

# Základní vyšetření mozkomíšního moku.

*Lenka Fialová, Martin Vejražka*

<b>1. MOZKOMÍŠNÍ MOK</b> .....	<b>2</b>
1.1. VZNIK, CÍRKULACE A RESORPCE MOZKOMÍŠNÍHO MOKU .....	2
1.2. FUNKCE MOZKOMÍŠNÍHO MOKU .....	2
<b>2. HEMATOENCEFALICKÁ BARIÉRA</b> .....	<b>2</b>
2.1. HEMATOENCEFALICKÁ BARIÉRA .....	2
2.2. HEMATOLIKVOROVÁ BARIÉRA .....	3
2.3. ENCEFALOLIKVOROVÁ BARIÉRA .....	4
<b>3. VYŠETŘENÍ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU</b> .....	<b>4</b>
4. FYZIKÁLNÍ VYŠETŘENÍ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU.....	4
4.1. BARVA .....	4
4.2. ZÁKAL .....	5
<b>5. CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU</b> .....	<b>5</b>
5.1. CELKOVÁ BÍLKOVINA V MOZKOMÍŠNÍM MOKU .....	5
5.2. ALBUMIN V MOZKOMÍŠNÍM MOKU.....	5
5.3. IMUNOGLOBULINY V MOZKOMÍŠNÍM MOKU .....	6
5.4. OLIGOKLONÁLNÍ IMUNOGLOBULINY V MOZKOMÍŠNÍM MOKU .....	7
5.5. GLUKOSA V MOZKOMÍŠNÍM MOKU .....	8
5.6. LAKTÁT V MOZKOMÍŠNÍM MOKU .....	9
<b>6. SPEKTROFOTOMETRIE MOZKOMÍŠNÍHO MOKU</b> .....	<b>9</b>
<b>6. UKAZATELE DESTRUKCE TKÁNĚ CNS</b> .....	<b>12</b>
<b>7. CYTOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ MOZKOMÍŠNÍHO MOKU</b> .....	<b>13</b>

---

## 1. Mozkomíšní mok

Mozkomíšní mok (likvor, liquor cerebrospinalis, cerebrospinal fluid – CSF) je čirá, bezbarvá tekutina. Má totožné kvalitativní, ale odlišné kvantitativní složení ve srovnání s plazmou.

### 1.1. Vznik, cirkulace a resorpce mozkomíšního moku

Mozkomíšní mok je aktivně secernován buňkami plexus chorioideus a ependymu jednotlivých mozkových komor (50 – 70 %). Další podíl je vytvářen ultrafiltrací krevní plazmy chorioidálními kapilárami. Objem likvoru u dospělého jedince činí asi 120 – 180 ml. Je produkován rychlostí asi 500 – 600 ml za 24 hodin. Sekrece mozkomíšního moku přetrvává, i když je znemožněn odtok v důsledku obstrukce. Pak se hromadí a stoupá intrakraniální tlak.

Likvor se nachází *intracerebrálně* (20 %) v oblasti dvou postranních komor, třetí a čtvrté komory a spojů mezi komorami a *extracerebrálně* (subarachnoidálně) (80 %) v prostoru mezi pia mater a arachnoideou na povrchu mozku a míchu.

Cirkulace CSF začíná v postranních komorách, pokračuje třetí a čtvrtou komorou a dále proudí do subarachnoidálního prostoru. Část likvoru obtéká mozkový kmen a míchu.

Resorpce mozkomíšního moku se uskutečňuje arachnoidálními klky Pacchionských granulací, jejichž prostřednictvím přestupuje do velkých nitrolebečních venózních sinusů. Tímto způsobem je zabezpečen přímý přestup mozkomíšního moku do venózní cirkulace.

### 1.2. Funkce mozkomíšního moku

Mozkomíšní mok plní několik funkcí:

- **Mechanická** – obklopuje mozek a míchu ze všech stran a tím je chrání před otřesy, změnami tlaku a teploty.
- **Homeostatická** – zajišťuje optimální prostředí pro buňky CNS (stálé složení iontů, pH a osmolality).
- **Metabolická** – zajišťuje odsun produktů katabolismu (např. laktát, CO<sub>2</sub>) a dodává mozkovým buňkám různé bioaktivní látky.
- Podílí se **na ochraně před patogenními mikroorganismy**.

## 2. Hematoencefalická bariéra

Složení mozkomíšního moku ovlivňuje systém bariér. Pojem hematoencefalické bariéry zahrnuje rozhraní mezi krví, mozkem a likvorem, které dovoluje některým látkám průchod oběma směry nebo jen jedním směrem a dalším látkám může průchod omezit. Hematoencefalická bariéra zabezpečuje optimální prostředí pro funkci mozku, chrání mozek před škodlivými látkami a umožňuje zásobování mozku látkami potřebnými pro jeho metabolismus.

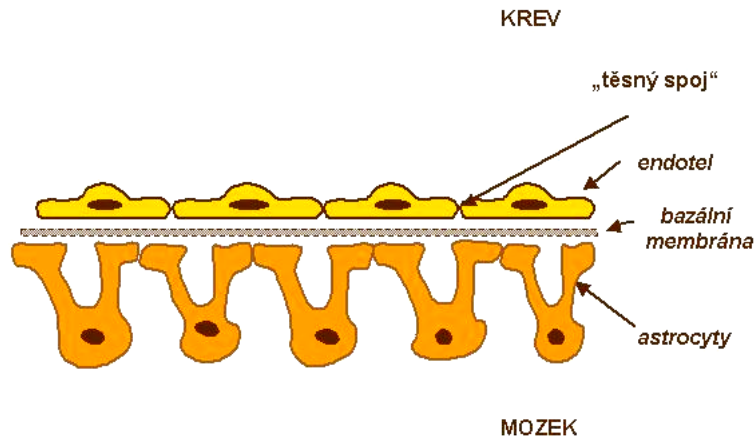
Rozlišujeme **hematoencefalickou, encefalolikvorovou a hematolikvorovou bariéru**.

