



Biochemické vyšetření mozkomíšního moku

MUDr. Zdeňka Čermáková
OKB FN Brno

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: $\leq 8 \times 10^{-3}$

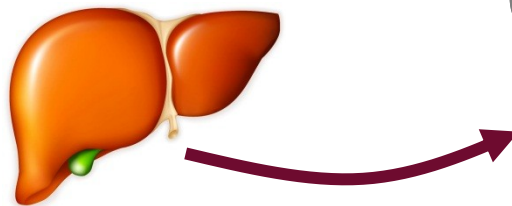
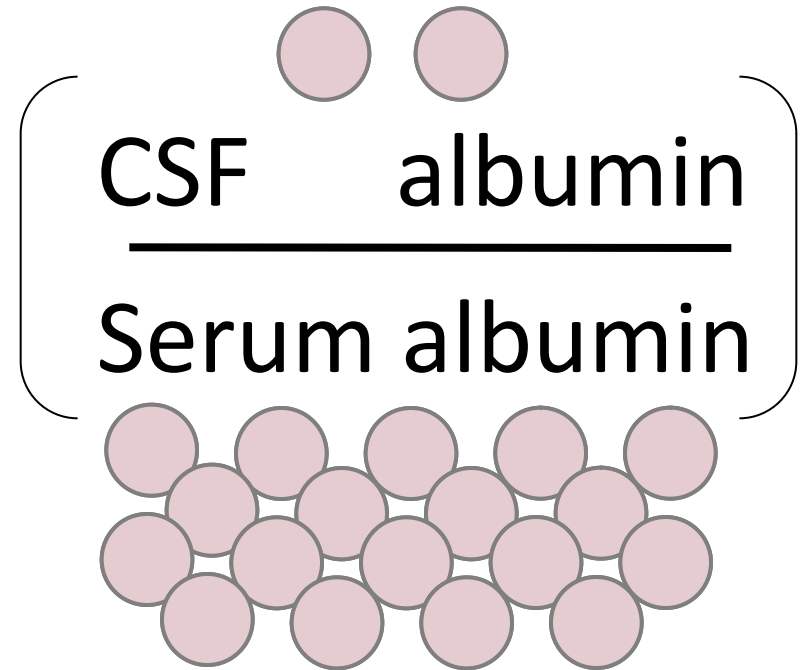
Albuminový kvocient se využívá k matematickému vyjádření funkce hematolikvorové bariéry:

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

The albumin quotient (Q_{Alb})

Normal individuals

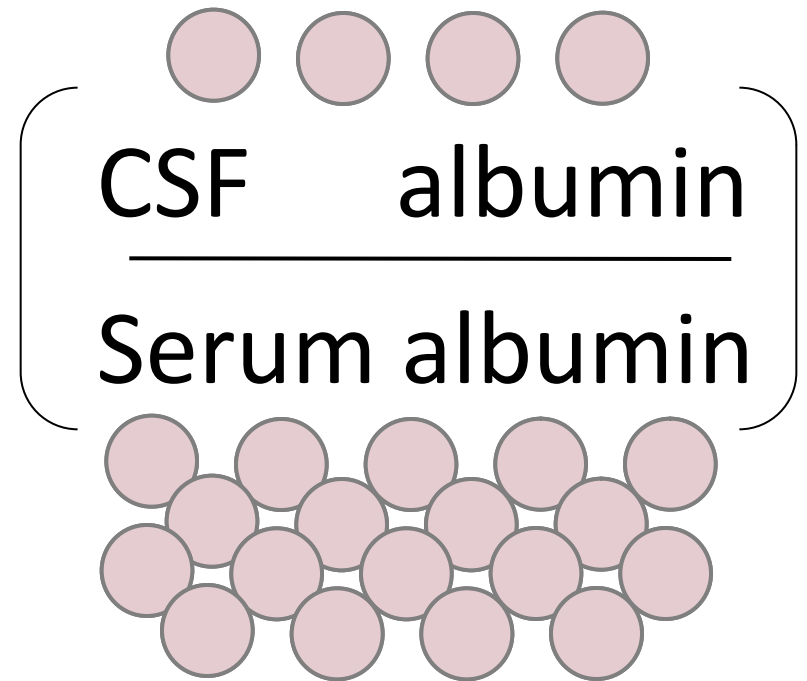
Albumin quotient =
(Q_{Alb})



The albumin quotient (Q_{Alb})

Impaired blood brain barrier

Albumin quotient =
(Q_{Alb})



