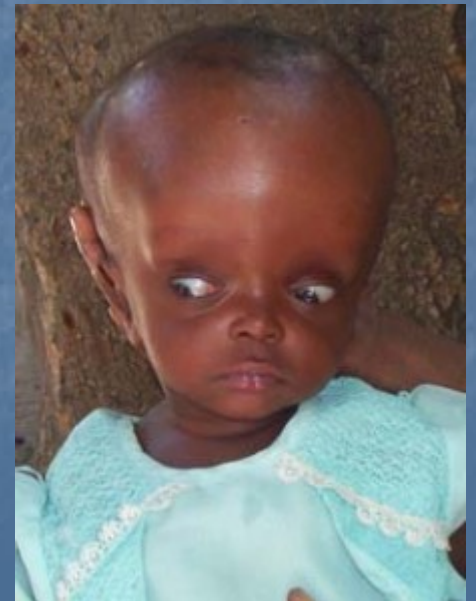


VYŠETŘENÍ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU

**MUDr. Zdeňka Čermáková
OKBH FN Brno**

Historie

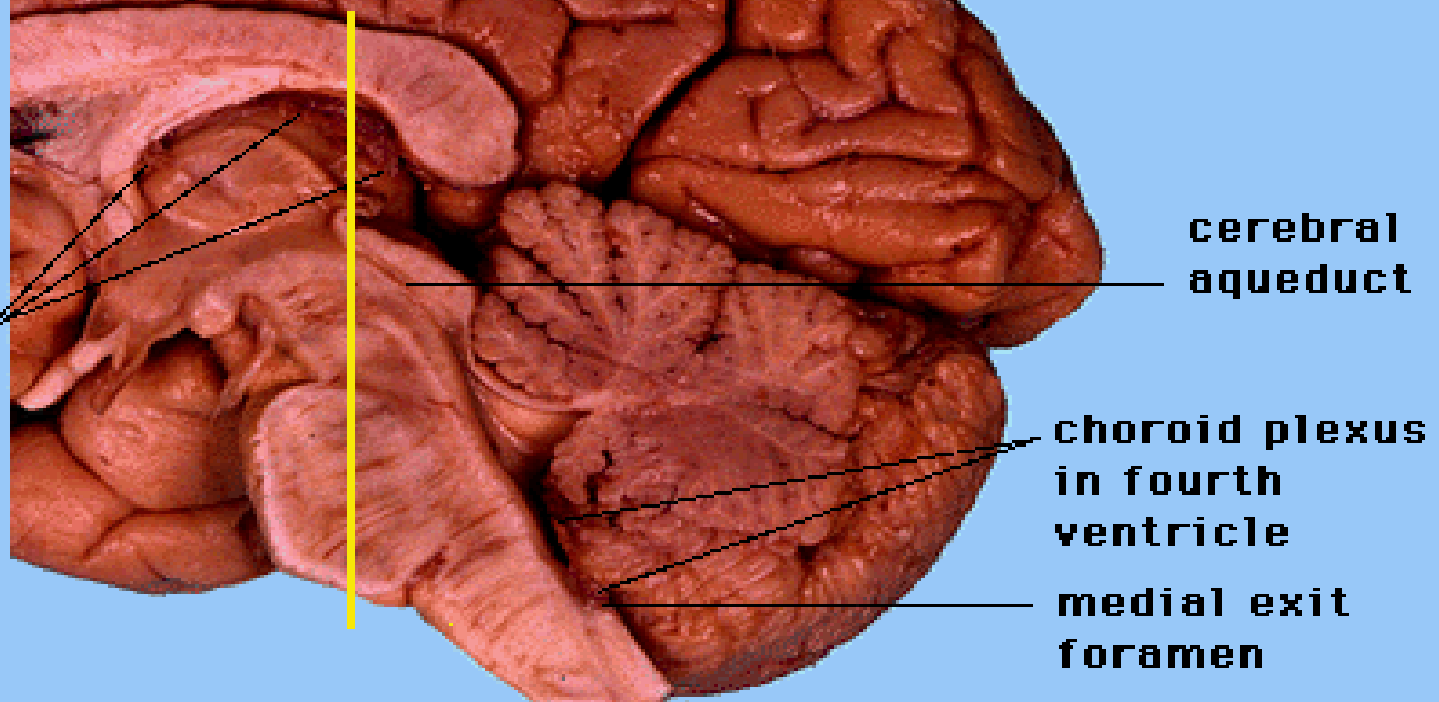
- Základní vyšetřovací metoda v neurologii
- Poznatky staré 2000 let
- Lumbální punkce –r.1891 (Quincke)
- Snížení nitrolebečního tlaku u nemocného hydrocephalem
- Aplikace léků



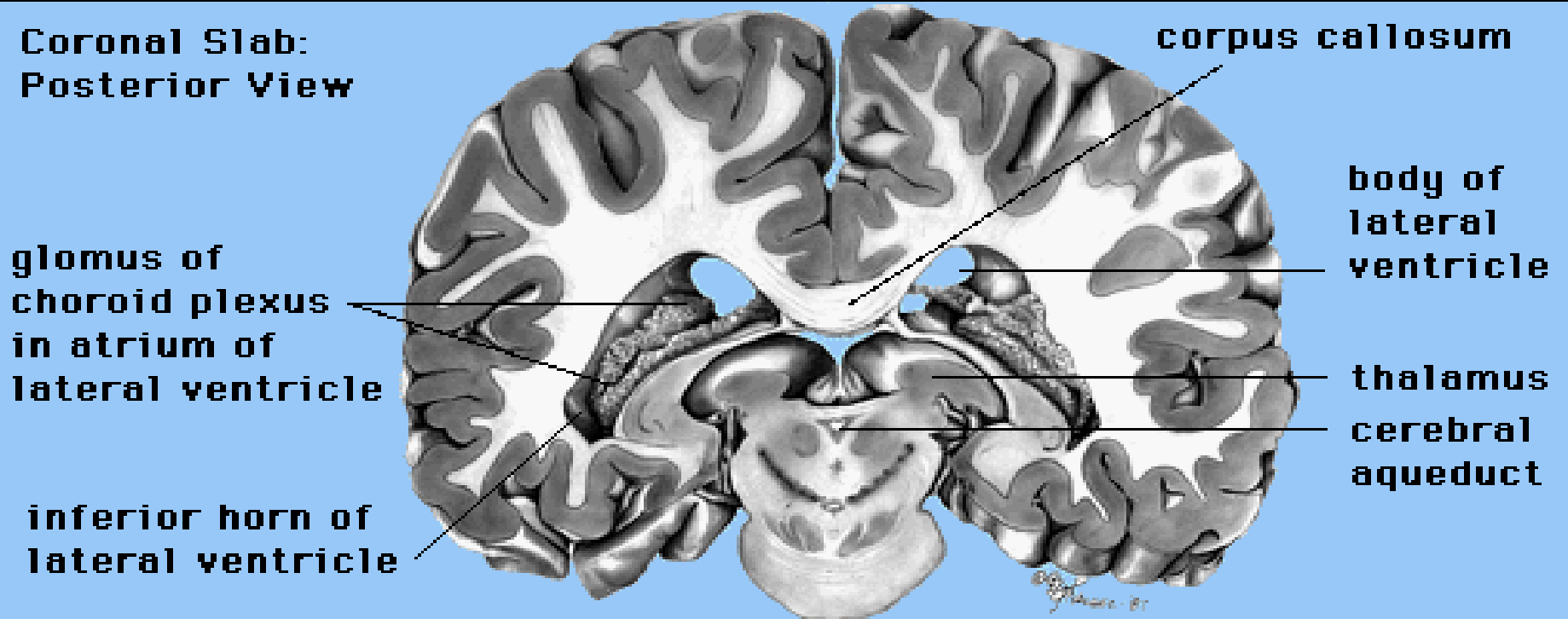
Anatomie a fyziologie

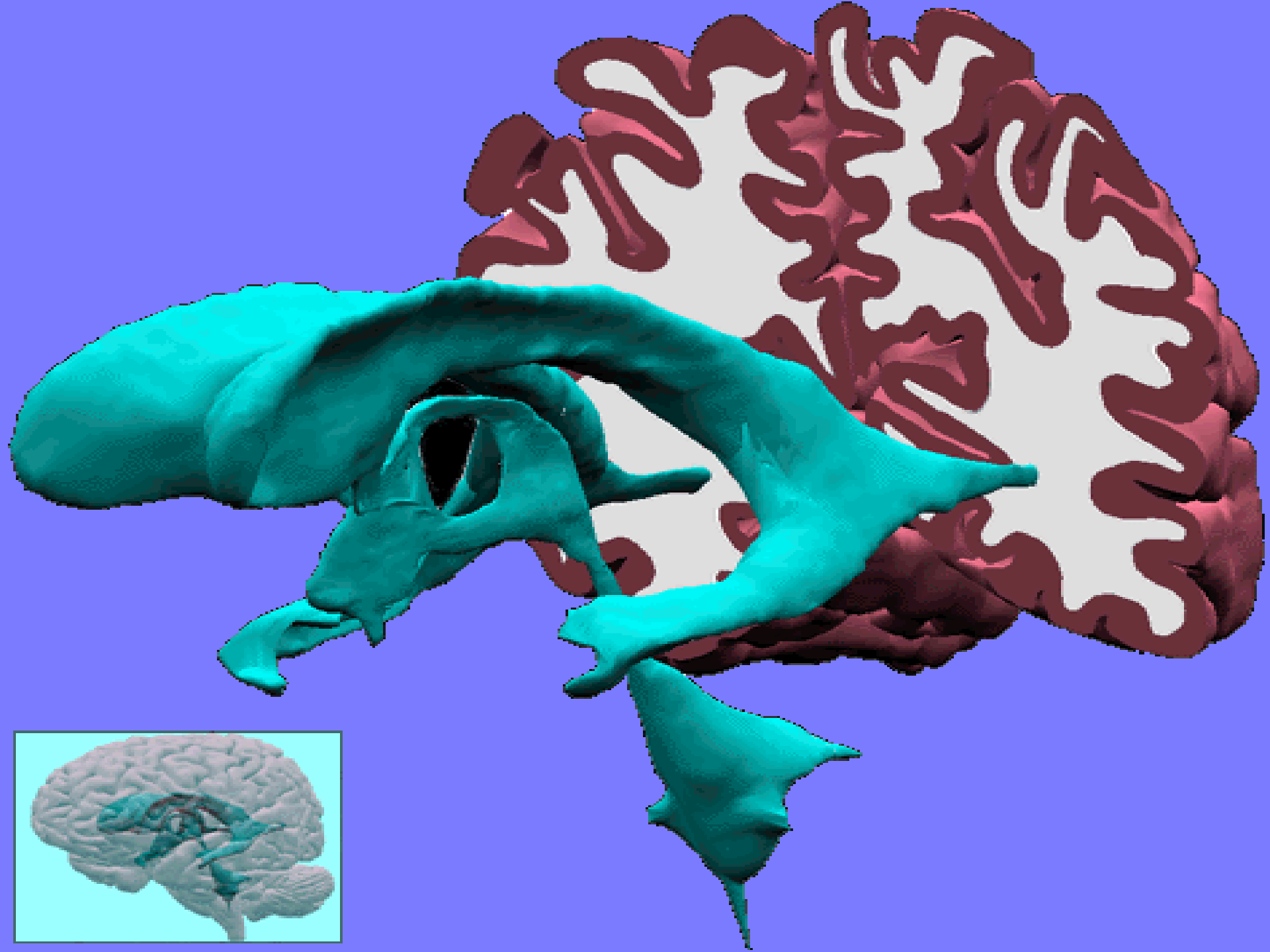
- Čirá bezbarvá tekutina
- Vyplňuje komorový systém mozku, subarachnoideální prostor mozku a míchy
- Tři membrány
 - Měkká plena mozková
 - Arachnoidea
 - Tvrdá plena mozková