### 2.1. Hematoencefalická bariéra

Hematoencefalická bariéra (v užším slova smyslu) vytváří přechod mezi mozkovými kapilárami a mozkovou tkání. Morfologickým podkladem hematoencefalické bariéry je z krevní strany souvislá **vrstva endotelu mozkových kapilár, bazální membrána a z mozkové strany vrstva astrocytů**. Endotel mozkových kapilár se odlišuje od endotelu v jiných lokalizacích tím, že je bez fenestrací a endotelové buňky jsou spojeny těsnými kontakty („tight junction“). K bazální membráně jsou připevněny výběžky astrocytů společně s pericyty (mikrogliaální buňky) (obr. 1). Přestup látek z krve do mozku se

uskutečňuje na podkladě jejich rozpustnosti v tucích nebo pomocí přenašečových systémů. Snadno prostupuje voda a látky dobře rozpustné v lipidech (např. ethanol, nikotin, plyny – O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O). Nezbytné hydrofilní látky jsou do mozku transportovány pomocí specifických transportních systémů (glukosa, neutrální aminokyseliny). Vezikulární transport je velmi omezený. Neporušená hematoencefalická bariéra prakticky znemožňuje vstup makromolekul do mozkové tkáně. Průniku látek do mozku zabráňuje také enzymatická bariéra, na níž se podílejí enzymové systémy lokalizované ve stěnách mozkových cév (např. monoaminoxidasy – enzymy degradující monoaminy, aminopeptidasy – enzymy rozkládající enkefaliny).

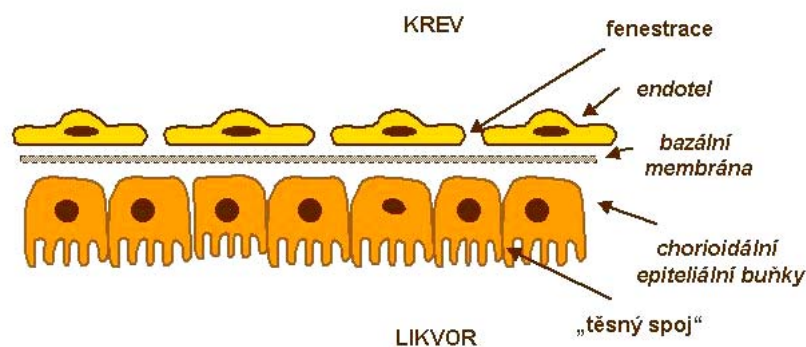
**Obr. 1 Hematoencefalická bariéra**



## 2.2. Hematolikvorová bariéra

Hematolikvorová bariéra odděluje krev a mozkomíšní mok. Tvoří ji *epitel chorioidálních plexů*, který secernuje mozkomíšní mok. Epitelové buňky jsou propojeny pevnými spoji, které jsou propustnější než těsné spoje v mozkových kapilárách. Na straně orientované k likvoru vytvářejí mikrovili, které výrazně zvětšují epitelální povrch. V plexus chorioideus se uskutečňuje difúze, usnadněná difúze a aktivní transport do CSF, ale i transport z CSF do cirkulace. Další součástí hematolikvorové bariéry jsou *kapiláry pia mater*, které jsou fenestrovány a podobají se kapiláram v jiných lokalitách (obr. 2). Hematolikvorová bariéra je permeabilnější než v jiných oblastech a umožňuje přestup proteinů z plazmy do likvoru pinocytózou nebo specifickými přenašeči. Porucha hematolikvorové bariéry se projeví zvýšenými koncentracemi proteinů v likvoru (dále viz albumin a imunoglobuliny v likvoru).

**Obr. 2 Hematolikvorová bariéra**



### 2.3. Encefalolivorová bariéra

Podstatou encefalolivorové bariéry je vrstva gliových vláken na povrchu mozku a ependym komor. Tato bariéra je propustnější než hematolivorová bariéra. Průnik látek se děje mezibuněčnými štěrbinami ve vrstvě glie a štěrbinami mezi ependymem komor. Substance o velikosti bílkovin mohou difundovat oběma směry.

## 3. Vyšetření mozkomíšního moku

Vyšetření mozkomíšního moku patří k základním metodám, které přispívají k diagnostice neurologických onemocnění. Likvor se odebírá nejčastěji lumbální punkcí, méně častý je subokcipitální přístup. Likvor je zapotřebí do laboratoře dopravit co nejrychleji, neboť postupně dochází k rozpadu buněk, snižuje se koncentrace glukosy a zvyšuje se laktát.

Vyšetření mozkomíšního moku zahrnuje **posouzení fyzikálních vlastností** (barva a zákal), **chemické vyšetření** (stanovení celkové bílkoviny, glukosy, laktátu, albuminu, IgG, IgA, IgM a dalších bílkovin), **spektrofotometrii a cytologické vyšetření**.

Mezi **základní vyšetření mozkomíšního moku** patří provedení těchto analýz:

- posouzení vzhledu likvoru;
- kvantitativní stanovení celkové bílkoviny;
- kvantitativní stanovení glukosy;
- kvantitativní stanovení laktátu;
- kvalitativní a kvantitativní cytologické vyšetření;
- spektrofotometrie likvoru.

**Další vyšetření mozkomíšního moku** zahrnuje tato stanovení:

- stanovení IgG, IgA, IgM a albuminu v séru a moku s odhadem intratékální syntézy imunoglobulinů a stanovení poruchy hematolivorové bariéry;
- izoelektrická fokusace pro detekci oligoklonálních pásů IgG;
- některá další vyšetření (např. stanovení dalších proteinů v likvoru a séru, speciálně barvené cytologické preparáty).

Mozkomíšní mok se **vyšetřuje zejména u těchto onemocnění:**

- podezření na akutní neuroinfekci;
- podezření na subarachnoidální krvácení;
- demyelinizační onemocnění;
- maligní infiltrace mening.

## 4. Fyzikální vyšetření mozkomíšního moku

### 4.1. Barva

Za fyziologických podmínek je likvor čirá bezbarvá tekutina. Pokud se v mozkomíšním moku nacházejí barevné substance, jedná se o patologický stav. Většinou je podmíněn přítomností hemoglobinu, methemoglobinu a bilirubinu. Příměs krve vyvolává narůžovělé až červené zbarvení, označované jako **erytrochromní (sangvinolentní)**. Krev se do likvoru může dostat arteficiálně poraněním cév při provádění lumbální punkce. Pokud likvor při odběru zachycujeme postupně do tří zkumavek, pak v tomto případě zbarvení moku ve zkumavkách slábne a po centrifugaci je likvor bezbarvý. Při intrakraniálním krvácení je zbarvení ve všech zkumavkách stejné intenzity. Při čerstvém krvácení je supernatant rovněž bezbarvý. Žluté, **xantochromní** zbarvení mozkomíšního moku je podmíněné přítomností bilirubinu vzniklého přeměnou hemoglobinu. Xantochromie může přetrvávat

3–4 týdny po začátku krvácení (dále viz spektrofotometre CSF). Přítomnost methemoglobinu se projeví okrově žlutým až hnědým zbarvením.

