

5 LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ LIKVORU

Ondřej Sobek, Jaroslava Dušková

KLÍČOVÉ BODY

- Laboratorní analýza likvoru je indikována v rámci diagnostiky zánětlivých, neurodegenerativních, nádorových, popř. hemoragických postižení CNS.
- Základní likvorologické vyšetření podává prvotní rychlou charakteristiku patologického nálezu, z kterého následně vychází indikace doplňujících vyšetření ve specializované likvorologické laboratoři, ve smyslu imunocytochemických, neuroimunologických, mikrobiologických a molekulárně biologických parametrů.
- Nezbytným předpokladem správné likvorologické diagnostiky je vzájemná informovanost a dostatečná míra komunikace mezi klinickým lékařem a laboratoři:
 - » ve fázi preanalytické: odpovídající kvalita vzorku (správný odběrový materiál, dostatečný objem, vhodný transport)
 - » ve fázi analytické: konzultace klinicky relevantních dat a diferenciálně diagnostické rozvahy, racionální indikace adekvátních laboratorních vyšetření
 - » ve fázi postanalytické: komplexní klinicko- laboratorní interpretace výsledků vyšetření

Přítomnost tekutiny v mozku byla známa už Hippokratovi, nicméně první historicky doložitelná vědecká práce o likvoru je z roku 1744 od švédského autora Emanuela Swedenborga, publikovaná až o 140 let později. Počátky moderní české „likvorologické školy“ sahají k profesorovi Leo Tausssigovi a jeho publikaci „Liquor cerebrosppinalis: Lumbální punkce v diagnostice, prognostice a terapii“ z r. 1926.

5.1 MOZKOMÍŠNÍ MOK

Mozkomíšní mok (likvor) představuje médium, které je součástí specifického a do značné míry izolovaného tělního kompartmentu centrálního nervového systému.

Mozkomíšní mok – likvor

- » vyplňuje mozkové komory, cisterny, subarachnoidální prostory a vak plen, v páteřním kanálu a je tak v těsném kontaktu s nervovou tkání
- » produkce likvoru je vydatná, kolem 500–600 ml/24 h
- » celkový objem likvoru se obmění asi 4×/24 h (až 5× u mladých jedinců a pouze 3× ve stáří)

Likvor vzniká v chorioidálních plexech mozkových komor. Odtud proniká přes Sylviovu mokovodu do IV. komory mozkové, dále přes její strop na konvexitu hemisfér, do cisteren a do páteřního kanálu. Likvor se vstřebává v Pacchioniho granulacích nitrolebních žilních splavů a v perineurálních štěrbinách mozkových a míšních nervů.

Jeho fyziologické funkce jsou definovány poměrně vágně – jako mechanická ochrana mozku a míchy, metabolické a transportní médium pro nervovou tkáň apod. Pro svou snadnou přístupnost pro laboratorní vyšetření se však stává významnou diagnostickou maticí při patologických stavech. Má těsný vztah k centrálnímu nervovému systému a tím je blíže k patologickým procesům v nervové tkáni. V jeho poměrně malém objemu (kolem 150 ml) se odrážejí biochemické, energeticko-metabolické, imunologické a buněčné procesy v centrálním nervovém systému mnohem senzitivněji a specifičtěji než při vyšetření krve. Je zcela běžnou klinickou situací, že při hrubě patologickém likvorovém nálezu nenacházíme žádné změny krevních laboratorních parametrů.

Na rozdíl od makroskopické a funkční diagnostiky, zprostředkované zobrazovacími či elektrofyziologickými vyšetřovacími metodami, se u likvorové analýzy jedná o vyšetření na buněčné a subcelulární (humorální, molekulární) úrovni.

Z tohoto pohledu je i v éře moderních zobrazovacích a elektrofyziologických vyšetřovacích metod laboratorní analýza likvoru nezastupitelná v diagnostice poškození nervového systému u postižení zánětlivých, neurodegenerativních, nádorových a ve specifických situacích i u hemoragických afekcí.

Laboratorní vyšetření likvoru z praktických a logisticko-provozních důvodů rozdělujeme na parametry:

- **základní likvorologie**
- rozšířená vyšetření **speciální likvorologie**, která spadají do kompetence specializované likvorologické laboratoře s odpovídajícím přístrojovým a personálním vybavením

5.2 ODBĚR LIKVORU

Likvor se získává rutinně z páteřního kanálu lumbální punkcí v meziobratlovém prostoru L3/4, L4/5, popř.

L5/S1. Poloha pacienta při odběru má vliv na změřené hodnoty tlaku v likvorovém prostoru. V poloze vleže je do cca 20 cm vodního sloupce (15 mm Hg), u sedícího člověka mohou být hodnoty až dvojnásobné. K posouzení průchodnosti likvorových cest slouží provedení tzv. Queckenstedtova testu (při kompresi jugulárních žil dochází k vzestupu likvorového tlaku) a Stookeyho zkoušky (zvýšení abdominálního tlaku vede rovněž k vzestupu likvorového tlaku).