**Specimen:
Sagittal View**



**Coronal Slab:
Posterior View**





Dura

Skull bone

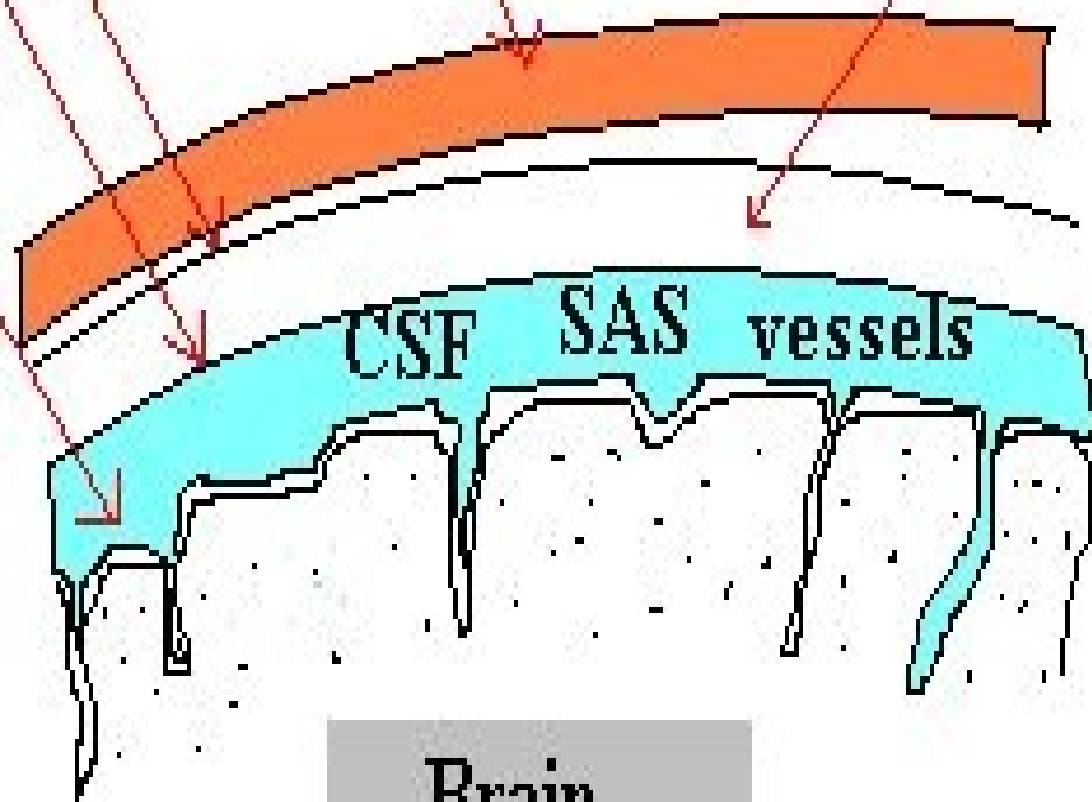
Subdural space

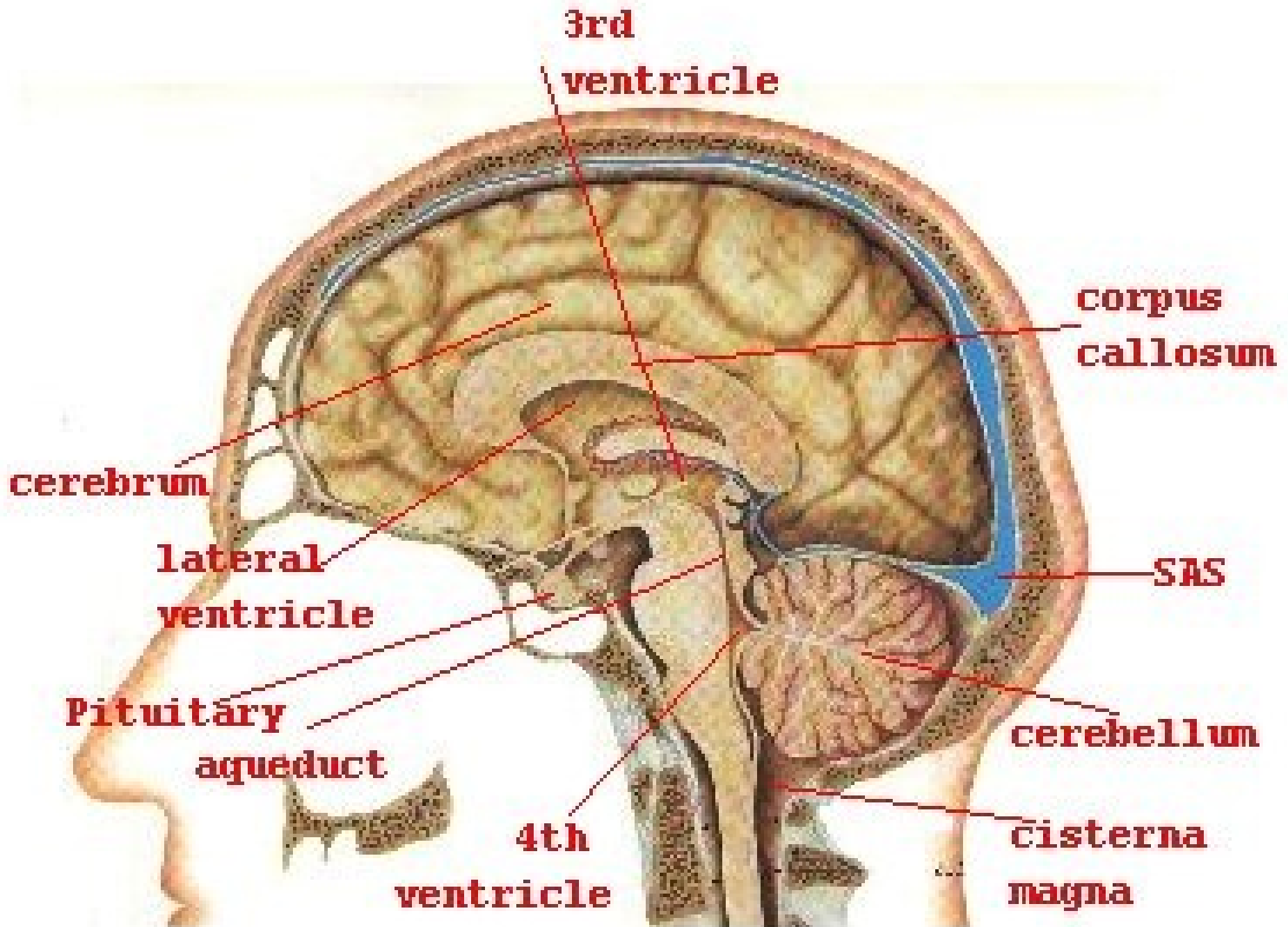
Arachnoid

Pia mater

CSF SAS vessels

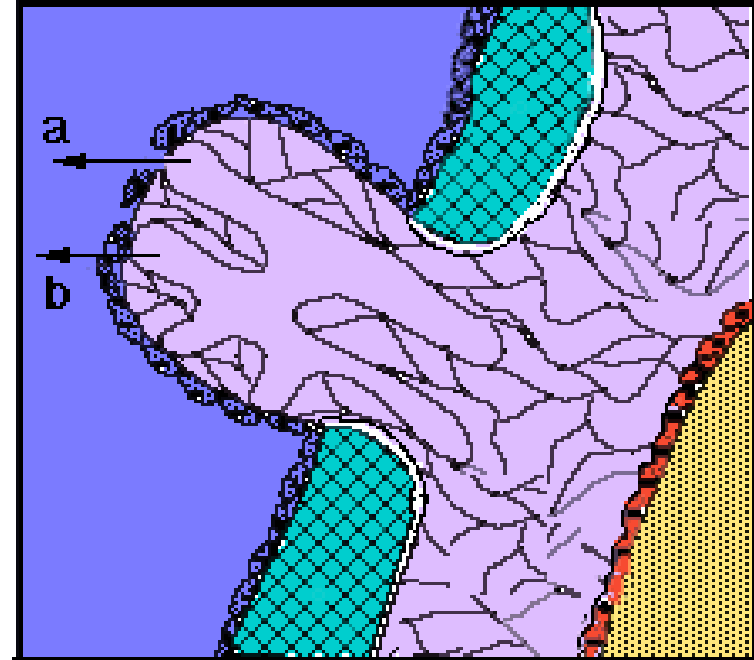
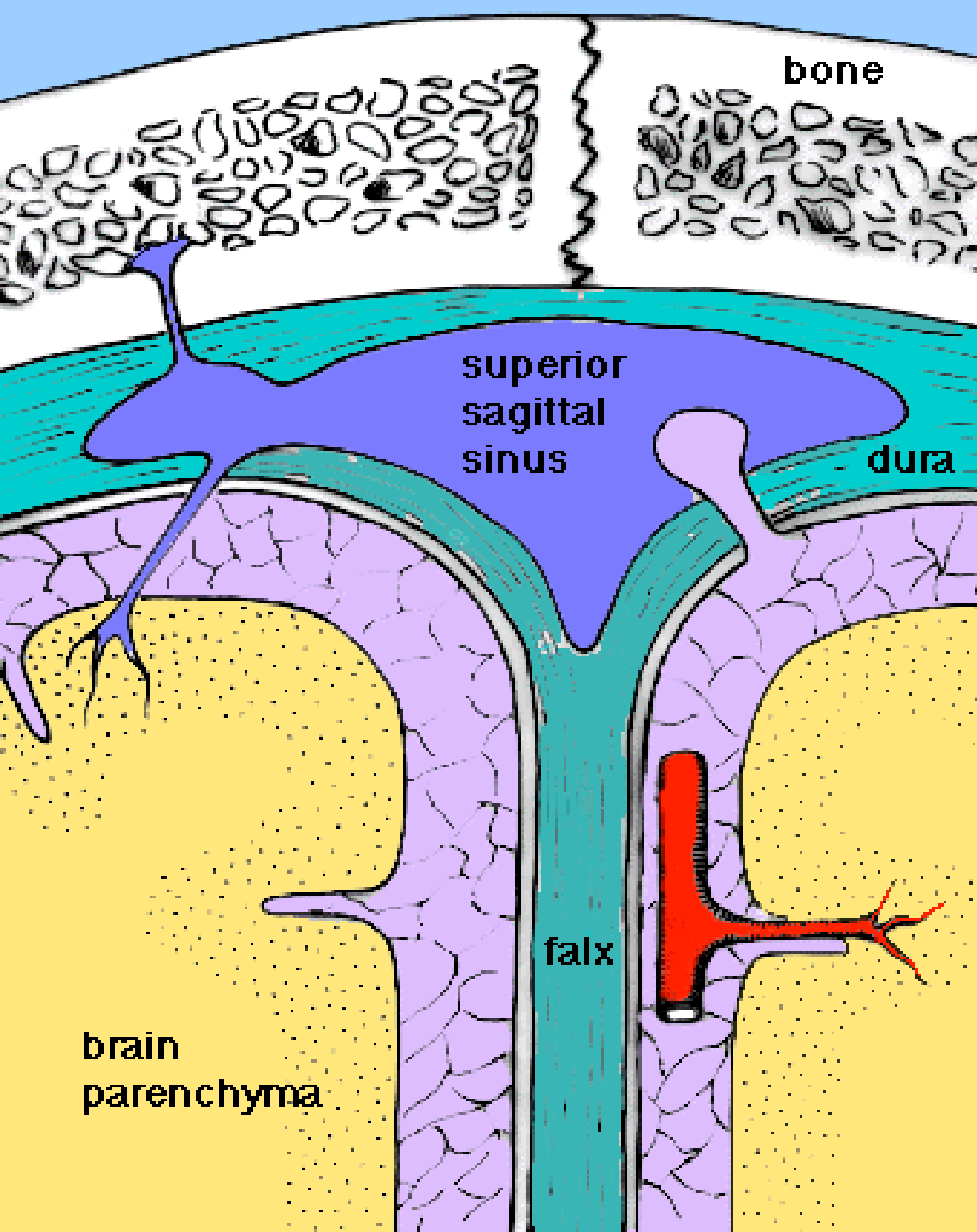
Brain