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**

DELZIA NANO ZETA SIZER
IMMAGE

Humorální imunitní reakce v CNS

○ Dg. imunitní reakce v CNS

- IgG index

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

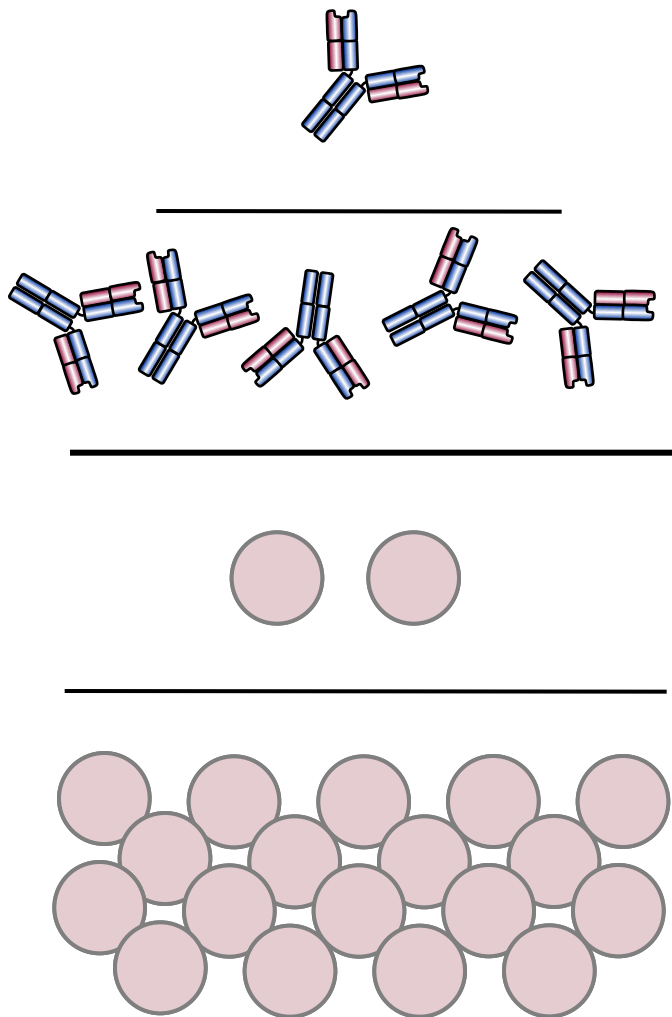
$$IgG_{index} = \frac{IgG_{CSF}/IgG_{sérum}}{Alb_{CSF}/Alb_{sérum}}$$

- Výpočet dle Reibera

- Kvalitativní-izoelektrická fokuzace – průkaz oligoklonálních proužků

$$\text{IgG index} = \frac{Q_{\text{IgG}}}{Q_{\text{Alb}}} = \frac{\left(\frac{\text{CSF IgG}}{\text{Serum IgG}} \right)}{\left(\frac{\text{CSF albumin}}{\text{Serum albumin}} \right)}$$