CAVE: Kontraindikací odběru likvoru je nitrolební hypertenze, kterou vyloučí vyšetření očního pozadí před odběrem, případně CT nebo MR mozku.

Před provedením odběru likvoru je nutné též korigovat poruchy krevní srážlivosti (např. závažnou trombocytopenii apod.). Používáme sterilní odběrový materiál, zkumavky bez protisrážlivých aditiv. Atraumatická jehla minimalizuje postpunkční únik likvoru, který vede k **likvorové hypotenzi** s klinickými projevy postpunkčních obtíží.

Postpunkční obtíže:

- » patří mezi ně bolesti hlavy, závratě a nauzea, které se zhoršují vestoje
- » při návratu do polohy vleže se tyto postpunkční obtíže zmírňují

Likvor odebíráme pokud možno do **2–3 odběrových zkumavek** (postupné čtení porcí likvoru při malé arteriální krevní příměši) v dostatečném množství, zpravidla 10–15 ml u dospělého pacienta.

Paralelně (do cca 30 min) s odběrem likvoru odebíráme i **plnou srážlivou krev** (opět 10–15 ml), neboť pro výpočet a interpretaci řady likvorologických laboratorních parametrů je nutné znát paralelní sérové hodnoty.

Vzácně používanou metodou odběru likvoru je **sub-okcipitální punkce** cisterna magna, prováděná pod os occipitale mediálně přes atlantookcipitální membránu. Rizikem je nabití aberantně probíhajících cév (a. vertebralis, a. cerebelli inferior posterior) s potenciálně fatálním intrakraniálním krvácením.

Odběr likvoru přímo z mozkových komor (**komorová punkce**) je řazen mezi chirurgické výkony. Z neurologické indikace se provádí zřídka.

- ☒ Vzhledem k významnému kraniokaudálnímu gradientu proteinurie je nutno způsob odběru (lumbální nebo komorový odběr) uvést na žádance o laboratorní vyšetření.

Po odběru likvoru

Odebraný vzorek likvoru, plné krve, popř. centrifugovaného séra je nutno označit **identifikační pacienta** (na každou zkumavku, včetně očíslování porce) a s řádně vyplněnou **žádankou** včetně zásadních klinických informací a diferenciálně diagnostické úvahy doručit neprodleně do laboratoře. Aby se zabránilo degradaci vzorku, musí transport likvoru probíhat co nejrychleji, ale zároveň šetrně, bez zbytečných mechanických otřesů (nevhodná je například potrubní pošta), bez rizika zmrznutí či přehřátí. Doporučujeme použít přepravní termoboxy s monitorováním teploty, což je podrobně uvedeno v požadavcích na transport a preanalytickou fázi na webové stránce www.likvor.cz.

Vzájemná spolupráce kliniků a laboratoře

Zásadní význam pro maximální diagnostickou výtežnost vyšetření likvoru má komunikace mezi klinickým a laboratorním pracovištěm před vlastním laboratorním vyšetřením, během probíhající laboratorní analýzy a dále je důležitá vzájemná interpretace klinických dat s finálními laboratorními výsledky.

Před vlastním laboratorním vyšetřením je nutná:

- a) znalost požadavků na preanalytickou fázi vyšetření
 - ~ vhodný odběrový materiál (zkumavky bez aditiv)
 - ~ adekvátní vzorek v dostatečném množství (likvor + sérum z paralelního odběru)
 - ~ vhodné skladování a transport
- b) uvedení klinické epikrizy a diferenciálně diagnostické úvahy na žádance
 - ~ pro klinicko-laboratorní komunikaci a interpretaci výsledků
- c) racionální indikace spektra vyšetření
 - ~ medicínský aspekt včasné a správné diagnózy
 - ~ ekonomický aspekt šetření nákladů na zbytečná vyšetření

CAVE: Pro cytologické vyšetření je nutný čerstvý, nativní, nezamražený likvor.

Během probíhající laboratorní analýzy jsou zapotřebí operativní konzultace a korekce indikovaných vyšetření dle průběžných výsledků. Na závěr je nutná finální komplexní interpretace laboratorního nálezu.

Požadavky na preanalytickou fázi, spektrum jednotlivých laboratorních vyšetření a jejich indikační kritéria lze nalézt v aktualizované podobě na specializovaných webových stránkách www.likvor.cz

5.3 ZÁKLADNÍ LIKVOROLOGIE

Patří sem základní likvorologické parametry a cytologie likvoru.