#### 4.2. Zákal

Zákal likvoru bývá způsoben leukocyty, které jsou přítomny v likvoru **u hnisavých neuroinfekcí**. Intenzita zákalu odpovídá množství leukocytů. **Příměs erytrocytů** se může projevit rovněž zákaelem.

## 5. Chemické vyšetření mozkomíšního moku

### 5.1. Celková bílkovina v mozkomíšním moku

V likvoru je asi 200x menší obsah bílkovin než v plazmě. Bílkoviny v mozkomíšním moku pocházejí z **80 % z plazmy**. Přestup bílkovin do likvoru je ovlivňován molekulovou hmotností, nábojem, plazmatickou koncentrací a stavem hematoencefalické bariéry. Větší molekuly (např. IgM) prostupují pomaleji než menší molekuly (např. IgG, albumin). Zbývajících **20 % bílkovin je produkováno intratékálně<sup>1</sup>** (např. část imunoglobulinů,  $\beta_2$ -mikroglobulin). Některé plazmatické proteiny jsou v likvorovém prostoru modifikovány (např. transferin, prealbumin). V minimálním množství jsou v mozkomíšním moku přítomny i **strukturální proteiny**.

Z klinického hlediska má význam zvýšená koncentrace celkové bílkoviny v mozkomíšním moku, tzv. **hyperproteinorachie**, která může být způsobena těmito mechanismy:

- Při **poruše hematolikorové bariéry** do likvoru patologicky proniká větší množství bílkovin. Při blokadě likvorových cest dochází pod překážkou k těžké poruše hematoencefalické bariéry a do moku pronikají bílkoviny z plazmy (albumin i vysokomolekulární fibrinogen).
- **Intratékální syntéza imunoglobulinů** při aktivaci imunitního systému.
- **Abnormální složení plazmatických bílkovin** se promítne do složení likvorových proteinů, např. monoklonální gamapatie se projeví přítomností stejných imunoglobulinů i v likvoru.
- **Zvýšení strukturálních proteinů** při poškození tkáně CNS.
- **Nádorová infiltrace mozkových obalů**.

Stanovení celkové bílkoviny v mozkomíšním moku se uplatňuje především jako rychle proveditelné vyšetření, které poskytuje základní informaci o stavu hematolikorové bariéry.

Jednou z **doporučených metod pro kvantitativní stanovení celkové bílkoviny** v mozkomíšním moku je **reakce s pyrogallolovou červení** (viz kvantitativní stanovení bílkoviny v moči).

Orientačně lze **kvalitativně** zvýšené množství bílkoviny v mozkomíšním moku prokázat **Pandyho reakcí**, při níž jsou denaturovány globuliny a částečně i albumin vodným roztokem fenolu.

#### Referenční hodnoty:

Sp-Celková bílkovina (proteinorachie)<sup>2</sup> 0,20 – 0,45 g/l

Pandyho reakce – negativní < 0,2 g/l proteinu

### 5.2. Albumin v mozkomíšním moku

Albumin v likvoru pochází vždy z krve, neboť v CNS se netvoří. Jeho syntéza probíhá v játrech a do mozkomíšního moku se dostává přestupem přes hematolikorovou bariéru. Zastoupení albuminu tvoří asi 57 % celkové bílkoviny v CSF. **Zvýšená koncentrace albuminu v likvoru** je vždy známkou poruchy hematolikorové bariéry. Pro přesnější zhodnocení jejího stavu se používá tzv. **albuminový**

<sup>1</sup>Intratékální syntézou rozumíme syntézu v CNS a likvorových prostorách.

<sup>2</sup> Sp – mozkomíšní mok

**kvocient**  $Q_{alb}$ , který bere v úvahu koncentraci albuminu v mozkomíšním moku ( $Alb_{CSF}$ ) a séru ( $Alb_{sérum}$ ).

$$Q_{alb} = \frac{Alb_{CSF}}{Alb_{sérum}}$$

Albuminový kvocient se využívá:

- **k hodnocení míry poškození hematolikorové bariéry**, která bývá narušena u zánětlivých onemocnění CNS (meningitidy různého původu), roztroušené sklerózy<sup>3</sup> nebo při obstrukci v likvorových cestách;
- **pro výpočet intratékální syntézy imunoglobulinů**.

Albumin se v CSF stanovuje **citlivými imunochemickými metodami** (imunoturbidimetrie, imunonefelometrie, ELISA).

#### Referenční hodnoty:

Sp-Albumin 120 – 300 mg/l

Albuminový kvocient:

Je závislý na věku:

$Q_{alb}$  do 15 let  $\leq 5 \cdot 10^{-3}$   
do 40 let  $\leq 6,5 \cdot 10^{-3}$   
do 60 let  $\leq 8 \cdot 10^{-3}$

### 5.3. Imunoglobuliny v mozkomíšním moku

Imunoglobuliny v likvoru mohou pocházet buď z **krve** nebo **vznikají intratékálně**. Intratékální syntéza protilátek probíhá v perivaskulárně uložených B lymfocytech, které se diferencují v plazmocyty. Zvýšení koncentrace imunoglobulinů v likvoru může být způsobeno poruchou hematolikorové bariéry, zvýšenou intratékální syntézou, zvýšenou koncentrací imunoglobulinů v séru nebo poruchou cirkulace likvoru. Z tohoto důvodu je pouhé stanovení koncentrace imunoglobulinů v likvoru nedostačující, neboť pro diferenciálně diagnostické účely je zapotřebí odlišit intratékální nebo krevní původ imunoglobulinů. K tomu se používá výpočet různých indexů, rovnic či hodnocení pomocí grafů.