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

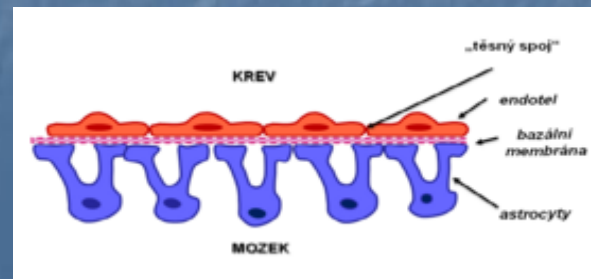
- Mechanická ochrana mozku a míchy
- Ochrana proti patogenům
- Přísun živin, hormonů
- Homeostáza

Bariéry

- Stálá výměna látek – plocha asi 9m^2
 - krev – likvor
 - mozek – likvor
 - krev – mozek
- Mechanismy – mechanické, enzymatické (specifické přenašeče..)

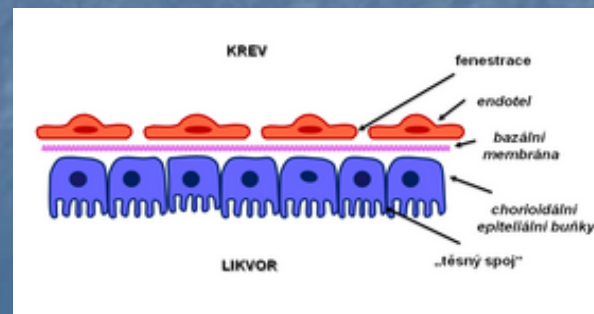
Hematoencephalická bariéra

- Bariéra mezi krevními vlásečnicemi a mozkovou tkání
- Je tvořena endotelem a bazální membránou kapilár a vrstvou astrocytů
- Přestup látek z krve do mozku se uskutečňuje na podkladě jejich rozpustnosti v tucích nebo pomocí přenašečových systémů
- Snadno prostupuje alkohol, nikotin, plyny



Hematolikvorová bariéra

- Odděluje krev a mozkomíšní mok
- Tvořena epitelem chorioideálních plexů
- Látky přechází difuzí a aktivním transportem
- Umožňuje přestup proteinů



Encephalolikvorová bariéra

- Je tvořena vrstvou gliových vláken na povrchu mozku a ependymem komor.
- Tato bariéra je propustnější než hematolikvorová bariéra.
- Průnik látek se děje mezibuněčnými štěrbinami.

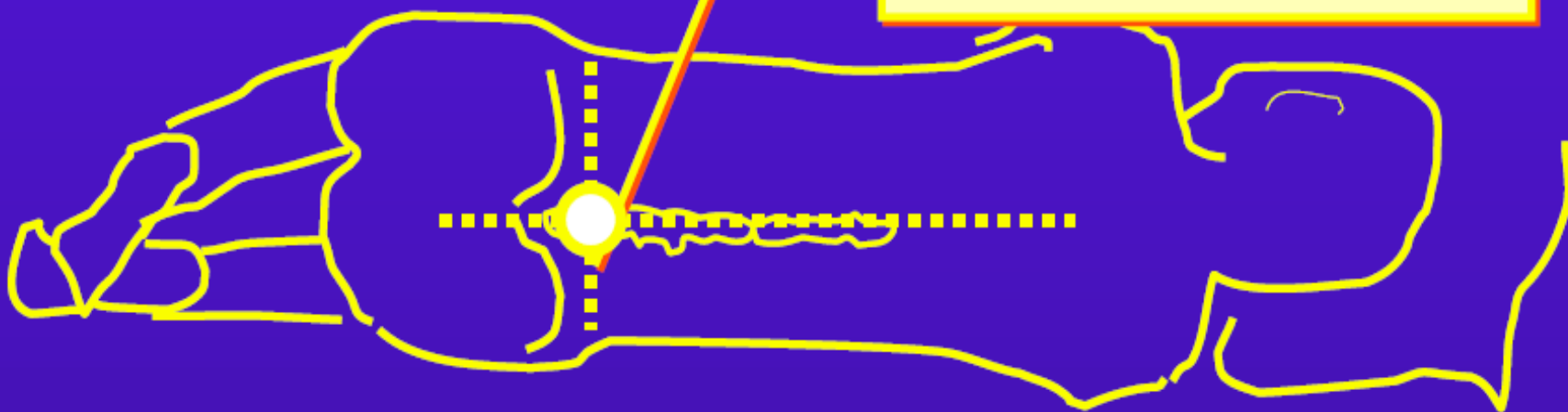
Odběr

- Lumbální punkce
- Subokcipitální, ventrikulární
- Rychlé doručení do laboratoře
(do 1 hod. od odběru)
- Krvavý likvor (nutno stočit do 10 min.)

Odběr likvoru

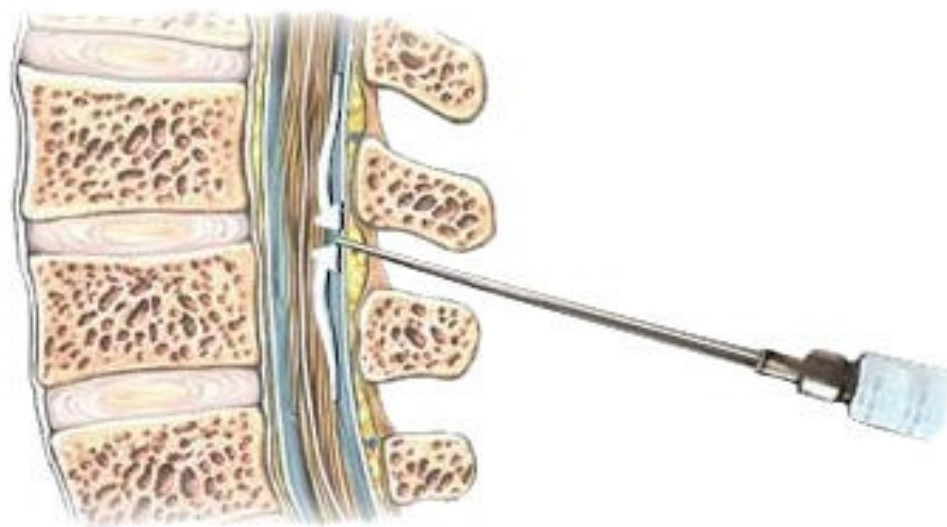
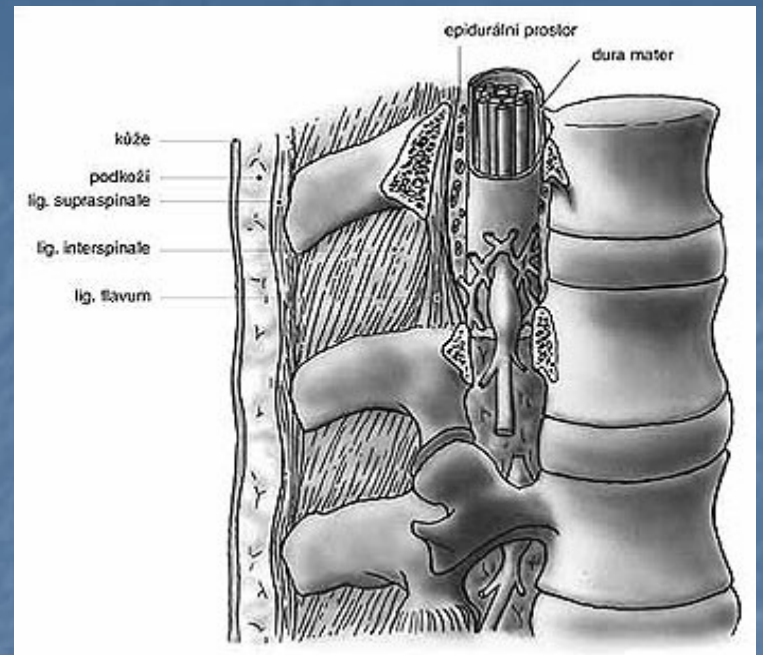
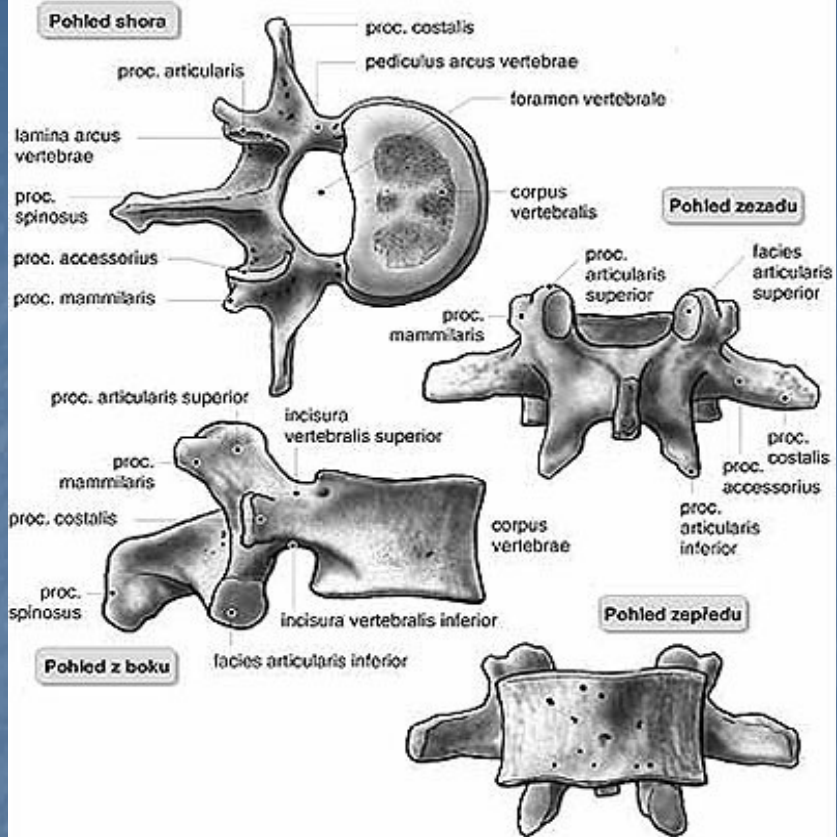
Lumbální punkce

Místo vpichu je na spojnici vrcholů kostí kyčelních a křížení s páteří v místě L4



Odběr se provádí pomocí jehly s mandrenem do sterilních zkumavek.
Množství u dospělého činí 10-15 ml.