Normal individuals



=

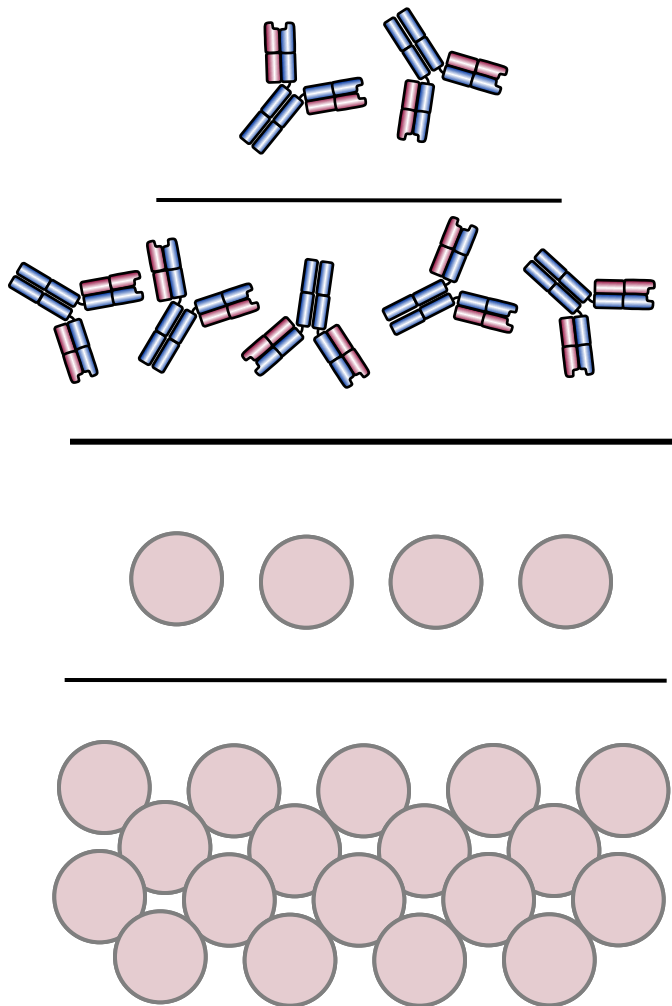
CSF IgG

Serum IgG

CSF albumin

Serum albumin

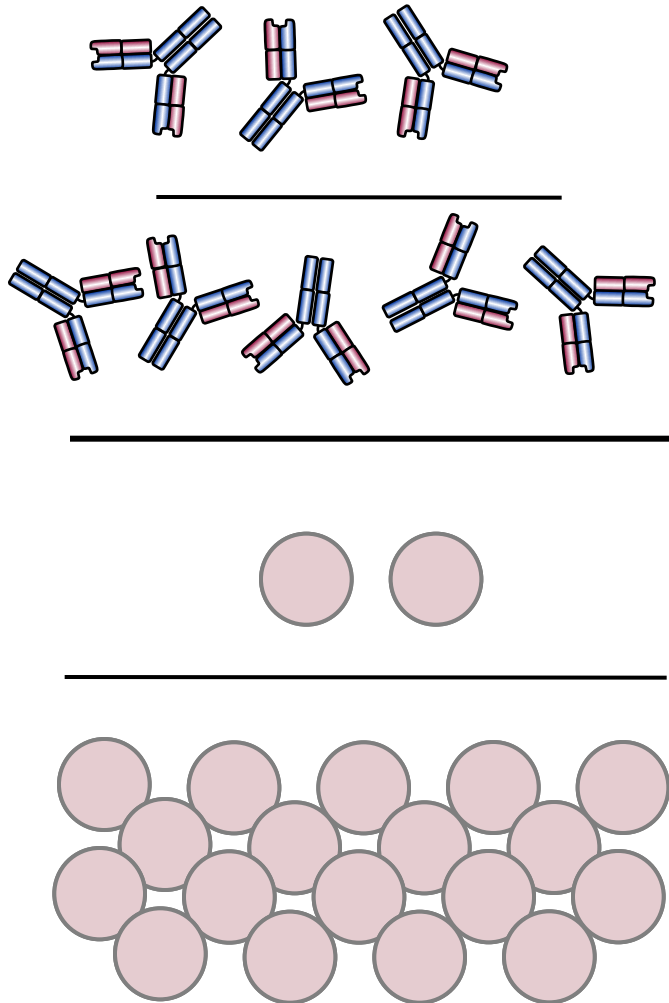
Impaired blood brain barrier



$$\left(\frac{\text{CSF IgG}}{\text{Serum IgG}} \right)$$

$$\left(\frac{\text{CSF albumin}}{\text{Serum albumin}} \right)$$

Multiple sclerosis

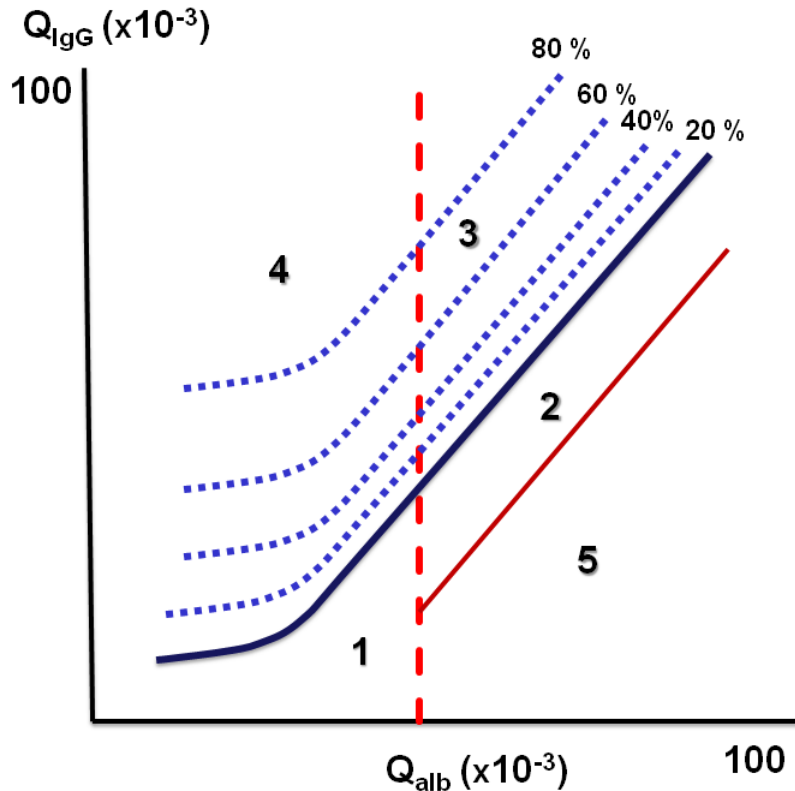


$$\left(\frac{\text{CSF IgG}}{\text{Serum IgG}} \right)$$

=

$$\left(\frac{\text{CSF albumin}}{\text{Serum albumin}} \right)$$

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;

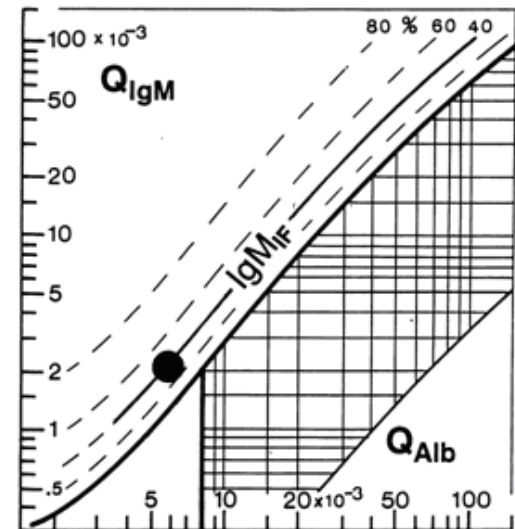
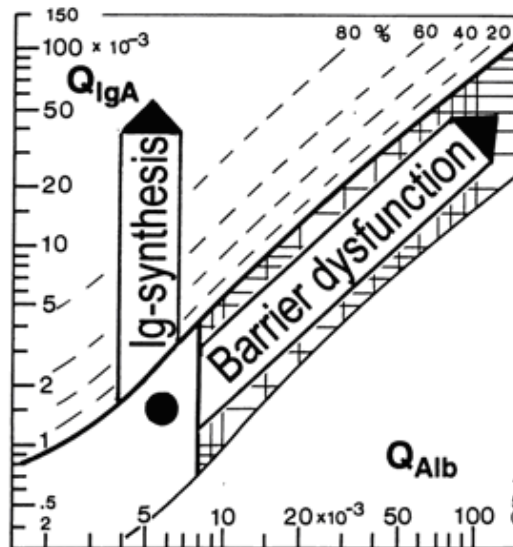
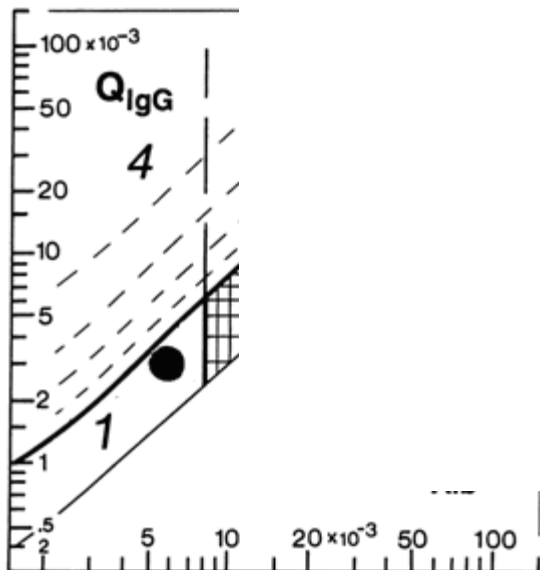
Oblast 5 – oblast analytických chyb.