5.3.1 Základní likvorologické parametry

Základní vyšetření likvoru (tab. 5.1), které by mělo být optimálně místně a časově dostupné, zahrnuje tyto složky:

- kvantitativní cytologii (stanovení počtu jaderných elementů a erytrocytů)
- kvalitativní cytologii se zhotovením trvalého cytologického preparátu v základním barvení (zpravidla May-Grünwald/Giemsa-Romanowski)
- stanovení celkové bílkoviny
- stanovení glukózy
- stanovení laktátu
- spektrofotometrické vyšetření

Tento panel laboratorních parametrů nám umožňuje s poměrně vysokou senzitivitou odhalit základní typy patologických procesů v likvorovém kompartmentu. Dále pomáhá určit základní směr diferenciálně diagnostické úvahy se zvolením odpovídajícího spektra následných laboratorních vyšetření. Další klinické a laboratorní rozhodování lze uplatnit v rámci parametrů rozšířené speciální likvorologie.

Hodnocení základních likvorologických parametrů se týká vzhledu likvoru, biochemických parametrů, spektrofotometrie a cytologie.

5.3.2 Makroskopický vzhled likvoru

Již při odběru mozkomíšního moku můžeme získat orientační informaci o určitých poměrech v likvorovém kompartmentu. Za fyziologických okolností je likvor čirý, bezbarvý.

■ Tabulka 5.1 Parametry základní likvorologie

Biochemické parametry
• celková bílkovina (0,18–0,43 g/l) • energetika: » glukóza (2,0–4,0 mmol/l) » laktát (1,0–2,0 mmol/l) » koeficient energetické bilance (28–38) • spektrofotometrie (negativní)
Cytologie
• kvantitativní (4 elementy/μl) • kvalitativní

V případě zvýšeného množství bílkoviny (**proteinorachie**), a zejména při zvýšeném počtu elementů dochází k zákalu likvoru.

Při krvácení do likvorových cest je likvor krvavý, červené barvy (**sanguinolentní**); pokud se jedná o starší krvácení, pak je nažloutlý (**xantochromní**). Xantochromní likvor nacházíme obecně při přítomnosti bilirubinu jako rozpadového produktu krve. Krev se do likvoru může dostat také arteficiálně, nabodnutím venózního plexu při lumbální punkci. Toto lze orientačně ožřejmit tzv. „zkouškou 3 zkumavek“. Pokud se jedná o arteficiální krev, pak se likvor během odběru postupně vyčechí: první zkumavka je silně krvavá, v každé další zkumavce postupně příměs krve klesá. Jedná se však o spíše historickou „makroskopickou“ metodu přímým pohledem vyšetřovatele při odběru. Definitivní rozlišení arteficiální krevní příměsi od mozkového, resp. subarachnoidálního krvácení nám poskytne až spektrofotometrické a cytologické vyšetření likvoru.

5.3.3 Základní biochemické parametry

Proteinorachie je celková koncentrace bílkovin v likvoru. Je cca 100–200× nižší než v séru, z čehož plynou hypoonkotické vlastnosti tohoto média, nepříznivé pro přežití buněk in vitro. Proto je nutné provádět cytologické vyšetření z čerstvého likvoru. Koncentrace celkové bílkoviny (CB) v likvoru nám dává orientační představu o stavu hemato-likvorové bariéry (HLB), neboť elevace CB zpravidla znamená její zvýšenou permeabilitu.

Hodnocení proteinorachie je podkladem pro **základní likvorologické syndromy**. Rozlišujeme tyto tři základní syndromy:

1. **proteinocytologická asociace** – elevace CB spolu se zvýšeným počtem elementů – pleocytózou (např. při rozvinutém obrazu bakteriální neuroinfekce)
2. **proteinocytologická disociace** – elevace CB při normálním počtu elementů (např. při akutní zánětlivé demyelinizační polyneuropatii – AIDP nebo chronické zánětlivé demyelinizační polyneuropatii CIDP)
3. **cytoproteinová disociace** – elevace počtu elementů (pleocytóza) při normální koncentraci CB (např. při iniciační fázi virové neuroinfekce)

Pro detailnější posouzení proteinogramu a funkce HLB je nutné doplnit další parametry rozšířené likvorologie (Q Alb, kvantitativní a kvalitativní vyšetření imunoglobulinů, zánětlivých markerů, strukturálních proteinů CNS apod.).

Koncentrace glukózy v likvoru závisí na glykemii. Vyšší hodnoty glukózy v likvoru nacházíme především u diabetiků. Nízké hodnoty spolu s elevací laktátu a posunem v koeficientu energetické bilance svědčí pro zvýšené energetické nároky, což je typické u purulentních

neuroinfekcí nebo nádorových infiltrací. Tyto alterace energetických parametrů jsou převážně způsobeny vysokou metabolickou aktivitou fagocytů (mikro- či makrofágů) fagocytujících patologické agens (viz koeficient energetické bilance).

Koncentrace laktátu je přímo úměrná intenzitě anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu.