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

Vzhled

- Čirá, bezbarvá tekutina
- Zákal – hnisavé záněty
- Barva
 - xantochromní (nažloutlá)
 - hnisavý zánět, obstrukce, starší krvácení, vysoký S-bilirubin
 - sanguinolentní (načervenalá) příměs krve
 - Krvácení nebo arteficiální příměs



Čirý, bezbarvý



Zakalený



Nažloutlý



Sangvinolentní

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-fotometrie reakce s benzethoniumchloridem

Glukóza

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

Metoda stanovení-fotometrie hexokinázová reakce

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

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

Imunoglobuliny

■ Zdroj – sérum

lokální syntéza

- 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

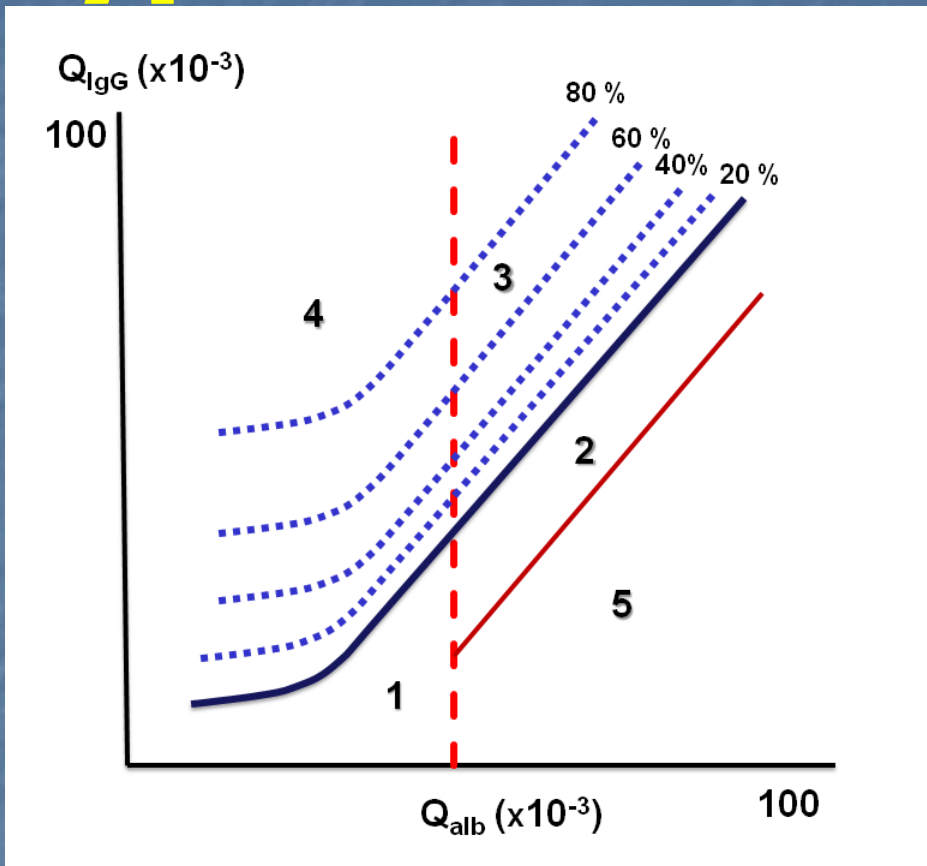
perivaskulární infiltráty lymfocytů B, které lokálně proliferují a dozrávají v plazmocyty a produkují protilátky



Intratékální syntéza Ig

- 1. Kvantitativní-výpočet dle Reibera
- 2. Kvalitativní-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.

Interpretace patologických nálezů s ohledem na funkci hematolikvorové bariéry a intratékální syntézu:

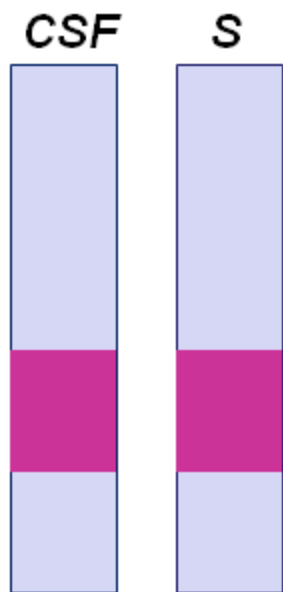
- **Porucha funkce HLB bez intratékální syntézy:** polyradikuloneuritida Guillain-Barré, akutní stadium purulentní meningitidy, tumory CNS
- **Porucha funkce HLB s intratékální syntézou:** purulentní meningitidy, TBC meningitidy a mozkový absces, neurolyues a herpetická encefalitida, neuroborrelióza
- **Intratékální syntéza se zachováním funkce HLB:** roztroušená skleróza, HIV a některé další virové encefalitidy.

Výpočet dle Reibera

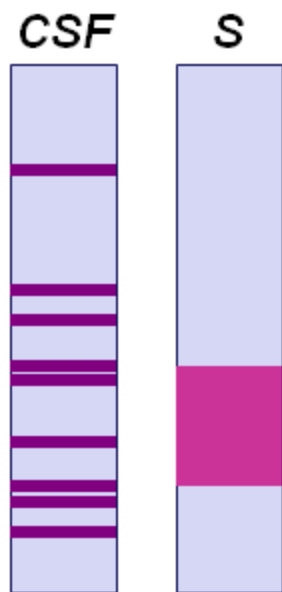
- 1. $Q_{Lim}(IgG) = 0.93 \times \sqrt{(Q_{alb})^2 + 6 \times 10^{-3}} - 1.7 \times 10^{-3}$
 $Q_{Lim}(IgA) = 0.77 \times \sqrt{(Q_{alb})^2 + 23 \times 10^{-3}} - 3.1 \times 10^{-3}$
 $Q_{Lim}(IgM) = 0.93 \times \sqrt{(Q_{alb})^2 + 6 \times 10^{-3}} - 1.7 \times 10^{-3}$
- 2. $IgG_{Loc} = (Q_{IgG} - Q_{lim_{IgG}}) \times IgG_s \text{ (mg} \times 1^{-1}\text{)}$
- 3. $IgG_{ITH} = (1 - Q_{lim_{IgG}}/Q_{IgG}) \times 100\%$

Izoelektrická fokuzace

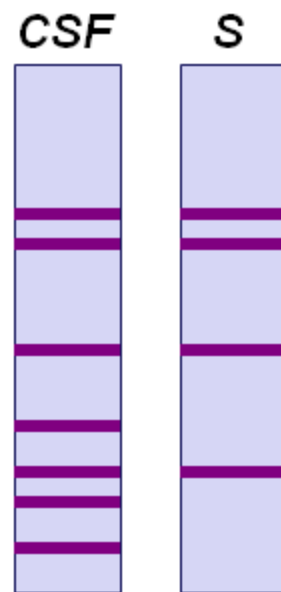
- Elektroforéza v gradientu pH – rozdělení podle izoelektrického bodu jednotlivých bílkovin
- Současně se analyzuje i sérum
- Významný je nálezn, kdy nacházíme proužky v likvoru, které nejsou v séru – znamená intratekální syntézu Ig



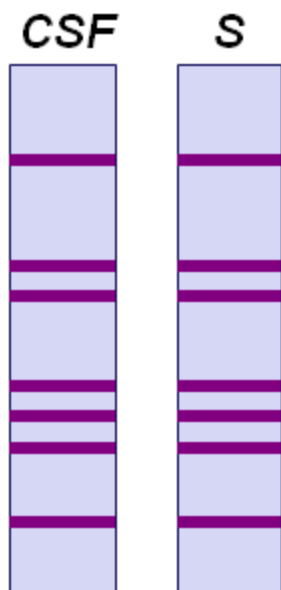
Typ 1



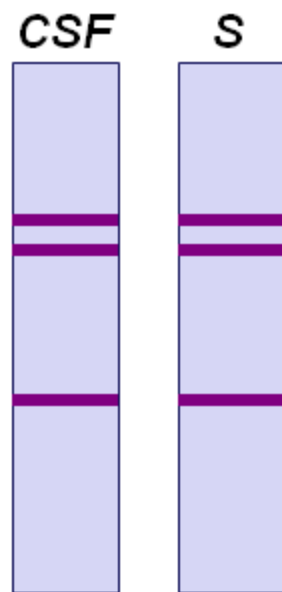
Typ 2



Typ 3



Typ 4



Typ 5



HYDRASYS H-C 401i

pipette

Control panel of the Hydrasys pipette, including a numeric keypad (0-9), a directional pad, and function buttons labeled STOP, START, and PAUSE. There are also green indicator lights above the screen.

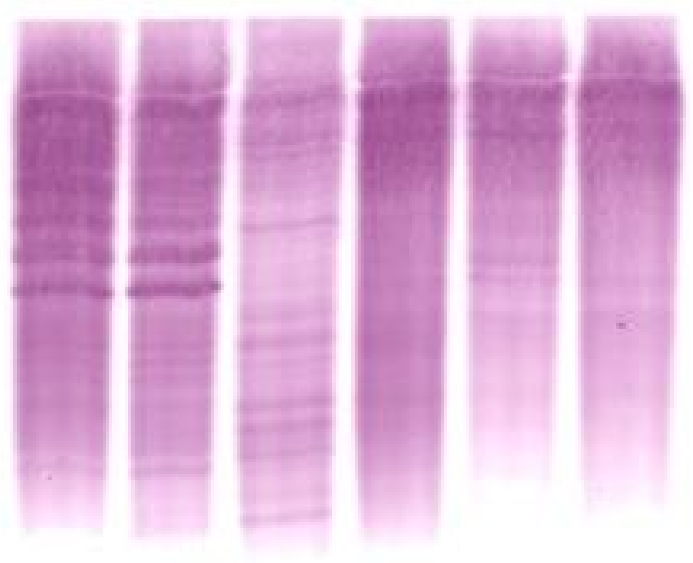
PRONVAC 0
1 Laminar
na 2 ml 0

PRONVAC 0
1 Laminar
na 5 L

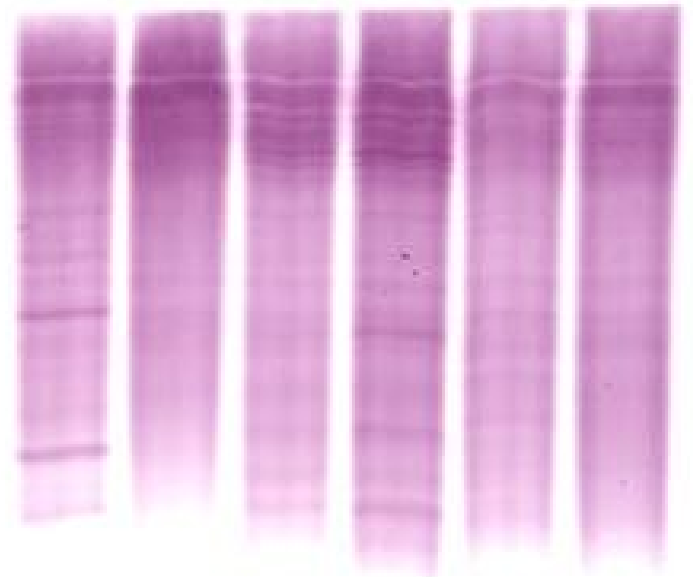
RTACE

RTS

L S L S L S



L S L S L S



MZR reakce

- specifická reakce MZR (morbilli, rubeola a varicella zoster)
- Jako reakce MZR se označuje intratékální syntéza specifických protilátek třídy IgG proti neurotropním virům spalniček, zarděnek a planých neštovic.
- Přítomnost reakce MZR je vysvětlována moderní teorií imunitní sítě, ve které každá imunologická reakce indukovaná konkrétním antigenem postihuje celou imunitní síť. Kromě specifických protilátek proti vyvolávajícímu agens je zvýšena produkce mnoha dalších protilátek a autoproti látek