#### Průkaz intratékální tvorby imunoglobulinů

##### Imunoglobulinový index

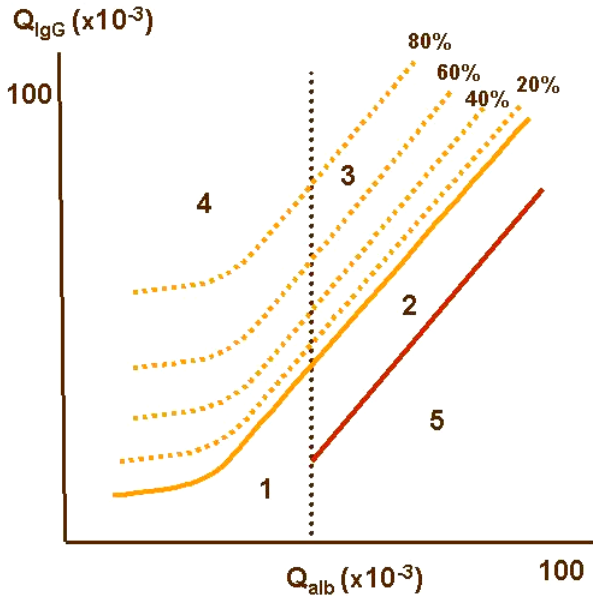
Orientační informaci nám poskytne **imunoglobulinový index**. Hodnotí Ig a albumin v séru a v likvoru. Pro jeho výpočet je zapotřebí v likvoru a současně v séru stanovit koncentrace obou analytů. Vypočítá se na základě kvocientu příslušného Ig (IgG, IgA, IgM) a albuminového kvocientu.

$$IgG_{index} = \frac{Q_{IgG}}{Q_{albumin}} = \frac{IgG_{CSF}}{IgG_{sérum}} \times \frac{Alb_{sérum}}{Alb_{CSF}}$$

<sup>3</sup> Roztroušená skleróza (sclerosis multiplex) je závažné chronické onemocnění CNS, charakterizované demyelinizací (ztráta myelinu nervových vláken) na podkladě autoimunitních dějů. V závislosti na lokalizaci patologického procesu se projevuje různými neurologickými příznaky (např. poruchy chůze, citlivosti, řeči).

**Reiberův diagram**

Reiberův diagram umožňuje rychlý průkaz intratékální syntézy imunoglobulinů. Vynášejí se do něho vypočítané hodnoty  $Q_{Alb}$  a  $Q_{IgG}$ . Podle umístění vnesené hodnoty v grafu lze určit původ imunoglobulinů a poruchu hematolivorové bariéry.

**Obr. 3 Reiberův diagram**

Reiberův diagram (obr. 3) je rozdělen do 5 oblastí, které hodnotí nálezy:

1. normální nález
2. izolovanou poruchu hematolivorové bariéry bez lokální syntézy Ig
3. poruchu hematolivorové bariéry společně s intratékální syntézou Ig
4. izolovaná intratékální syntéza Ig bez poruchy hematolivorové bariéry
5. oblast analytických chyb

Hranice mezi lokální syntézou imunoglobulinů a jejich pasivním přestupem je znázorněna žlutou čarou. Hodnoty nad touto linií znamenají intratékální syntézu a rozsah je vyznačen přerušovanou čarou a vyjádřen v procentech. Vertikální přerušovaná čára odděluje normální a porušenou hematolivorovou bariéru.

Jednotlivé třídy imunoglobulinů se stanovují *citlivějšími imunochemickými metodami* jako je imunoturbidimetrie, imunonefelometrie a ELISA.

**Referenční hodnoty:****Koncentrace imunoglobulinů**

Sp-IgG	12,0 – 40,0 mg/l
Sp-IgM	0,2 – 1,2 mg/l
Sp-IgA	0,2 – 2,1 mg/l

**Hodnocení imunoglobulinového indexu:**

$IgG_{index}$	< 0,5	nesvědčí pro intratékální syntézu IgG
$IgG_{index}$	0,5 – 0,75	nevylučuje intratékální syntézu IgG
$IgG_{index}$	> 0,75	svědčí pro intratékální syntézu IgG

**5.4. Oligoklonální imunoglobuliny v mozkomíšním moku**

Nejcitlivější metodou pro průkaz intratékální syntézy protilátek je stanovení *oligoklonálních imunoglobulinů* metodou *izoelektrické fokusace<sup>4</sup> s následným barvením, imunofixací nebo imunoblotem*. Fyziologicky mají imunoglobuliny v séru i mozkomíšním moku polyklonální charakter a vyjadřují heterogenitu individuálních protilátek produkovaných jako odpověď na nejrůznější

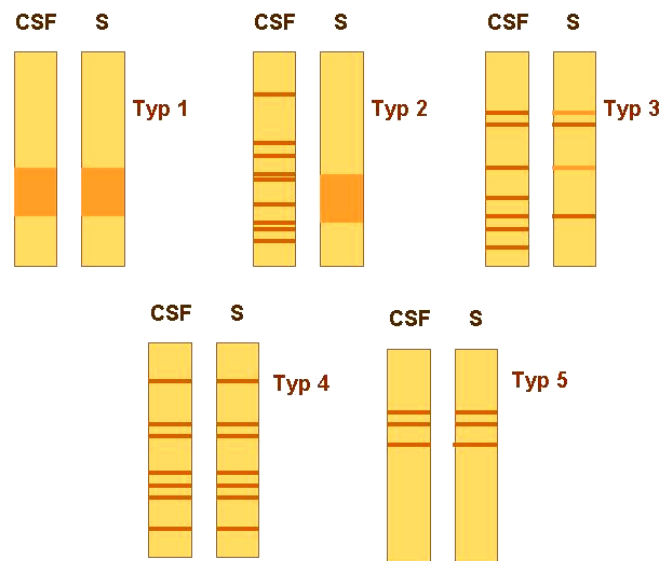
<sup>4</sup> Izelektrická fokusace je elektroforetická metoda, při níž se bílkoviny dělí v elektrickém poli v gradientu pH na základě izoelektrických bodů.

antigeny, s nimiž se jedinec setkal. Předpokládá se, že do CNS vstupuje pouze omezený počet B-lymfocytů, které se po aktivaci antigenem (např. určitým mikroorganismem nebo autoantigenem) diferencují v plazmatické buňky secernující protilátky. Intratékálně produkované protilátky se vyznačují pouze omezenou (oligoklonální) heterogenitou, což se při izoelektrické fokusaci projeví jako izolované proužky, které nejsou patrné při analýze séra. Z toho vyplývá nutnost provádět současně analýzu imunoglobulinů likvoru i séra. Srovnává se přítomnost či nepřítomnost identických pruhů IgG v séru a moku; počet a lokalizace proužků nemá diferenciálně diagnostický význam.