Koeficient energetické bilance (KEB) udává průměrný počet molekul ATP vyprodukovaných za aktuálních energetických poměrů v likvoru z jedné molekuly glukózy. Jeho hodnoty se za fyziologických okolností pohybují v rozmezí 28–38. Tento kvocient je velmi užitečný v diferenciální diagnostice zánětů a nádorových postižení CNS. U bakteriálních neuroinfekcí (zpravidla i u nádorových infiltrací) jsou jeho hodnoty velmi nízké až záporné a informují nás o oxidačním vzplanutí fagocytů (neutrofilní granulocyty, makrofágy). U serózních neuroinfekcí jsou hodnoty KEB podstatně méně snížené nebo zůstávají beze změny.

Koeficient energetické bilance se vypočítá podle vzorce navrženého dr. Kelbichem:

$$KEB = 38 - 18 \cdot \frac{\text{laktát}_{CSF}}{\text{glukóza}_{CSF}}$$

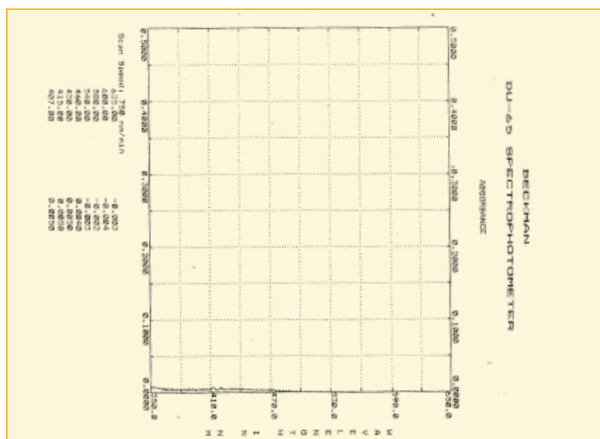
Vyšetřování koncentrace **chloridů** v likvoru se nyní standardně neprovádí. Jeho hodnoty korelují s koncentrací v séru. Výrazné snížení koncentrací bylo pozorováno např. u bazilární meningitidy, méně výrazné snížení je popisováno u purulentních meningitid nebo mykotických infekcí.

5.3.4 Spektrofotometrie

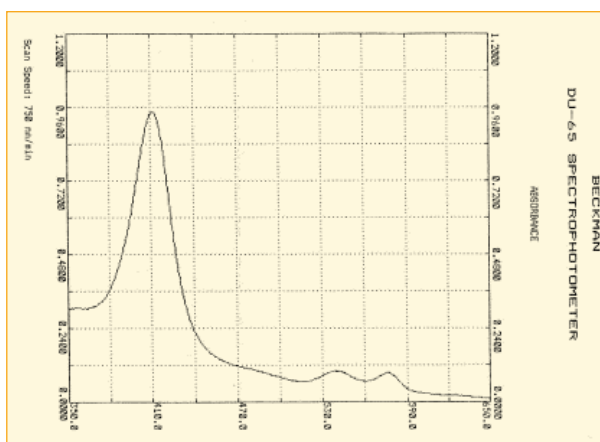
Na monochromatickém spektrofotometru s kontinuálním záznamem prokazujeme v likvoru přítomnost produktů metabolismu hemoglobinu po krvácení do CNS. Bezprostředně po krvácení zde nacházíme **oxyhemoglobin** (absorpční maximum 415 nm), popř. **methemoglobin** (absorpční maximum 408 nm). Za 36 hodin po krvácení jsme schopni v likvoru detekovat nejprve **nekonjugovaný bilirubin** (absorpční maximum 460 nm) a posléze i **konjugovaný bilirubin** (absorpční maximum 430 nm).

Na obrázcích jsou uvedeny příklady normální spektrofotometrie likvoru (obr. 5.1) a spektrofotometrie likvoru u akutního a subakutního subarachnoidálního krvácení s přítomností oxyhemoglobinu a bilirubinu (obr. 5.2 a 5.3).

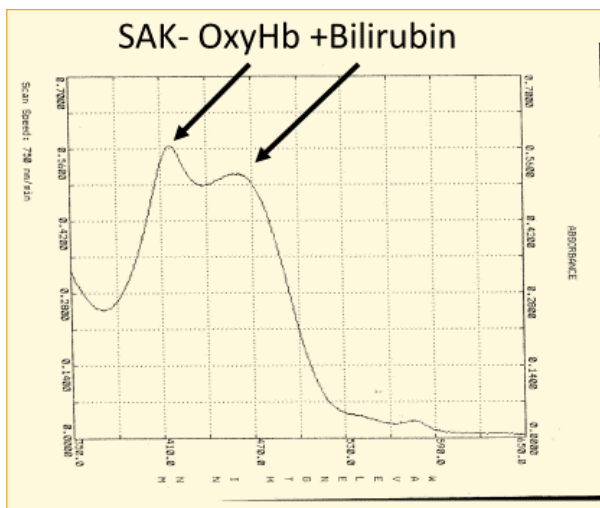
CAVE: Likvor k spektrofotometrickému vyšetření je nutno co nejdříve po odběru centrifugovat (do 30 minut). Jinak může spektrofotometrické vyšetření poskytovat falešně pozitivní výsledky.