Vyjádření intratékální protilátkové odpovědi

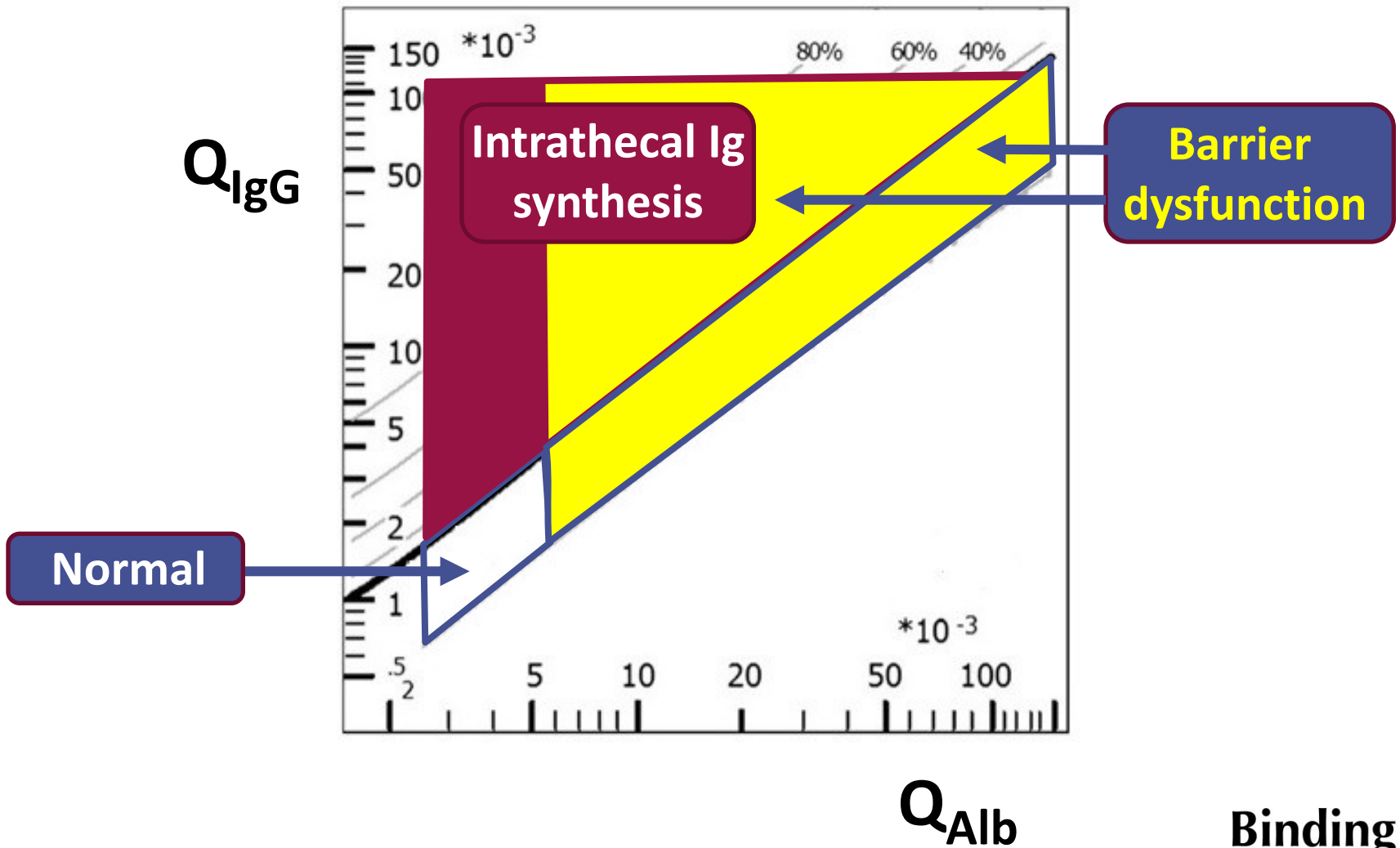
8 Kvantitativní výpočet lokální syntézy Ig dle Reibera

$$Q_{\text{lim Ig}(x)} = \frac{a}{b} \times \sqrt{Q_{\text{alb}}^2 + b^2 - c}$$

$$\text{Ig}X_{\text{loc}} = (Q_{\text{Ig}(x)} - Q_{\text{lim Ig}(x)}) \cdot S_{\text{Ig}(x)}$$



Reibergram



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

- $Q_{\text{Lim(IgG)}} = 0,93 \times \sqrt{QA_{\text{lb}}^2 + (6 \times 10^{-6})} - 1,7 \times 10^{-3}$
- $Q_{\text{Lim(IgM)}} = 0,67 \times \sqrt{QA_{\text{lb}}^2 + (120 \times 10^{-6})} - 7,1 \times 10^{-3}$
- $IgG_{\text{LOC}} = (Q_{\text{IgG}} - Q_{\text{lim}_{\text{IgG}}}) \times IgG_s \text{ (mg} \times \text{1}^{-1}\text{)}$
- $IgG_{\text{ITH}} = (1 - Q_{\text{lim}_{\text{IgG}}} / Q_{\text{IgG}}) \times 100\%$

Kvalitativní-izoelektrická fokuzace – průkaz oligoklonálních proužků

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



HYDRASYS H-C 4011

pipette

Control panel of the Hydrasys pipette, including a numeric keypad (0-9), function buttons (STOP, START, PAUSE), and a directional pad.