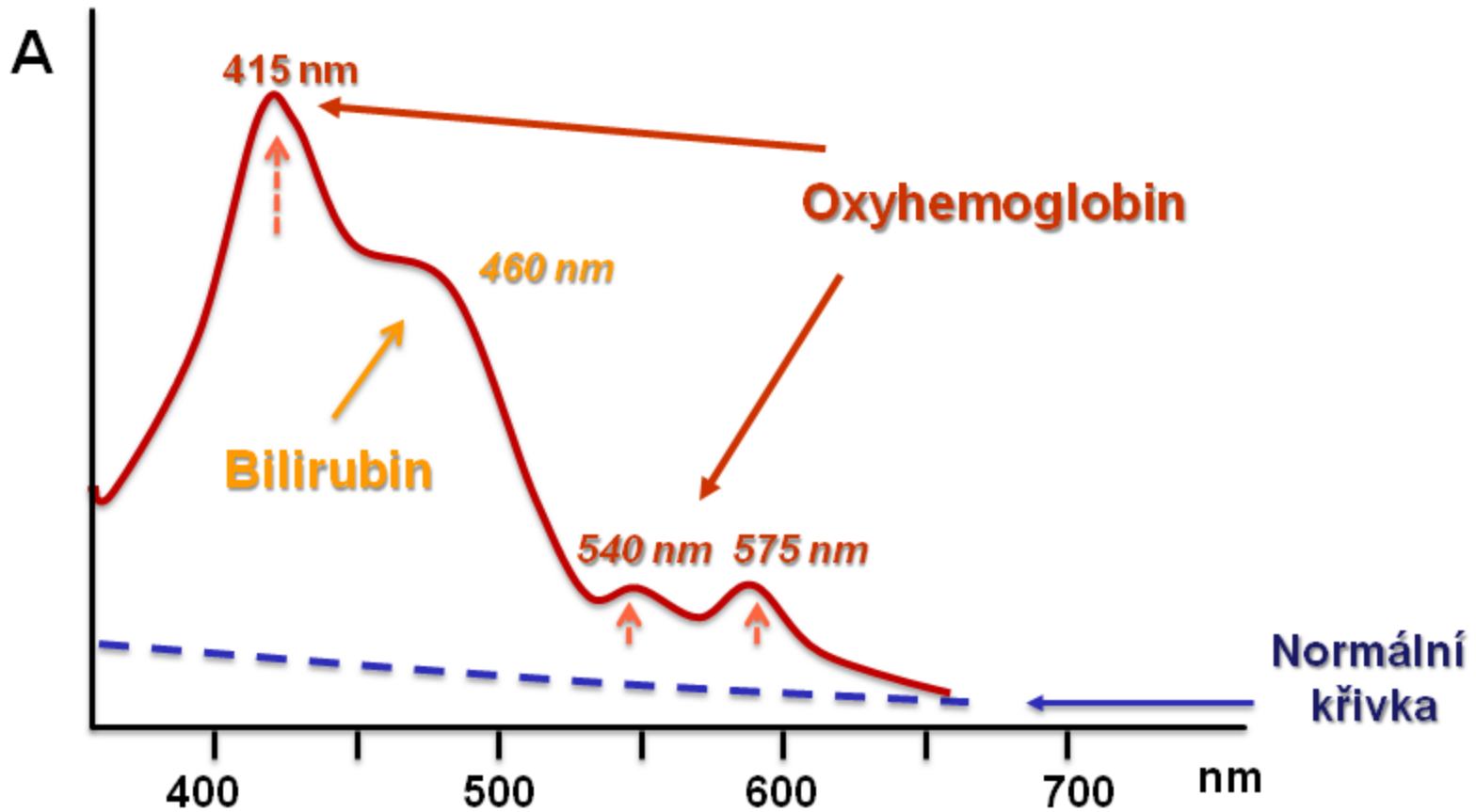
Perspektivy vývoje vyšetření likvoru

- Diagnostika degenerativních onemocnění a prionových infekcí – stanovení **14-3-3 proteinu** v likvoru.
- Diagnostika Alzheimerovy choroby – stanovení **β -amyloidu**, **τ -proteinu** a **fosfo- τ -proteinu**. **Cystatin C** patří mezi inhibitory cysteinových proteáz, u pacientů s neurodegenerativními chorobami CNS nacházíme zvýšené hodnoty cystatinu C v likvoru.
- Strukturální protein **S-100** patří do rodiny proteinů vážících vápník. Zvýšená hodnota S100 může svědčit pro poruchu neuronového postižení.
- **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 zmnožením lymfocytárních a makrofagických elementů.
- U pacientů s roztroušenou sklerózou byla zkoumána přítomnost **neuronálních protilátek** – v likvoru byly nalezeny protilátky proti molekulám myelinového obalu. Jde především o **myelinový bazický protein** (MBP) ze skupiny strukturálních proteinů, který je základem myelinu. Protilátky proti MBP odrážejí míru myelinové destrukce.

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.

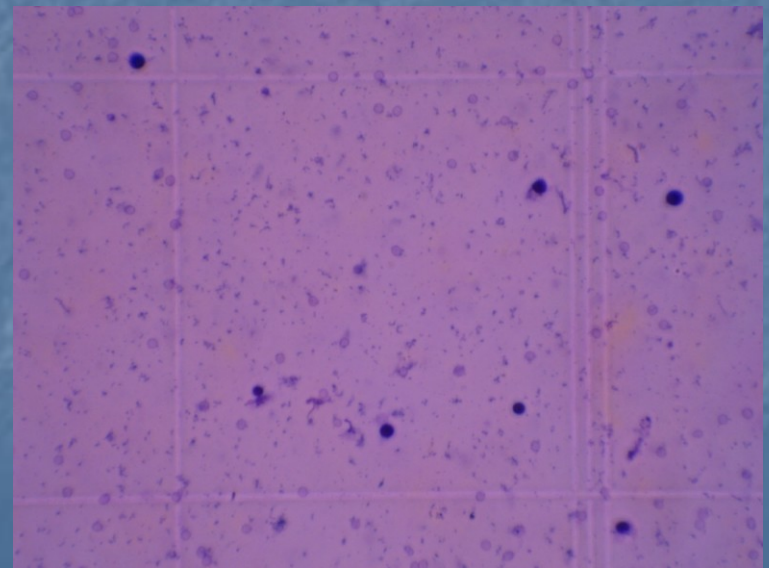
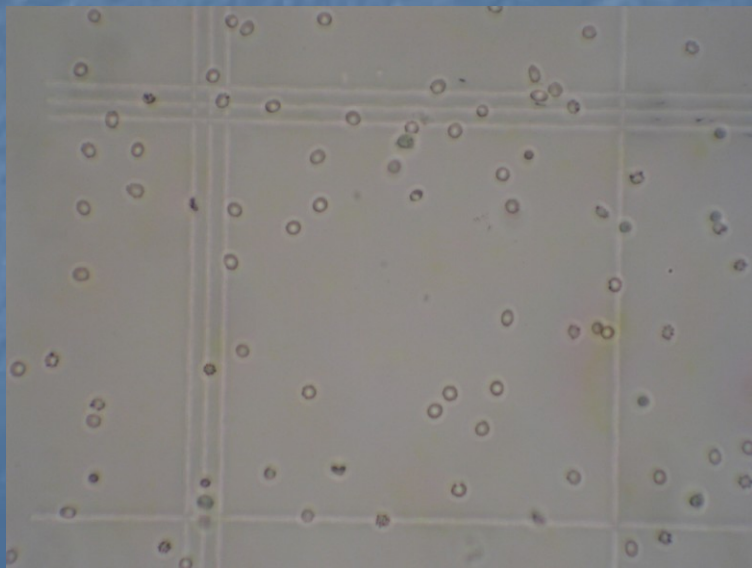
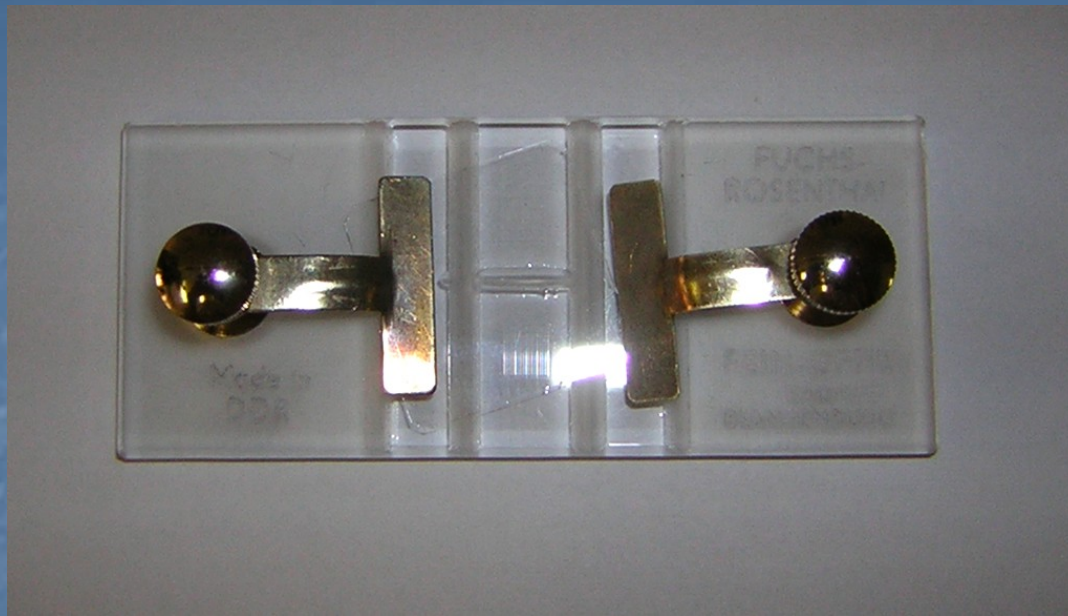
Spektrofotometrie likvoru



Cytologie likvoru

Kvantitativní

- Fuchs Rosenthalova komůrka (objem 3 μl)
- počet elementů/ μl
- barvení roztokem kys. fuchsinu
- málo spolehlivá diferenciacce jaderných elementů
- ref.meze : 0-3 elementy/ μl
(novor. do 15/ μl)



Kvalitativní

- Trvalý cytologický preparát
- Cytocentrifugace, cytosedimentace
- Obarvení (podle Pappenheima)
- Cytologická diagnostika –
zhodnocení zastoupení jednotlivých
buněčných typů, funkční stav buněk