Popisuje se pět různých typů izoelektroforegramů (obr. 4):

- Typ 1) v séru i v moku **pouze polyklonální IgG** – normální nález;
- Typ 2) **oligoklonální proužky pouze v likvoru** – lokální syntéza IgG (např. u roztroušené sklerózy);
- Typ 3) **oligoklonální proužky v likvoru a další oligoklonální proužky v likvoru i v séru** – lokální syntéza IgG a produkce protilátek v organismu (např. chronická infekce CNS, roztroušená skleróza);
- Typ 4) **identické oligoklonální proužky v séru i moku** (tzv. „zrcadlový“ obraz proužků v séru a v likvoru – dochází k průniku protilátek z krve do likvoru) – systémová imunitní aktivace bez lokální syntézy IgG v CNS;
- Typ 5) **paraproteinový obraz** – identické monoklonální proužky v séru i moku v krátkém úseku pH gradientu, jde o přítomnost monoklonálního paraproteinu v likvoru sérového původu (myelom, monoklonální gamapatie).

Obr. 4 Základní typy izoelektroforegramů



### 5.5. Glukosa v mozkomíšním moku

Glukosa, která je hlavním energetickým substrátem pro nervovou tkáň, je transportována do mozku prostřednictvím transportních systémů v plexus chorioideus. Koncentrace glukosy v mozkomíšním moku je dána kapacitou přenašečových systému, využitím v nervové tkáni a mírou reabsorpce v mozkomíšním moku. Koncentrace glukosy v mozkomíšním moku – **glykorachie** sleduje koncentraci glukosy v krvi. Proto pro hodnocení glykorachie je zapotřebí souběžně stanovovat koncentraci v likvoru i v krvi a z hodnot vypočítat jejich poměr  $Q_{glu}$ , podobně jako u albuminu nebo imunoglobulinů:

$$Q_{glu} = \frac{Glu_{CSF}}{Glu_{sérum}}$$



Za fyziologických okolností je poměr glykorachie a glykemie přibližně 0,6.

Se zvýšenou glykorachií se setkáváme u diabetiků. Pro onemocnění nervového systému mají význam **snížené hodnoty glykorachie – hypoglykorachie** (po vyloučení hypoglykemie), které se vyskytují v likvorech s vyšším počtem buněk. Hypoglykorachie je prokazována **u bakteriálních meningitid**, kde je vysvětlována spotřebou glukosy bakteriemi i leukocyty ( $Q_{glu} < 0,4$ ). Může poklesnout až na nulové hodnoty. Úspěšná léčba vede k návratu glykorachie k normě. Další příčinou snížené koncentrace glukosy v mozkomíšním moku může být **nádorové onemocnění CNS**, kde glukosu využívají nádorové buňky, a **mozková ischemie**, u níž nedostatek kyslíku omezuje aerobní glykolýzu a k pokrytí energetických nároků anaerobní glykolýzou je zapotřebí více glukosy. U subarachnoidálního krvácení se na zvýšené potřebě glukosy podílejí erytrocyty.

**Metody pro stanovení koncentrace glukosy** v mozkomíšním moku jsou podobné jako pro stanovení v krvi (plazmě), tzn. **metoda glukosaoxidasová/peroxidasová či hexokinasová** (princip viz stanovení glukosy v séru). Pokud není možné glukosu vyšetřit do 30 minut po odběru, je nutno likvor uchovávat na ledu nebo přidat fluorid sodný, aby se zabránilo nežádoucímu poklesu glukosy následkem glykolýzy. Ta probíhá v mikroorganismech, leukocytech či nádorových buňkách, které mohou být součástí moku za patologických podmínek.

#### Referenční hodnoty:

Sp-Glukosa	2,2 – 4,2 mmol/l
$Q_{glu}$	0,6

### 5.6. Laktát v mozkomíšním moku

Laktát vzniká odbouráváním glukosy glykolýzou za anaerobních podmínek. V mozkové tkáni se fyziologicky vytváří určité množství laktátu, které odráží metabolickou aktivitu mozku. Prakticky neprochází hematoencefalicou bariérou a jeho koncentrace na rozdíl od **glukosy nezávisí na koncentraci v plazmě**. Hladina laktátu v CSF má opačný trend než hladina glukosy.

Stanovení laktátu v CSF je citlivějším ukazatelem než stanovení glukosy. Laktát je důležitým parametrem, který pomáhá rozlišit mezi meningitidou bakteriálního a virového původu. **Zvýšená hladina laktátu u bakteriální meningitidy** je projevem anaerobní glykolýzy bakterií a v menší míře leukocytů. Při účinné terapii laktát klesá. **Všechny poruchy zásobení mozku kyslíkem** (např. anoxie, hypoxie např. u cévních mozkových příhod) v důsledku zvýšeného anaerobního metabolismu glukosy jsou doprovázeny zvýšenými hladinami laktátu. U subarachnoidálního krvácení je vzestup laktátu způsoben erytrocyty přítomnými v likvoru, které kryjí energetické nároky rovněž anaerobní glykolýzou (nemají mitochondrie). Dále se zvyšuje při maligní infiltraci mening a u některých metabolických onemocnění (mitochondriální encefalomyopatie).

#### Referenční hodnota:

Sp-laktát	1,2 – 2,1 mmol/l
-----------	------------------

## 6. Spektrofotometrie mozkomíšního moku

Spektrofotometrie mozkomíšního moku se využívá v diagnóze náhlých cévních mozkových příhod především při podezření **na krvácení do subarachnoidálního prostoru**. Má význam především u těch mozkových hemorragií, které se těžko prokazují zobrazovacími metodami. Je cenná především v časných stádiích onemocnění. Poskytuje informaci o stáří krvácení a o protražovaném či opakovaném krvácení. Spektrofotometrické vyšetření mozkomíšního moku ve viditelné části spektra umožňuje charakterizovat na základě rozdílných absorpčních maxim **oxyhemoglobin** (při 415 nm), **methemoglobin** (při 405 nm) a **bilirubin** (při 420 – 460 nm).

Na začátku mozkového krvácení je v mozkomíšním moku především oxyhemoglobin, později vykazuje spektrofotometrie sumační křivku oxyhemoglobinu, popř. methemoglobinu a bilirubinu.