PRONIPACE 0
1 Litro na 5L

PRONIPACE 0
1 Litro na 5L

HFACE

HFS

CSF S



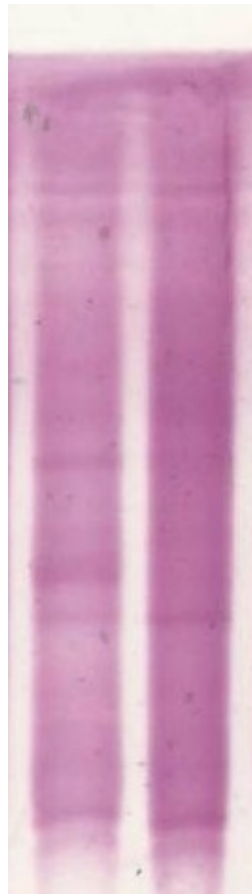
Typ 1

CSF S



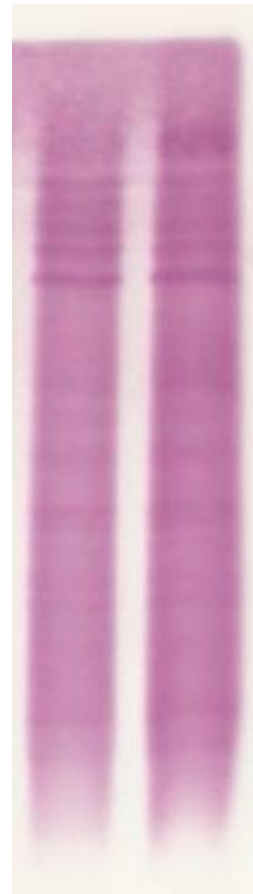
Typ 2

CSF S



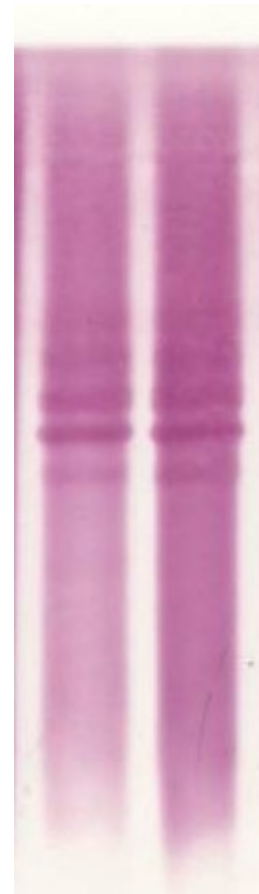