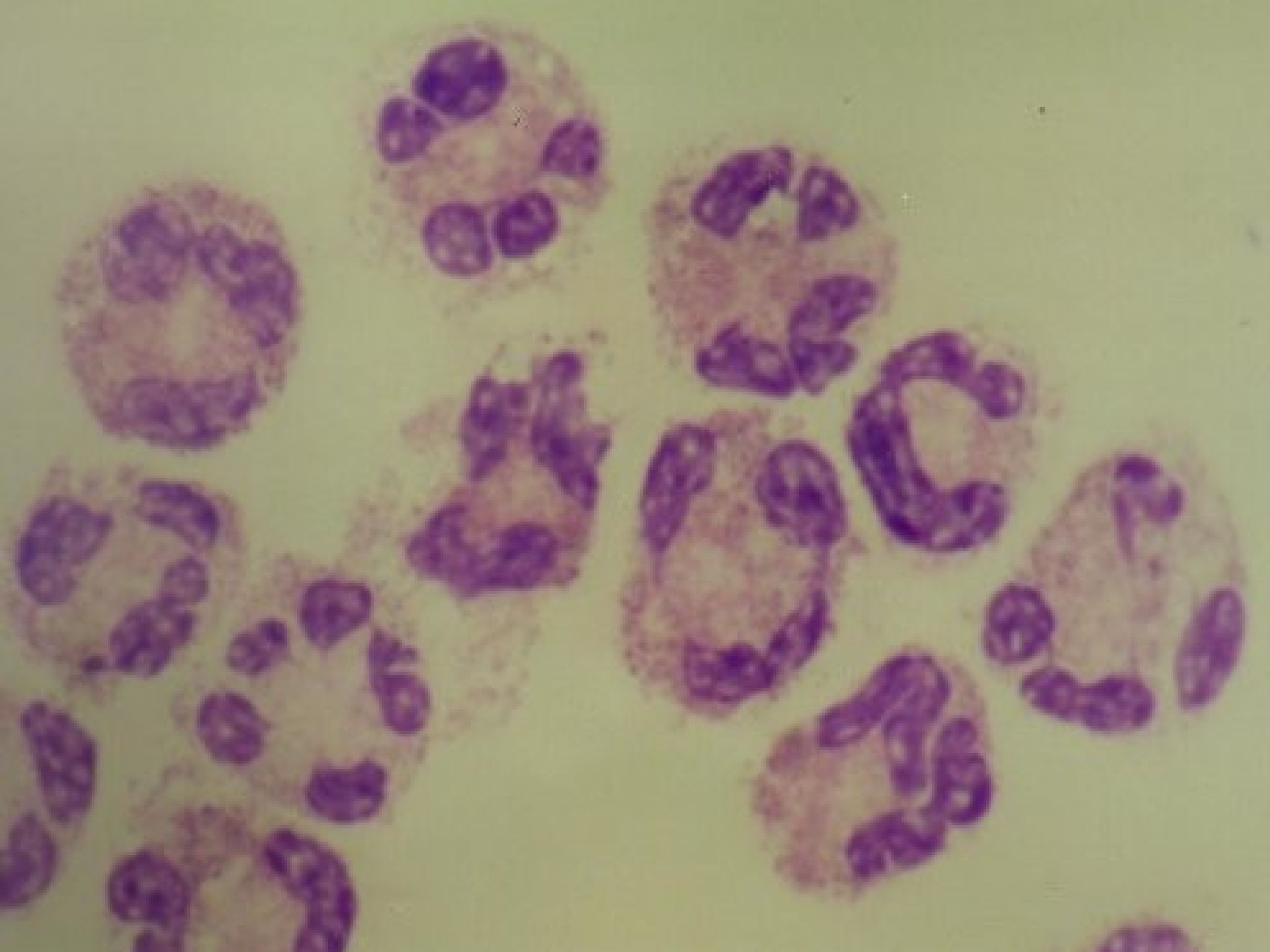


Typy buněk v likvoru

- Polynukleáry
- Lymfocyty
- Monocyty
- Tumorové buňky

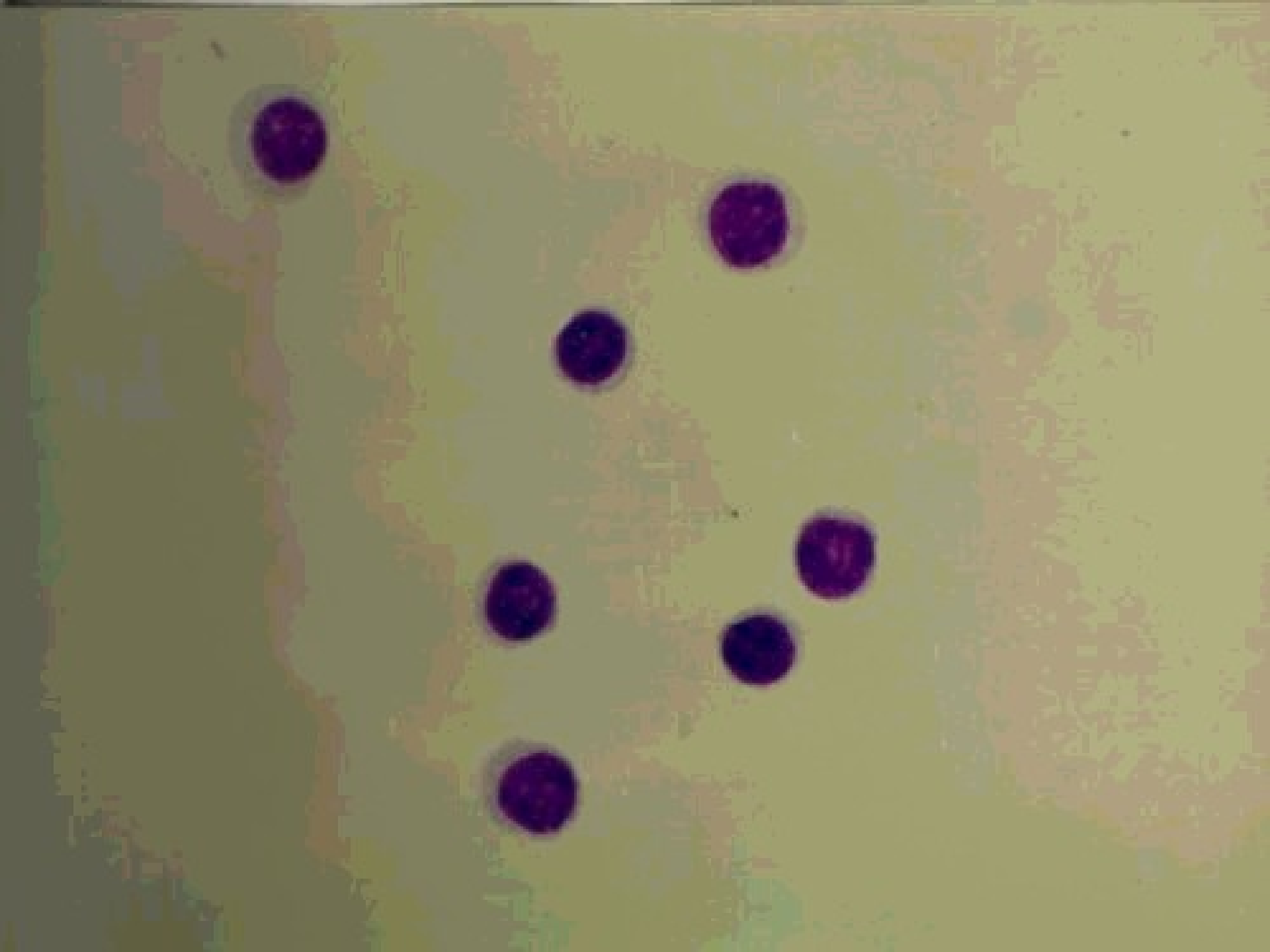
Polynukleáry

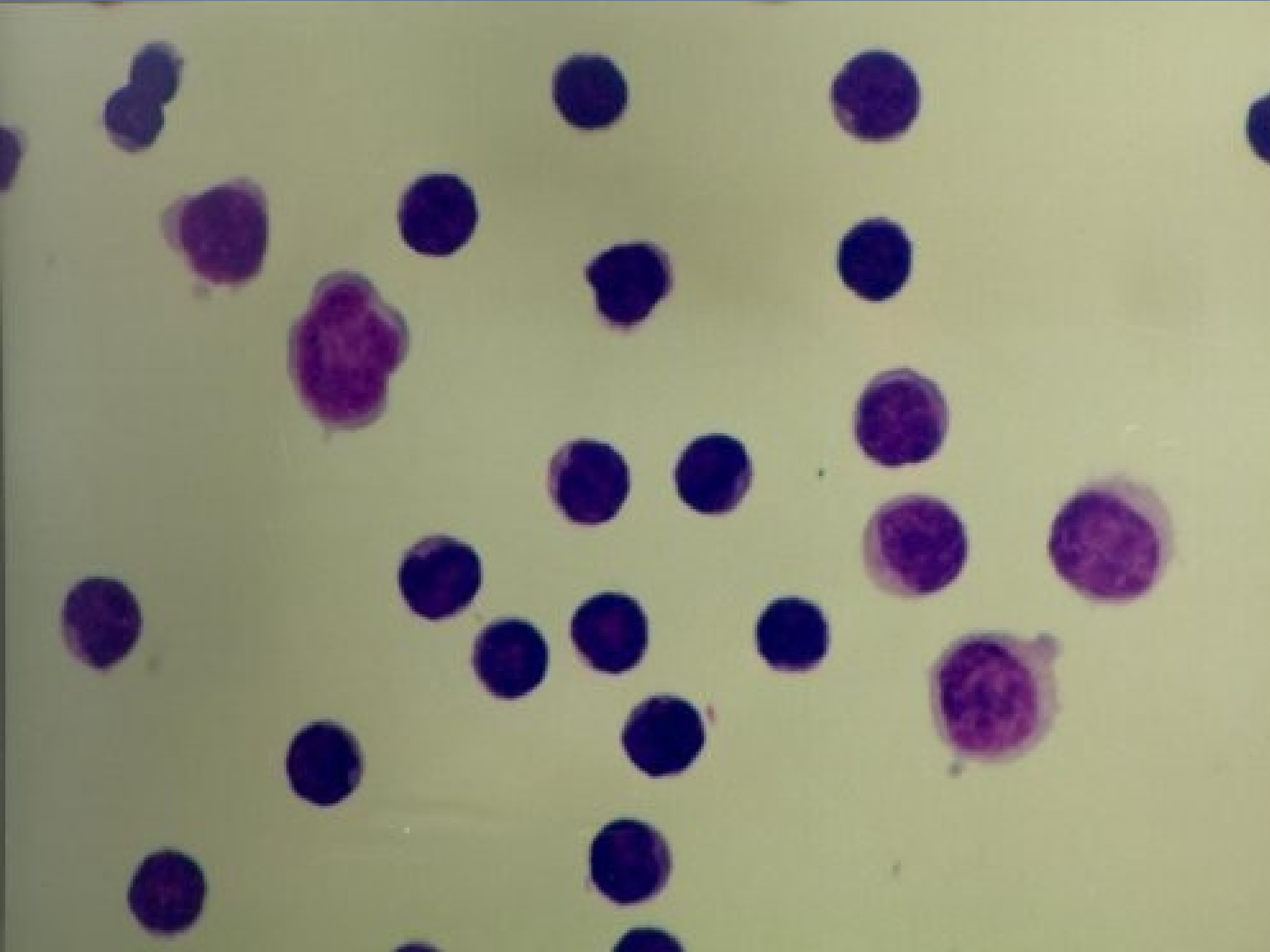
- Zodpovědné za rychlou nespecifickou imunitní reakci, fagocytóza bakterií
- Výskyt v začátcích patologických procesů
- Krátká životnost, po splnění funkce hynou
- Bakteriální záněty



