



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

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, polyradikuloneritida-Guillaina-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

- Koncentrace albuminu v moku pozitivně koreluje s koncentrací IgG

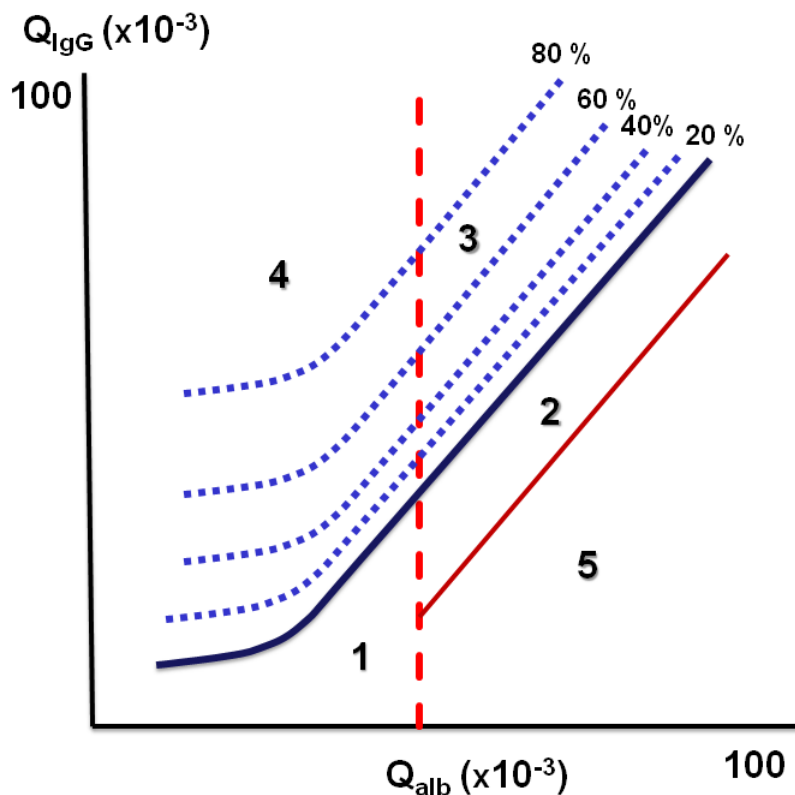
1. IgG index

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

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

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 hematolivorové bariéry bez lokální syntézy Ig

Oblast 3 – poruchu hematolivorové bariéry společně s intratékální syntézou I

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

Oblast 5 – oblast analytických chyb.