Typ 3

CSF S



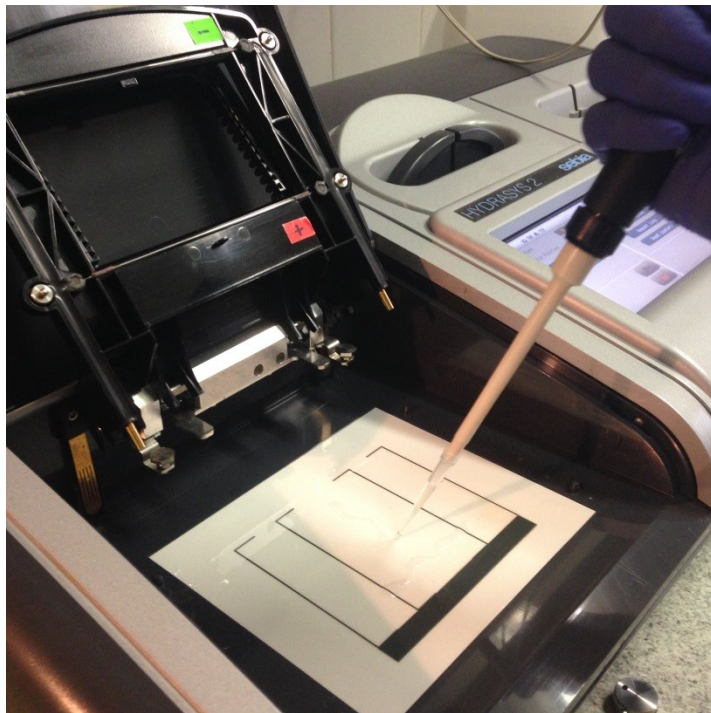
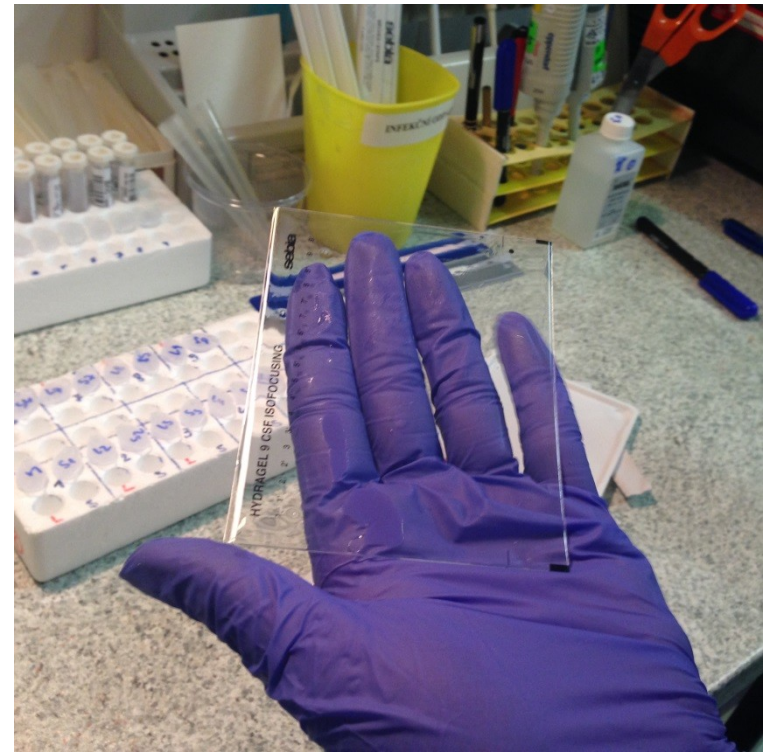
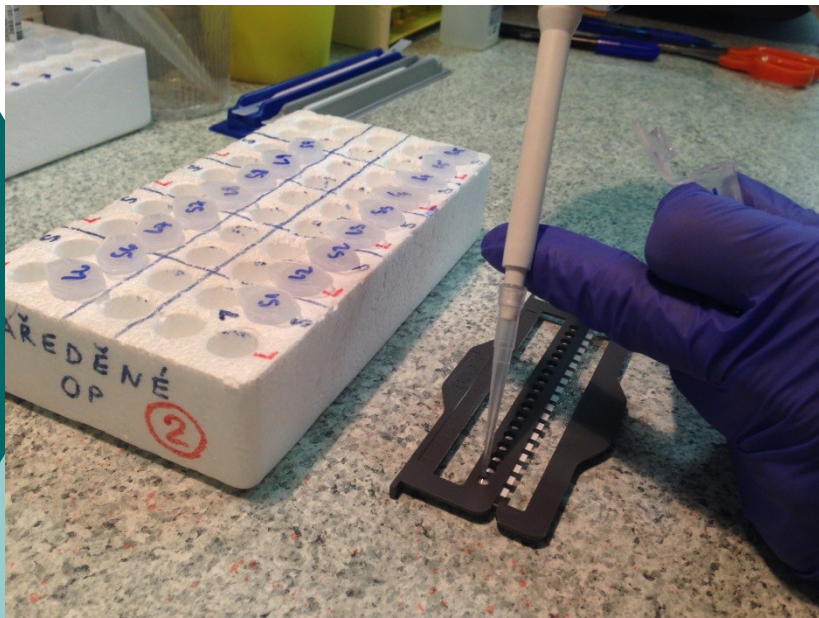
Typ 4

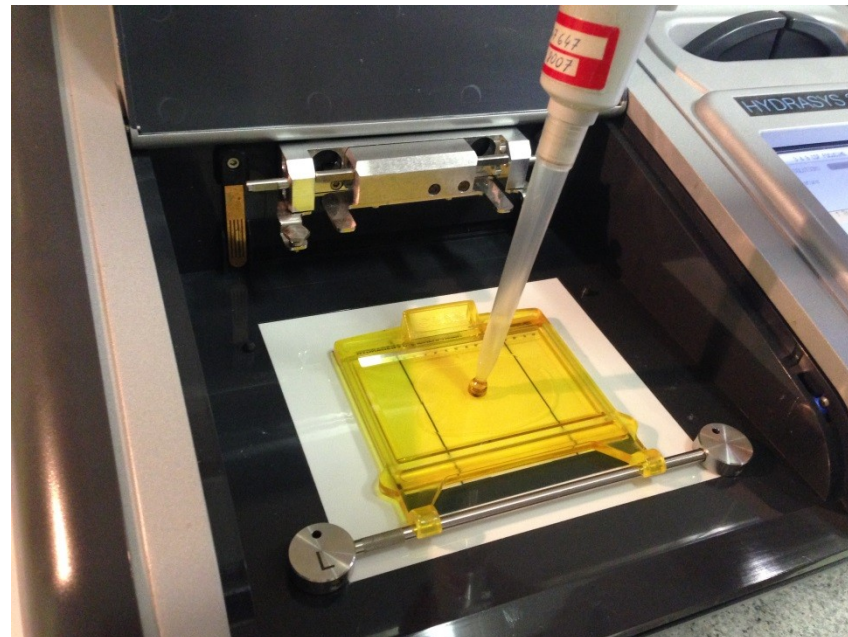
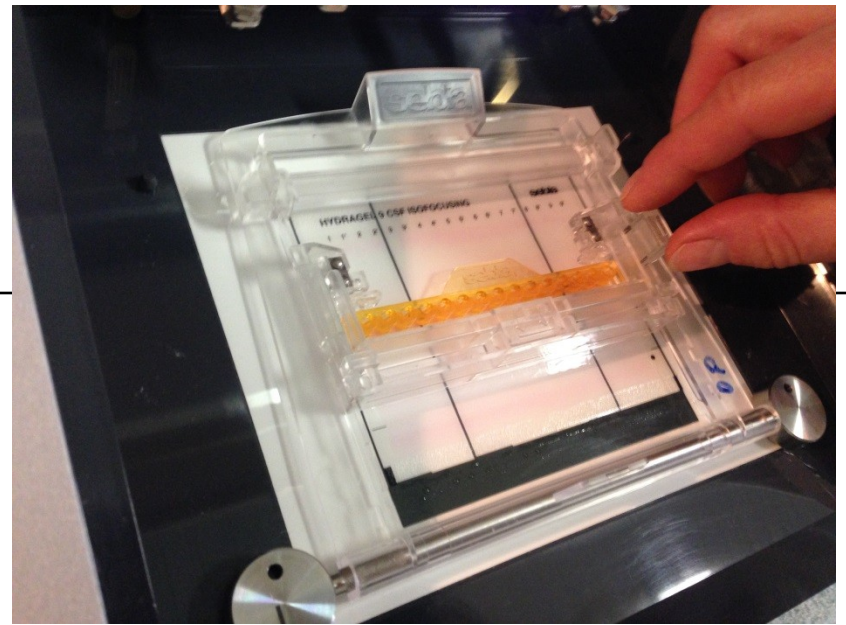
CSF S