Obr. 5.1 Normální spektrofotometrický záznam likvoru



Obr. 5.2 Spektrofotometrický záznam likvoru s oxyhemoglobinem a akutního subarachnoidálního krvácení



Obr. 5.3 Spektrofotometrický záznam likvoru s oxyhemoglobinem a bilirubinem u subakutního subarachnoidálního krvácení

5.3.5 Cytologie likvoru

K cytologickému vyšetření je nutno použít čerstvý a nativní, tj. necentrifugovaný likvor. Vzhledem k tomu, že buněčné elementy v likvoru podléhají v hyponkotickém prostředí velmi rychlým morfologickým a destruktivním změnám, je třeba provést toto vyšetření co nejdříve, nejlépe do 2 hodin po odběru (někteří autoři připouštějí do 3 hodin).

Likvor na cytologické vyšetření se standardně odebírá do sterilních zkumavek bez aditiv. Před vyšetřením jej uchováváme při pokojové teplotě. Je nutno zabránit přehřátí vzorku, stejně tak nesmí být zamražen.

■ Kvantitativní cytologie

Kvantitativní cytologie stanoví počet buněčných elementů. Standardně se provádí mikroskopicky ve Fuchsově-Rosenthalově komůrce. K dispozici jsou i automatické analyzátory pracující na principu průtokové cytometrie.

Počet elementů v likvoru:

- » Normální nález v likvoru je do 4 elementů/ μ l
- » Nad tento počet hodnotíme nález jako abnormální

Tento parametr je součástí zařazení nálezu do základních likvorologických syndromů a slouží ke kategorizaci cytologického nálezu typu pleocytóza/oligocytóza.

■ Kvalitativní cytologie

Kvalitativní cytologie se zhotovením trvalého cytologického preparátu nám dovoluje precizně identifikovat jednotlivé typy a řady buněčných elementů v likvoru, například identifikaci zánětlivé celulózy a rozlišení mezi serózním a purulentním typem zánětu, detekci úklidové celulózy reakce po krvácení či nález atypických nádorových elementů v likvoru. K bližší typizaci je však nutné

další **imunocytochemické** či **flow-cytometrické** vyšetření ve specializované likvorologické laboratoři.

■ Cytologický likvorový preparát

Ke zhotovení cytologického likvorového preparátu se používá zpravidla cytocentrifugační, popř. cytosedimentační metoda s následným cytologickým barvením, například dle Maye-Grünwalda-Giemsy (MGG) nebo další barvení, jako je průkaz lipidů olejovou červení, průkaz hemosiderinu berlínskou modří, PAS reakce, barvení dle Papanicolaoua, Grama, Ziehla-Neelsena apod. Tyto rozšířené barvicí modality například s imunocytochemickým průkazem specifických buněčných antigenů u nádorových buněk patří do kompetence specializované likvorologické laboratoře.

Buněčná skladba likvoru

Normálně se nevyskytují aktivované buněčné elementy. V lymfocytární řadě tedy nenacházíme plasmocyty a v monocytární řadě makrofágy, není přítomna fagocytární aktivita.

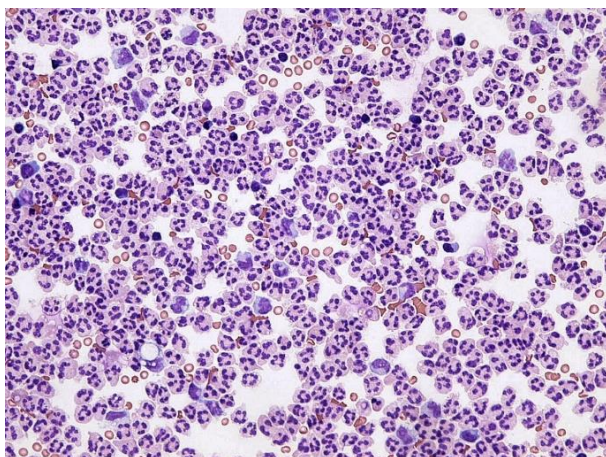
Buněčné elementy v likvoru:

- » Za fyziologických okolností se v likvoru vyskytují lymfocyty a monocyty (v poměru zhruba 60 : 40 % až 80 : 20 %).
- » Jedná se o jejich klidová stadia.