Výpočet dle Reibera

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

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



CSF S



Typ 1

CSF S



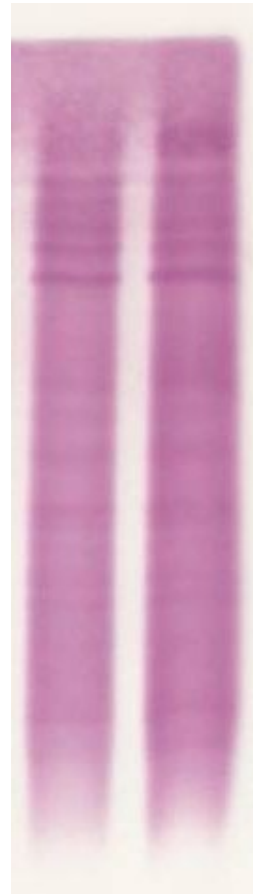
Typ 2

CSF S



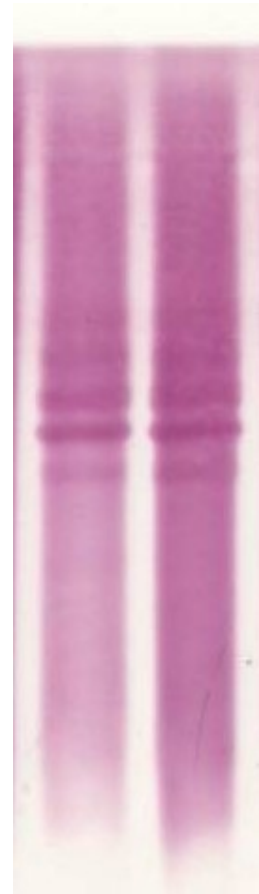
Typ 3

CSF S



Typ 4

CSF S



Typ 5

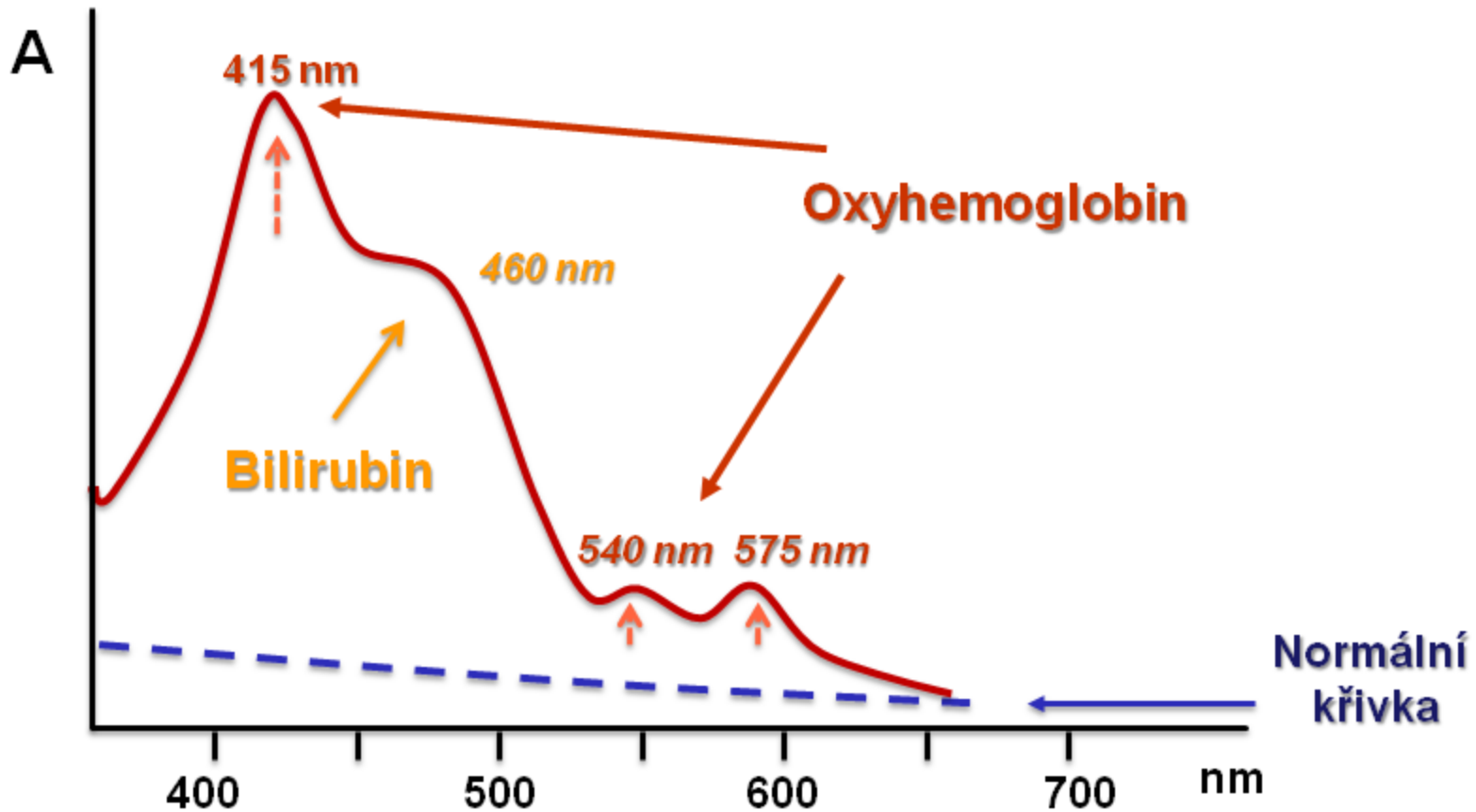
Perspektivy vývoje vyšetření likvoru

- 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 akumulují 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 hemato-likvorové 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 množstvím 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