Lymfocyty

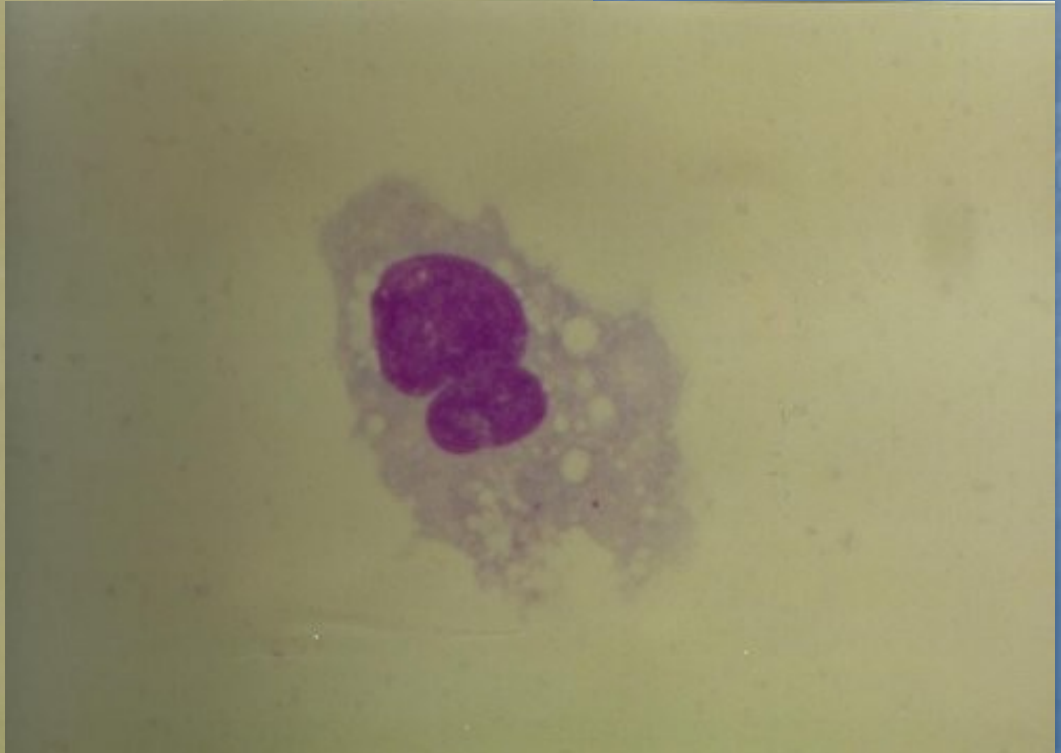
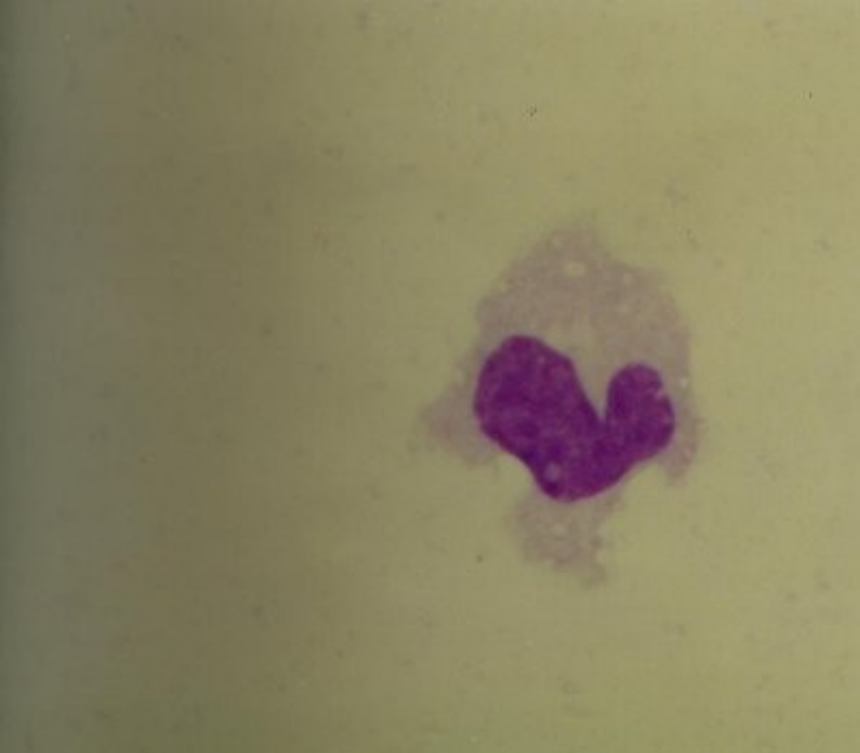
- Specifická imunitní reakce (pomalá, získaná)
- Produkce protilátek, cytolýza
- Virové záněty
- Autoimunitní záněty





Monocyty

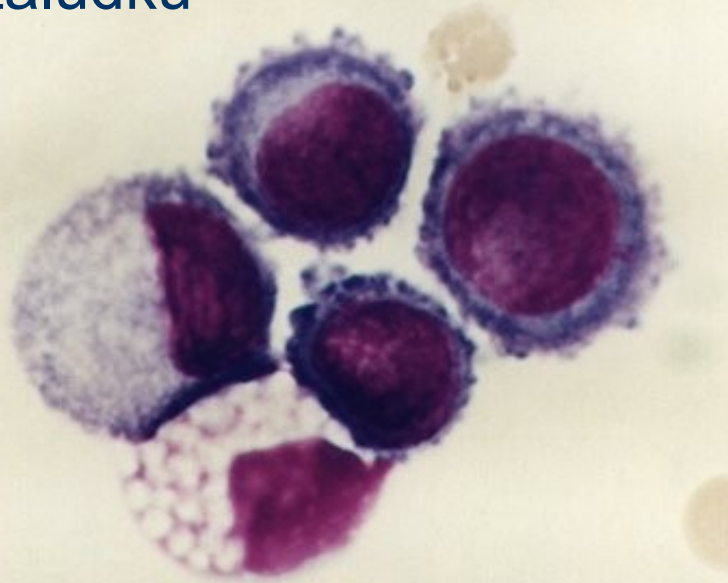
- Velká výkonnost, dlouhá životnost
- Nespecifická imunita
- Fagocytóza, úklidové reakce
- Virové záněty, poškození vlastních buněk



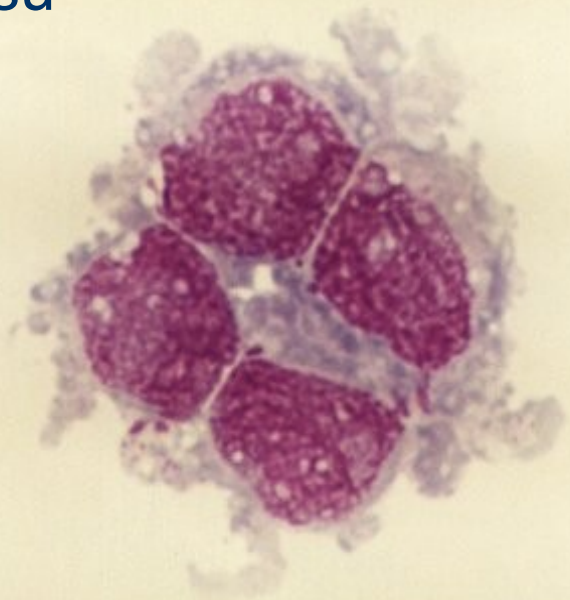
Tumorové buňky

- Nádory mozku
- Metastázy nádorů
- Hematologické malignity

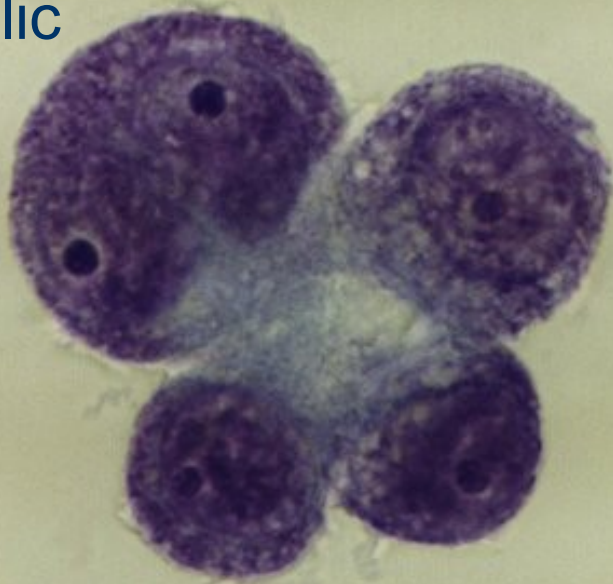
CA žaludku



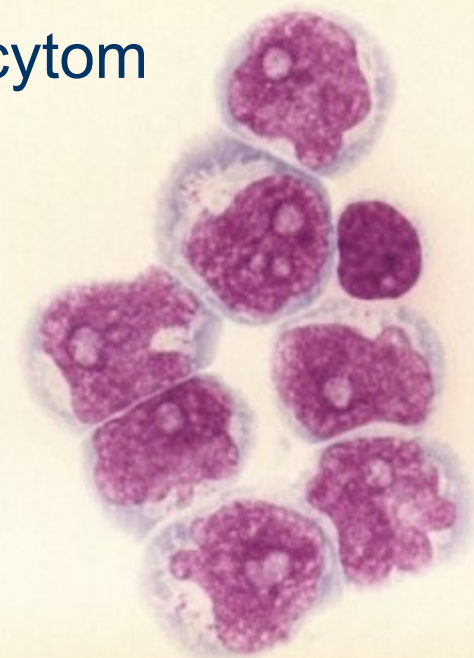
CA prsu



CA plic



histiocytom

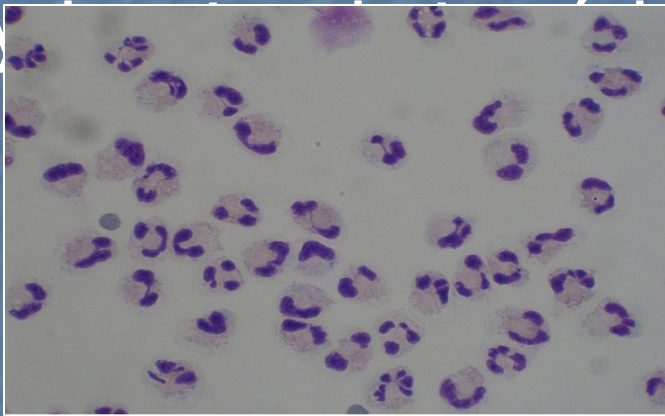


Fyziologický nále

- Oligocytóza
- Lymfocyty 50-80%, monocyty 20-50%
- Převaha klidových forem
- Žádné lymfoplazmocyty
- Žádné polynukleáry (vyjímka novorozenci a kojenci)