Stupeň degradace hemoglobinu na bilirubin je individuálně velmi variabilní, takže izolovaná bilirubinová xantochromie se objevuje nejdříve za 5 dnů.

Spektrofotometrie mozkomíšního moku se provádí na **registračním spektrofotometru** v rozsahu vlnových délek 370 – 600 nm. Pro spektrofotometrické vyšetření se doporučuje centrifugovat likvor do 1 hodiny po odběru.

### Hodnocení:

#### Fyziologický záznam

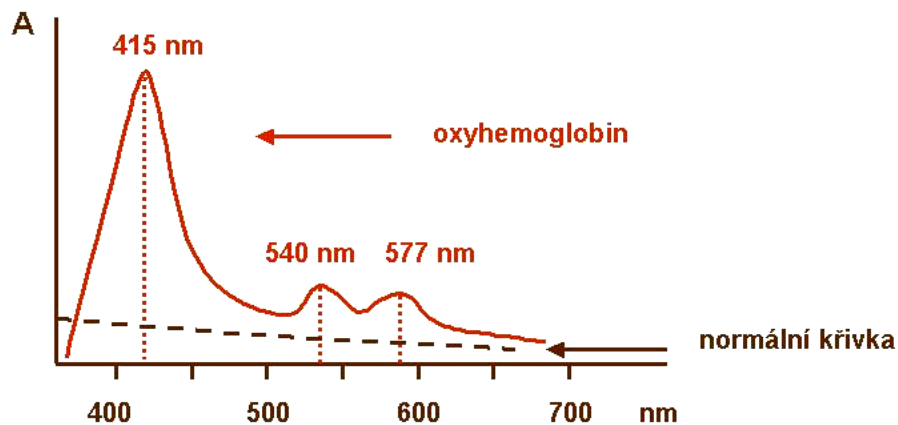
Spektrofotometrická křivka likvoru za fyziologických podmínek je plochá nebo mírně zvýšená směrem od 600 nm do 370 nm. V oblasti viditelné části spektra jsou absorpance nižší než 0,02.

#### Patologické záznamy

- **Průkaz oxyhemoglobinu**

Erytrocyty, které pronikly do komor nebo subarachnoidálního prostoru, začnou podléhat hemolýze asi za 2 hodiny a uvolněný hemoglobin podmiňuje vznik absorpčních maxim charakteristických pro oxyhemoglobin. Přítomnost oxyhemoglobinu se projevuje absorpčním maximem při 415 nm a dvěma menšími vrcholy při 540 a 577 nm. Jeho průkaz v likvoru je známkou **čerstvého krvácení do mozku**<sup>5</sup>. Maxima dosahuje za 4 – 5 dnů a vymizí po 7 – 10 dnech (obr. 5, 6).

**Obr. 5** Spektrofotometrická křivka oxyhemoglobinu (např. čerstvé subarachnoidální krvácení)



- **Průkaz methemoglobinu**

Přítomnost methemoglobinu je známkou **starších změn hemoglobinu**. Maximum při 415 nm se posouvá směrem ke kratším vlnovým délkám s maximem při 406 nm. Nalézáme ho jako součást sumačních křivek, kde se absorpance jednotlivých pigmentů překrývají. Dá se však prokázat přidávkem KCN do vzorku. Pokud je přítomen methemoglobin, vznikne kyanmethemoglobin s absorpčním maximem v oblasti 419 nm; v případě, že se nevyskytuje, ke změně nedojde. Průkaz methemoglobinu ve směsi s oxyhemoglobinem potvrzuje, že příměs krve v moku je zapříčiněna mozkovým krvácením a nikoli arteficiální kontaminací při lumbální punkci.

- **Průkaz bilirubinu**

Přítomnost bilirubinu v mozkomíšním moku svědčí pro **starší krvácení do likvorových cest**. Po hemolýze erytrocytů vzniká přeměnou hemoglobinu nekonjugovaný bilirubin s absorpčním maximem při 460 nm, tzv. long bilirubin. V likvoru se objevuje asi za 10 – 12 hodin po krvácení, maximum se zaznamenává 3. den a přetrvává 3 – 4 týdny. Typický spektrofotometrický záznam potvrzující subarachnoidální krvácení zachycuje křivku oxyhemoglobinu s hlavním vrcholem při 415 nm, na jehož sestupné straně je patrný další široký vrchol náležící bilirubinu. Postupně, jak pokračuje

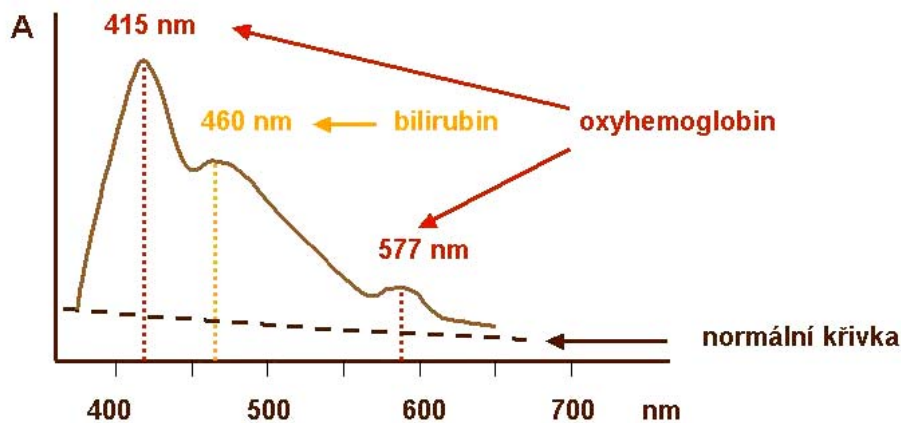
<sup>5</sup> Stejnou křivku můžeme získat i u arteficiální příměsi krve, jestliže nebyl likvor po odběru včas zcentrifugován.

hemolýza erytrocytů, se poměr oxyhemoglobinu a bilirubinu snižuje. Spektrum samotného bilirubinu lze pozorovat nejdříve 5. den po proběhlém subarachnoidálním krvácení (obr. 6, 7).

