barré
- $Qalb > 6.5 \times 10^{-3}$
- normální cytologický obraz
- intratekální Ig syntéza negativní

Neuroborrelióza

- Dominantní IgM intratekální syntéza
- Disease related pattern -IgM>IgA>IgG
- B- aktivované lymfocyty (intracytoplazmaticky IgM)
- porucha hematolikvorové bariéry Qalb >6.5
- IgG OP- 70% -80% pozitivní –monofazický průběh
- pozitivní specifická protilátková syntéza (AI Bb >1.4)
- cytologický nálezn - smíšená pleocytóza

Výběr laboratorních metod

1. Nezbytné:

- vyšetření dvojice sérum/CSF na přítomnost
- *Bb*-specifických protilátek
- stanovení intratekální syntézy protilátek
- stanovení zánětlivých parametrů v CSF

2. **Doplňující: kultivace a PCR pouze u velmi časně LNB**

3. **V současné době nejsou žádné další metody doporučené**

Bb-specifické protilátky v séru a CSF:

- „two-step approach“: ELISA, imunoblot
- dg senzitivita ELISA 70-90% u časně LNB, 90-100% u pozdní LNB, dg specifita nízká (seropozitivita v normální populaci 5-20%)
- intratekální syntéza specifických protilátek (AI) – zohlednění stavu HLB
- pozitivní AI může přetrvávat roky po úspěšné terapii
- dg senzitivita AI 80% u časně LNB, 100% u pozdní LNB

Doporučení: při interpretaci stanovení protilátek nutná korelace s klinickými údaji a zánětlivými parametry v CSF

Metody – mikroskopie a PCR

- Mikroskopické metody

- ✓ nízká senzitivita a specificita

- Doporučení: není dostatek důkazů pro použití mikroskopie v rutinní diagnostice*

- PCR:

- ✓ mnoho protokolů, chybí zlatý standard a větší srovnávací studie

- ✓ dg senzitivita v CSF 10-30%, v krvi nižší, v moči sporné

- Doporučení: PCR může být přínosná u velmi časně LNB s negativním AI nebo u pacientů s imunodeficitem*

Metody

- Kultivace:

- ✓ pomalý růst

- ✓ senzitivita v CSF 10-30%, v biopsiích kůže 50-70%, v krvi <10%

Doporučení: kultivace může být přínosná pouze u atypických klinických projevů nebo u pacientů s imunodeficitem

- Chemokin CXCL13, detekce antigenu, detekce protilátek vázaných v imunokomplexech, test transformace lymfocytů, tvorba cyst

Doporučení: není dostatek důkazů pro použití v rutinní diagnostice