Typy cytologických likvorových nálezů

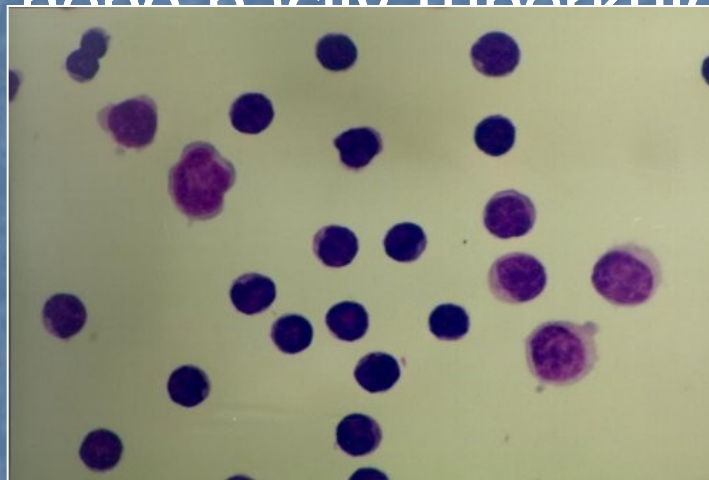
- **Granulocytární pleocytóza** s převahou neutrofilů se vyskytuje v akutních zánětech



- **Granulocytární oligocytóza** je častá v počáteční fázi nehnisavých zánětů nebo mozkové ischemie

Typy cytologických likvorových nálezů

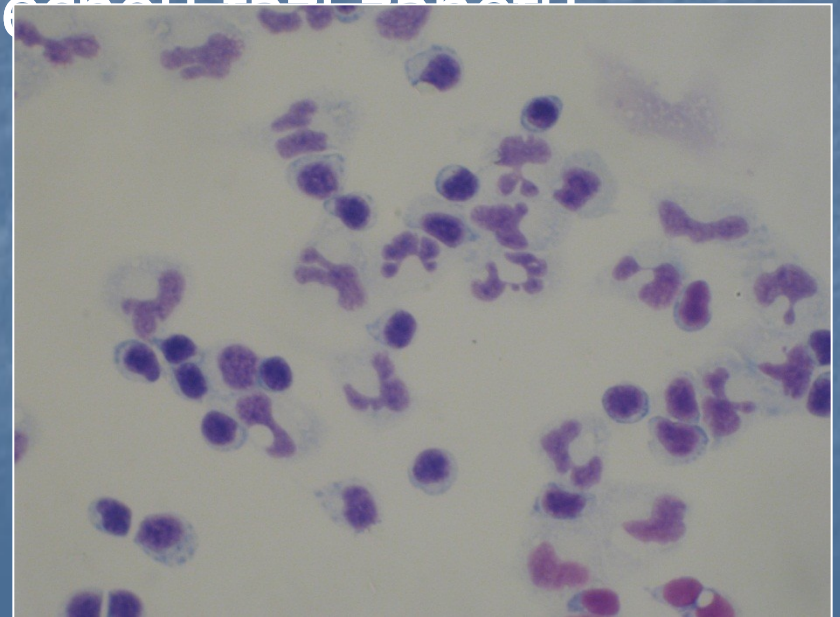
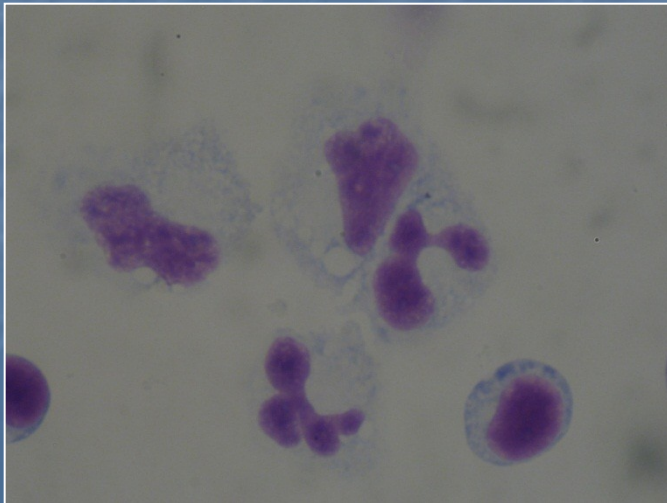
- **Lymfocytární pleocytóza** se vyskytuje u nehnisavých zánětlivých onemocnění (infekce virové, infekce způsobené borreliemi, leptospirami nebo bacily tuberkulózy)



- **Lymfocytární oligocytóza** se často nachází v počáteční fázi roztroušené sklerózy.

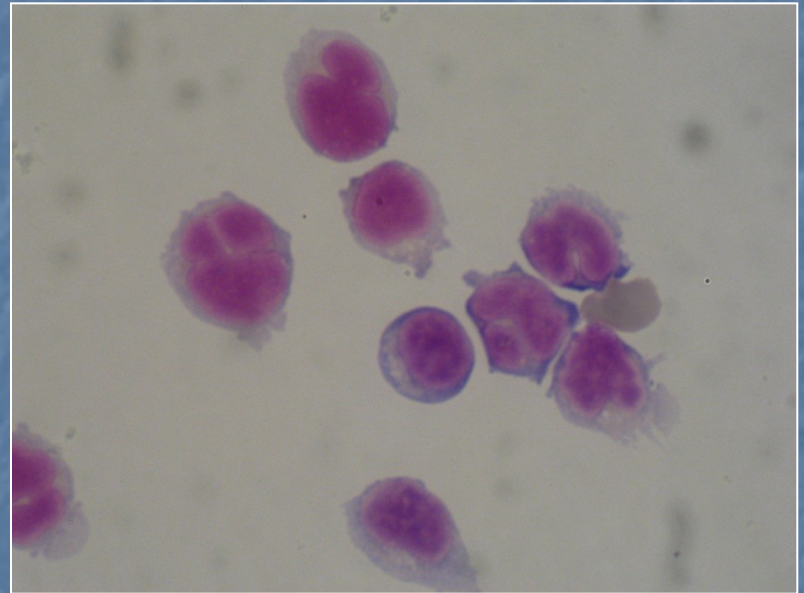
Typy cytologických likvorových nálezů

- **Monocytární pleocytóza** nebo **oligocytóza** s nálezem aktivovaných monocytů je nespecifickým nálezem charakteristickým pro neinfekční onemocnění – kompresivní syndrom, autoimunitní onemocnění. Nález je také charakteristický pro konečnou fázi zánětu.



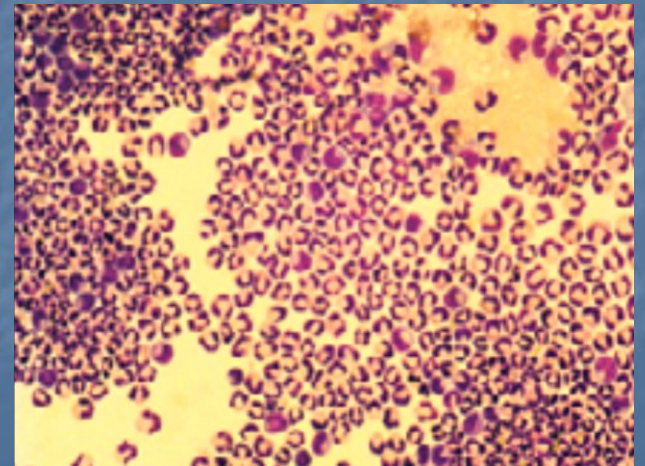
Typy cytologických likvorových nálezů

- **Tumorózní pleocytóza** nebo **oligocytóza** svědčí pro maligní onemocnění.



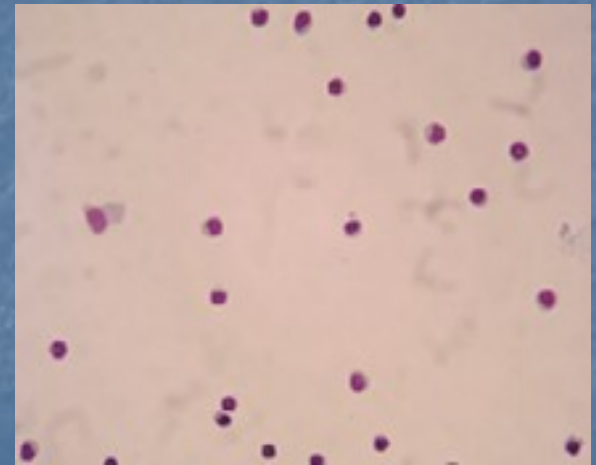
Bakteriální zánět

- Počet granulocytů vysoký (až tisíce)
- CB > 1 g/l
- Laktát > 4,2 mmol/l
- Glukóza výrazně snižena (až nulová)



Virový zánět

- Počet buněčných elementů různý – desítky, stovky
- Převaha lymfocytů, aktivované formy a přítomnost plazmocyttů
- CB < 1 g/l
- Laktát < 4,2 mmol/l
- Glukóza
 - nedochází ke snížení



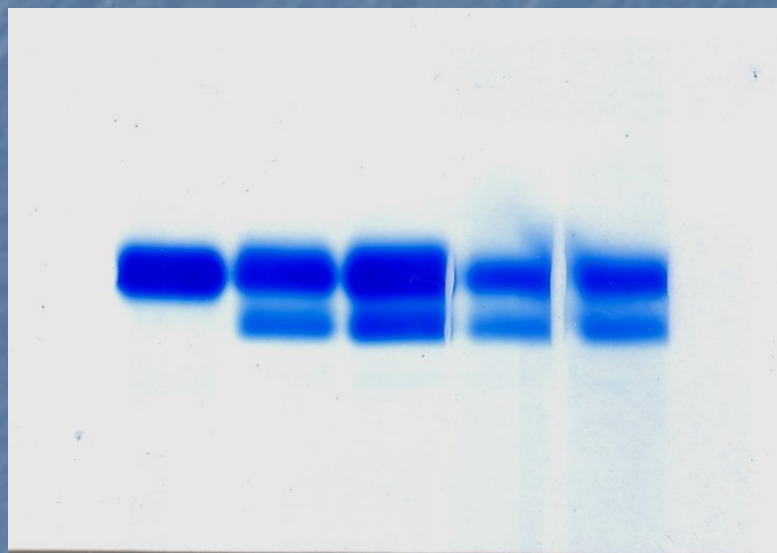
Průkaz přítomnosti likvoru

- V sekretech z nosu a ucha
- Specifické bílkoviny
- β_2 transferin
- stanovení – elektroforéza s následnou imunofixací

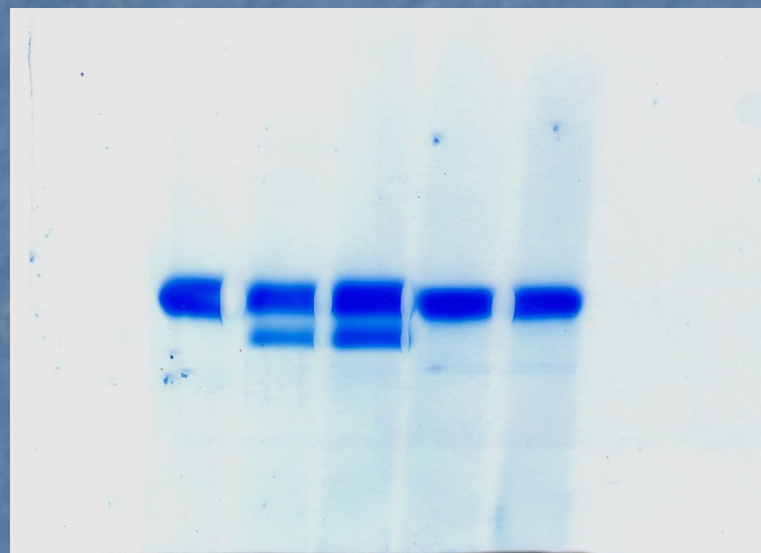
Průkaz likvorey

- 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.

Pozitivní



Negativní



Stanovení beta 2 transferinu