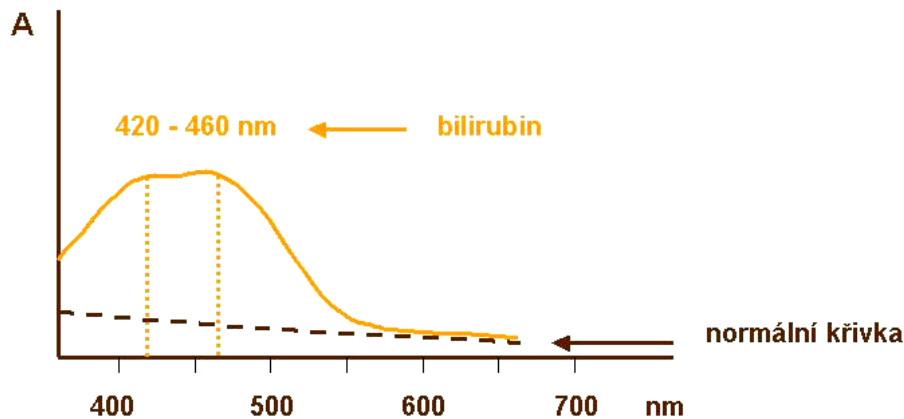
V mozkomíšním moku je možno prokázat i **bilirubin sérového původu**. **Nekonjugovaný bilirubin**, který je v krevní cirkulaci vázán na albumin, může pronikat do likvoru fyziologicky u novorozenců **nezralou hematoencefalickou bariérou**, u dospělých **porušenou hematoencefalickou bariérou** nebo **u výrazných iktérů**. Konjugovaný, tzv. short bilirubin s maximem při 420 nm, je většinou sérového původu, i když s volnými mastnými kyselinami či aminokyselinami se může konjugovat i bilirubin vzniklý v CSF v důsledku krvácení.

#### Obr. 6 Spektrofotometrická sumační křivka oxyhemoglobinu a bilirubinu

(např. starší subarachnoidálním krvácení – přeměna oxyhemoglobinu na bilirubin – přítomnost hemoglobinu a bilirubinu)



#### Obr. 7 Spektrofotometrická křivka bilirubinu (pozdější fáze subarachnoidálního krvácení)



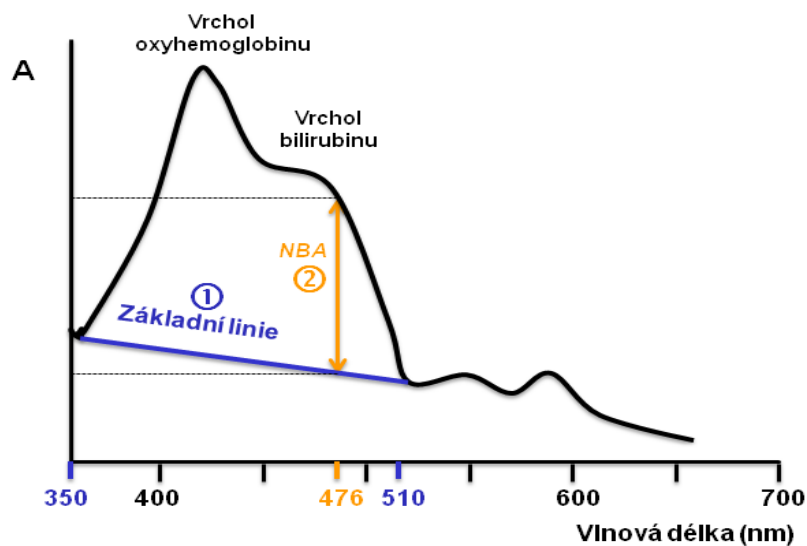
#### Postup při hodnocení záznamu spektrofotometrické křivky mozkomíšního moku

Množství oxyhemoglobinu a bilirubinu v likvoru se stanovuje jako tzv. **čistá hodnota absorbance oxyhemoglobinu – NOA** (net oxyhemoglobin absorbance) a **čistá hodnota absorbance bilirubinu – NBA** (net bilirubin absorbance). Při jejich určení postupujeme následujícím způsobem:

1. Zakreslíme základní linii tak, že přímkou spojíme hodnoty absorbancí při 350 nm a 510 nm v záznamu spektra.

2. Rozdíl absorbance mezi touto spojnicí a absorbcí vrcholu oxyhemoglobinu v oblasti při 410 – 418 nm ( $\Delta A_{410-418}$ ) udává **čistou hodnotu absorbance oxyhemoglobinu** v mozkomíšním moku.
3. Rozdíl absorbance mezi touto spojnicí a absorbcí spektra při 476 nm ( $\Delta A_{476}$ ) udává **čistou hodnotu absorbance bilirubinu** v mozkomíšním moku (obr. 8). Absorpční maximum bilirubinu leží mezi 450 – 460 nm. V této oblasti může docházet k překrytí s absorpčním maximum oxyhemoglobinu. Z tohoto důvodu byla pro stanovení množství bilirubinu v mozkomíšním moku zvolena vlnová délka 476 nm, které již leží mimo oblast absorpčního maxima oxyhemoglobinu.

**Obr. 8** Postup při zjištění čisté hodnoty absorbance bilirubinu v mozkomíšním moku ze záznamu spektra



#### Referenční hodnoty $\Delta A$ :

NOA  $\leq 0,02$

NBA  $\leq 0,007$

## 6. Ukazatelé destrukce tkáně CNS

Poškození tkáně CNS v důsledku např. poranění nebo infekčního postižení lze prokázat vyšetřením různých ukazatelů destrukce v mozkomíšním moku nebo séru. Existují markery specifické pro nervovou tkáň (např. protein S100 b), jejichž stanovení však nebývá dostupné ve všech laboratořích.

Pro rychlou informaci o rozsahu destrukce tkáně CNS u naléhavých stavů lze využít stanovení některých běžně vyšetřovaných cytoplazmatických enzymů jako je laktátdehydrogenáza (LD) nebo aspartátaminotransferáza (AST). Při poškození buněk tkáně CNS se tyto enzymy uvolňují extracelulárně a jejich aktivita se v mozkomíšním moku zvyšuje.

#### Referenční hodnoty:

Sp-AST  $< 0,30 \mu\text{kat/l}$

Sp-LD  $< 0,25 \mu\text{kat/l}$

## 7. Cytologické vyšetření mozkomíšního moku

Cytologické vyšetření mozkomíšního moku je součástí základního vyšetření mozkomíšního moku. Přispívá k diagnostice neuroinfekcí, krvácení do CNS, autoimunitních onemocnění či nádorů. Zahrnuje **kvantitativní cytologii**, která spočívá ve stanovení počtu buněčných elementů, a **kvalitativní cytologii**, při níž se stanovují typy buněk v likvoru a jejich počet.