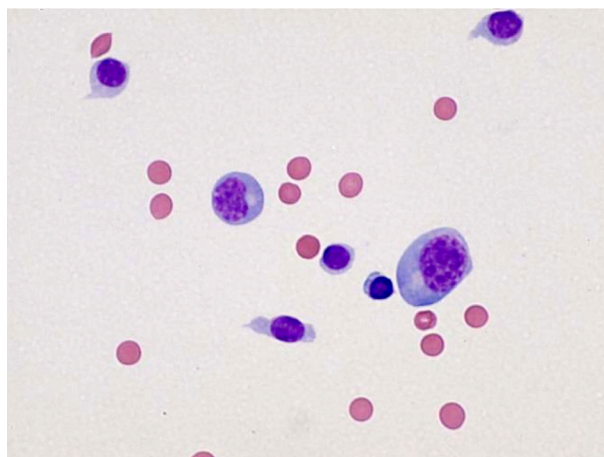
Zvýšení počtu jaderných buněčných elementů nad 4/ μ l označujeme jako **pleocytózu**, kterou dělíme dle převažujícího typu buněk na:

- lymfocytární
- monocytární
- granulocytární (s převahou granulocytárních leukocytů) (**obr. 5.4**)
- tumorózní (při nálezů nádorových elementů)

I při normálním počtu buněk v likvoru může být její skladba patologická, například se vyskytují aktivo-



Obr. 5.4 Granulocytární pleocytóza – záplava neutrofilních granulocytů u purulentního zánětu v likvoru

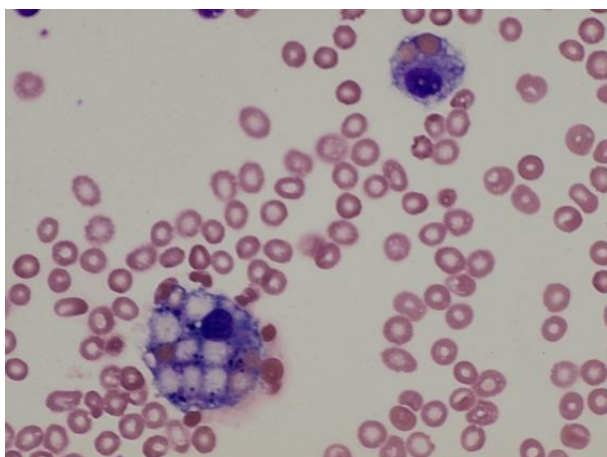


Obr. 5.5 Plasmocyty v likvoru

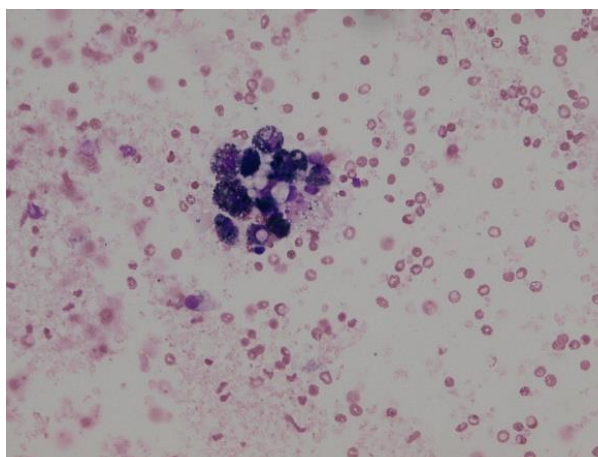
Tabulka 5.2 Základní klasifikace cytologických nálezů v likvoru (oligocytoza a pleocytoza)

OLIGOCYTÓZA – normální počet buněčných elementů (do 4 /μl)		
Typ oligocytozy	Charakteristika	Diagnostický význam
lymfocytární	aktivované lymfocyty, zejm. plasmocyty	serózní zánět, např. roztroušená skleróza
monocytní	aktivované buňky monocyto-makrofágového systému, makrofágy	terminální fáze neuroinfekcí, úklidová reakce po krvácení či tkáňovém poškození, AIDP/CIDP, reakce na nádorový proces
granulocytární	s převahou neutrofilních granulocytů	iniciální fáze serózních neuroinfekcí, reakce na akutní tkáňové poškození, krvácení
granulocytární	s převahou eozinofilních granulocytů	mykotické, parazitární choroby, reakce na cizí materiál v likvorových cestách (drén)
tumorózní	nádorové elementy	tumorová afekce CNS – nutná další identifikace nádorových elementů
PLEOCYTÓZA – zvýšený počet buněčných elementů (nad 4 /μl)		
Typ pleocytozy	Charakteristika	Diagnostický význam
lymfocytární	aktivované lymfocyty, zejm. zralé plasmocyty	serózní záněty – virové neuroinfekce, některé bakteriální infekce – spirochetové (neuroborelióza, neurolues, leptospiróza), autoimunitní záněty (např. roztroušená skleróza)
monocytní	aktivované buňky monocyto-makrofágového systému, makrofágy	úklidová reakce – po krvácení či tkáňovém poškození (např. ischemie, krvácení, neurochirurgický výkon), reakce na nádorový proces aj.
granulocytární	s převahou neutrofilních granulocytů	purulentní meningitida – zpravidla bakteriální neuroinfekce (k posouzení oxidativního vzplanutí PMN – viz parametr KEB)
granulocytární	s převahou eozinofilních granulocytů	mykotické, parazitární choroby, reakce na cizí materiál v likvorových cestách (drén)
tumorózní	nádorové elementy	tumorová afekce CNS – nutná další identifikace nádorových elementů