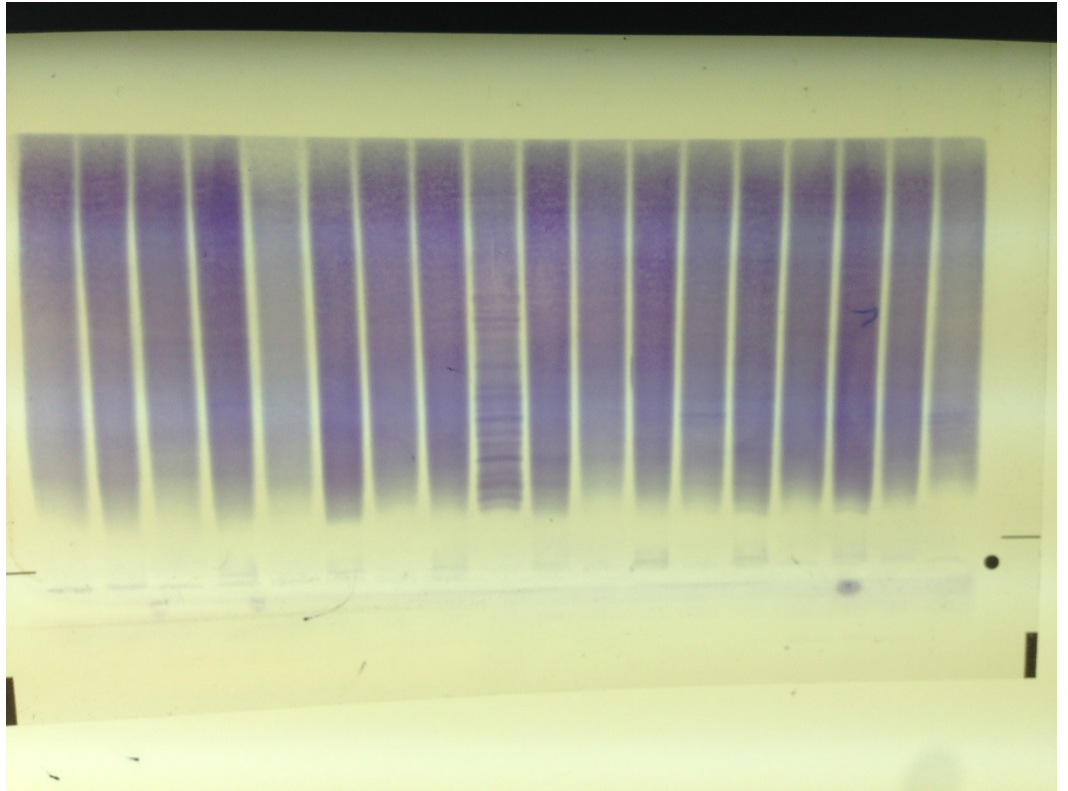


Typ 5

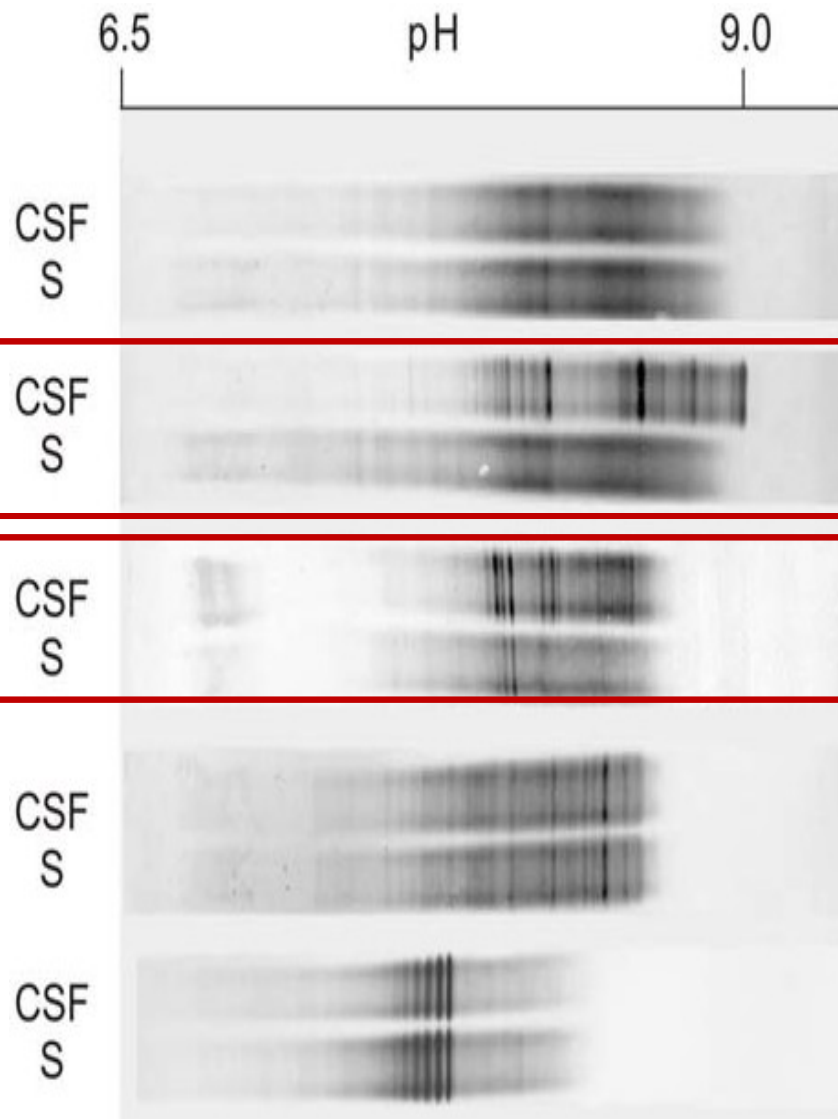








Oligoclonal bands (OCB)



Normal

OCB in CSF only:
Intrathecal IgG synthesis



Additional OCB in CSF:
Intrathecal IgG synthesis



Identical OCB in Serum and CSF:
Systemic infection

Monoclonal IgG:
Identical in Serum and CSF

MRZ reakce

- specifická reakce MRZ (morbilli, rubeola a varicella zoster)