Buňky se počítají ve Fuchsově-Rosenthalově komůrce, která má objem přibližně 3 mm<sup>3</sup>. Proto se výsledky vyjadřují zlomkem n/3. V mozkomíšním moku dospělé osoby nalézáme do 10/3 (3 v 1 µl), hodnota 11 – 15/3 je považována za hraniční. Normální počet buněk se označuje jako **oligocytóza**, při zvýšeném počtu buněk hovoříme o **pleocytóze**.

Při kvalitativním hodnocení jsou v normálním likvoru přítomny pouze lymfocyty (60 – 80 %) a monocyty (20 – 40 %), ojediněle se mohou vyskytnout ependymální buňky nebo buňky chorioidálního plexu. Přítomnost erytrocytů může být způsobena uměle poraněním cévy při lumbální funkci nebo v důsledku krvácení do likvorových cest. Také přítomnost dalších elementů (granulocyty, aktivované lymfocyty, plazmatické buňky, aktivované monocyty, nádorové buňky) jsou příznakem patologických dějů v CNS.

K cytologickému vyšetření a stanovení počtu elementů je zapotřebí použít nativní necentrifugovaný likvor do 3 hodin po odběru.

### Některé typy patologických cytologických nálezů v likvoru

#### Pleocytóza (celkové zvýšení počtu elementů)

##### a) Monocytární

Převažují monocytární buňky a je zvýšeno zastoupení jejich aktivovaných forem. Představují **nespecifickou reakci** na předchozí podráždění nervového systému (např. ischemie CNS, terminální fáze zánětu s úklidovou reakcí, stav po angiografii CNS).

##### b) Granulocytární

Výrazné zvýšení **neutrofilních granulocytů** (tisíce až desetitisíce) je typické **pro hnisavé (bakteriální) záněty**. Převaha eosinofilů se vyskytuje při alergických reakcích nebo při některých neuroinfekcích (parazitární, mykotické).

##### c) Lymfocytární

Pleocytóza s převahou lymfocytů včetně aktivovaných forem je charakteristický nález **pro nehnisavé zánětlivé onemocnění virového původu**, ale někdy i u některých bakteriálních neuroinfekcí.

**Patologická oligocytóza** (celkový počet elementů nepřesahuje normu, patologické je jejich zastoupení)

##### a) Monocytární

Vyznačuje se převahou monocytů a zvýšeným relativním zastoupením aktivovaných monocytů. Tento **nespecifický obraz** může doprovázet např. krvácení do likvorových cest, kdy se mohou prokázat makrofágy s pohlcenými erytrocyty nebo terminální fázi zánětu.

##### b) Granulocytární

Granulocytární oligocytóza s převahou neutrofilů je častým nálezem u **počínající hnisavé i nehnisavé neuroinfekce**.

##### c) Lymfocytární

Je charakteristická převahou lymfocytů se zvýšeným relativním zastoupením aktivovaných forem. Přítomnost plazmatických buněk svědčí pro intratékální syntézu protilátek. Je typická pro **chronické neuroinfekce a pro roztroušenou sklerózu**.

### Tumorózní pleocytóza nebo oligocytóza

Nádorové elementy v likvoru mají původ v nádorech lokalizovaných v blízkosti likvorových cest nebo v maligní infiltraci mening.

**Likvorové syndromy**

Při interpretaci množství buněk v likvoru a hodnot koncentrace celkové bílkoviny v likvoru se popisují tyto syndromy:

**Syndrom proteinocytologické disociace** – zvýšená koncentrace celkových bílkovin (hyperproteinorachie) a normální počet elementů (oligocytóza) – typický nález pro blokádu likvorových cest např. nádorem, někdy u roztroušené sklerózy a v terminální fázi zánětu.

**Syndrom proteinocytologické asociace** – zvýšená koncentrace celkové bílkoviny (hyperproteinorachie) a zmnožení elementů (pleocytóza). Typicky se vykytuje u neuroinfekce.

**Syndrom cytoproteinové disociace** – zvýšený počet elementů (pleocytóza) a normální koncentrace bílkoviny (normoproteinorachie) – častý nález v počáteční fázi zánětu.

Diferenciální diagnostiku likvorových nálezů při nejčastějších infekčních onemocněních CNS lze zjednodušeně shrnout takto:

	Počet buněk	Celková bílkovina	Glukosa
Akutní bakteriální meningitida	↑↑↑ (granulocyty)	↑	↓ až ↓↓
Akutní virová meningitida	↑↑ (lymfocyty)	(↑)	(↓)
Chronická infekce CNS	↑↑ (lymfocyty, monocyty)	↑↑	↓↓

**Použitá literatura:**

1. *Ambler Z., Bednařík J., Růžička E. (editoři):* Klinická neurologie – část obecná. Triton, Praha 2004.
2. *Burtis C.A., Ashwood E.R.:* Tietz Textbook of Clinical Biochemistry, 2nd edition. W.B.Saunders Company, Philadelphia 1994.
3. [Doporučení k vyšetřování mozkomíšního moku., 2016. Dostupné na: https://www.cskb.cz/res/file/doporučení/Dop\\_likvor\\_20161201.pdf](https://www.cskb.cz/res/file/doporučení/Dop_likvor_20161201.pdf)
4. *Kalousová M. a kolektiv:* Patobiochemie ve schématech, Grada, Praha 2005.
5. *Kelbich P. et al.:* Význam základního vyšetření likvoru pro diagnostiku postižení centrálního nervového systému (2. část). Labor Aktuell, 2009,2, str. 10 – 16.
6. *Masopust J.:* Klinická biochemie. Požadování a hodnocení biochemických vyšetření I. a II. část. Karolinum, Praha 1998.
7. *Nevšimalová S., Růžička E., Tichý Jiří a kolektiv:* Neurologie. Galén, Praha 2005.
8. *Racek J. a kolektiv:* Klinická biochemie. Galén-Karolinum, Praha 1999.
9. *Thomas L.:* Clinical laboratory diagnostics. TH-Books, Frankfurt/Main, Germany 1998.
10. *Zima T. a kolektiv:* Laboratorní diagnostika. Galén, Praha 2002.