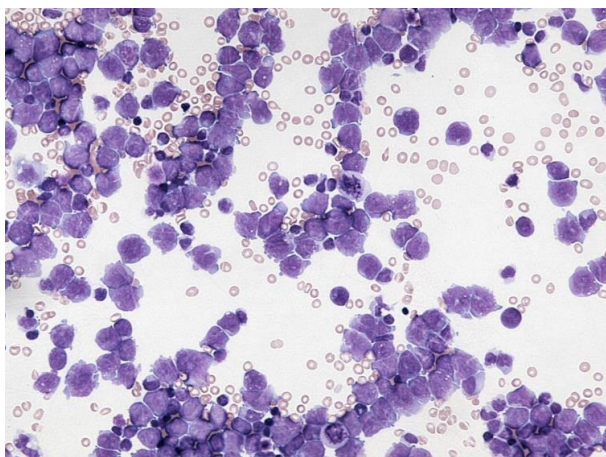
AIDP/CIDP – akutní/chronická zánětlivá demyelinizační polyneuropatie, PMN – polymorfonukleáry, KEB – koeficient energetické bilance, CNS – centrální nervový systém



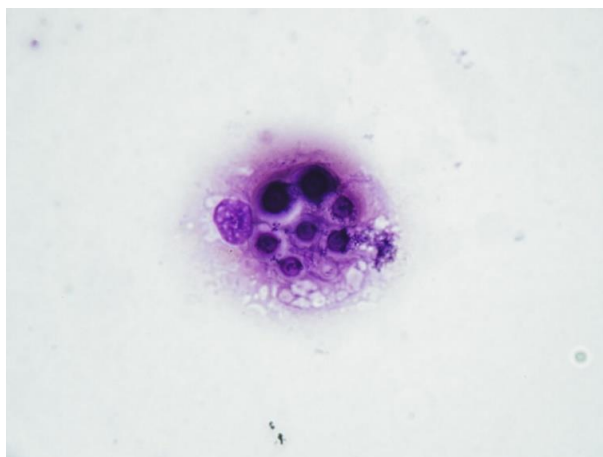
Obr. 5.6 Erytrofágy v likvoru, barvení dle Maye-Grünwalda-Giemsy



Obr. 5.7 Siderofág v likvoru



Obr. 5.8 Nádorové buňky v likvoru (lymfomová infiltrace CNS při non-hodgkinském lymfomu)



Obr. 5.9 Cryptococcus neoformans v likvoru (obrázek poskytl dr. Kelbich)

vané elementy typu plasmatických buněk (obr. 5.5) nebo makrofágů. Tento stav označujeme obecným termínem **oligocytoza**, analogicky značíme dle převažující buněčné řady jako lymfocytární, monocytární, granulocytární nebo tumorózní.

Základní klasifikace cytologických nálezů v likvoru (oligocytozy a pleocytozy) je uvedena v tabulce 5.2.

Z diagnostického hlediska je důležitá přesnější klasifikace makrofágové odpovědi v rámci cytologického obrazu a identifikace specifického substrátu fagocytózy:

- **erytrofágy** – fagocytované erytrocyty, u čerstvého krvácení (po 4–6 hodinách) (obr. 5.6)
- **siderofágy** – fagocytovaný hemosiderin, degradační produkt hemoglobinu (4.–5. den po krvácení, v časně fázi nutno použít speciální barvení na železo) (obr. 5.7, 5.10a)
- **makrofágy s obsahem hematoidinu** – krystalický bilirubin, pozdní fáze po krvácení (zhruba od 13. dne)
- **lipofágy** – tzv. pěnitě buňky v základním barvení (k průkazu nutno použít speciální barvení na lipidy). Jde o projev úklidové reakce po strukturálním poškození nervové tkáně. Nález je senzitivní, ale etiologicky nespecifický, vyskytuje se u nekrotizujících neuroinfekcí, traumat, ischemie, krvácení, nádorových infiltrací
- **lymfofágy** – fagocytované lymfocyty, v pozdním stadiu serózních zánětů
- **leukofágy** – fagocytované granulocyty, v pozdním stadiu purulentních zánětů

Nádorové buňky lze v likvoru detekovat u metastatického nádorového poškození CNS (u hematologických maligních onemocnění), (obr. 5.8) nebo u solidních tumorů či primárních tumorů CNS. Míra zachytu nádorových buněk v likvoru závisí na lokalizaci tumoru vzhledem k likvoro-

vým cestám a míře jeho koheze, tj. schopnosti uvolňovat jednotlivé nádorové buňky či jejich shluky do likvorového kompartmentu. Jako **karcinomatózu mening**, přesněji maligní či nádorovou meningeální infiltraci, označujeme stav, kdy maligní buňky infiltrují meningy bez detekovatelného ložiska metastázy v parenchymu CNS a jsou uvolňovány a nalézány v likvoru.