- Jako reakce MRZ 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

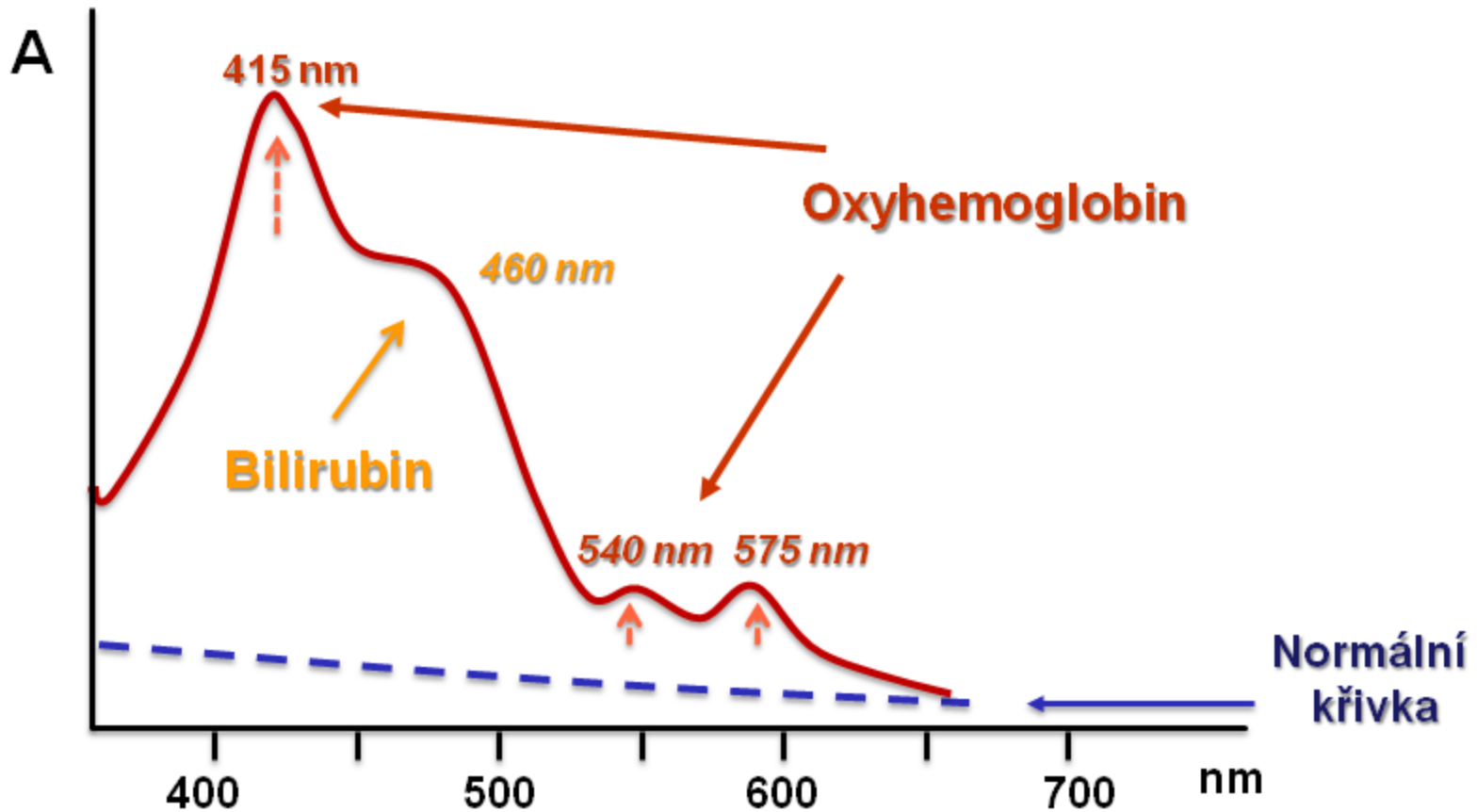
Perspektivy vývoje vyšetření likvoru

- Diagnostika degenerativních onemocnění a prionových infekcí. 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.
- **$\beta 2$ 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

- Likvoreja – 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