Pro detekci nádorových elementů v likvoru je nezapustitelné kvalitativní cytologické vyšetření s následnou imunocytochemickou identifikací nádorových buněk pomocí monoklonálních protilátek. U infiltrací CNS hematologickými nádory je vhodné doplnit vyšetření likvoru průtokovou cytometrií. Limitujícím faktorem může být celkově nízký počet buněk v daném objemu vzorku.

V likvoru můžeme nalézt také různé **mikroorganismy**, např. bakterie, mykotická či parazitární agens apod. (obr. 5.9).

5.3.6 Klinický význam základního likvorologického vyšetření

Parametry základní likvorologie nám poskytují rychlou a obecnou diagnostickou informaci o poměrech v likvorovém, resp. CNS kompartmentu.

K detailnějšímu diagnostickému závěru, kdy chceme nalézt etiologické agens u neuroinfekcí, stanovit přesnou klasifikaci autoimunitního procesu, posoudit míru a typ strukturálního poškození např. v rámci neurodegenerativního procesu či provést detailní identifikaci nádorových buněk, je nezbytné doplnit vyšetření o laboratorní parametry rozšířené likvorologie a neuroimunologie, prováděné ve specializované likvorologické laboratoři.

5.4 ROZŠÍŘENÉ LIKVOROLOGICKÉ A NEUROIMUNOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Ondřej Sobek, Jaroslava Dušková

Rozšířená likvorologická diagnostika navazuje na parametry základního vyšetření mozkomíšního moku a dále je rozvíjí o stanovení podrobného likvorového proteinogramu, pokročilé cytologické, imunocytochemické a flow-cytometrické vyšetření buněčných elementů. Soubor vyšetření je rozšířen o imunologické, mikrobiologické a molekulárně genetické laboratorní metody.

5.4.1 Speciální likvorologická vyšetření

Ke speciálním likvorologickým vyšetřením řadíme:

- podrobné **cytologické vyšetření** (imunocytochemická identifikace buněk, průtoková cytometrie)
- stanovení **funkce hematolikorové bariéry**
- stanovení **imunoglobulinů** (včetně kvantifikace volných lehkých řetězců FLC kappa a lambda) s určením jejich intratekální oligoklonální syntézy (OCB) metodou izoelektrické fokusace (IEF) minimálně ve třídě IgG. K dispozici jsou i metodiky pro stanovení OCB ve třídách IgM, IgA a volných lehkých řetězců κ a λ
- stanovení **protilátek** proti mikrobiálním patogenním agens nebo stanovení přítomnosti jejich **DNA či RNA** v likvoru metodou PCR (polymerase chain reaction)
- detekce **neurálních autoprotilátek**, kam patří například onkoneurální-paraneoplastické protilátky, protilátky proti NMDA či AMPA receptorům, iontovým kanálům (LGI-1, caspr-2) a proti dalším buněčným strukturám jako AQP-4, MOG, MBP apod.
- stanovení koncentrací **markerů zánětu** (IL-1, 6, 8, 10, CXCL13, proteiny akutní fáze, složky komplementu aj.)
- stanovení **markerů tkáňové destrukce** (protein S100B, NSE – neuron-specif. enoláza, NF – neurofilamenta aj.)
- vyšetření **specifických markerů CNS**, například tau-protein, fosforylovaný tau-protein a beta-amyloid (tzv. *likvorový triplet u Alzheimerovy choroby*), *protein 14-3-3* (rozsáhlá destrukce CNS, Creutzfeldova-Jakobova choroba), *beta-trace protein* (detekce likvorohy)

Tato diagnostika je optimálně prováděna v rámci komplexní multidisciplinární specializované likvorologické laboratoře, která má velkou zkušenost v problematice vyšetřování a interpretaci mozkomíšního moku a v neurologické diagnostice. Požadavkem na takto specializovanou likvorologickou laboratoř je vysoká kvalita poskytovaných diagnostických služeb včetně akreditace klíčových vyšetření mozkomíšního moku (**tab. 5.3**).

Tabulka 5.3 Požadavky na kvalitu likvorologické laboratoře

Akreditace dle ISO 15189 pro vyšetření mozkomíšního moku minimálně v rozsahu
• základní biochemické parametry (CB, Glu, Lac) v likvoru • cytologické vyšetření likvoru • stanovení Alb, IgG, IgM, IgA v likvoru • stanovení OCB metodou IEF v likvoru a séru • stanovení DNA JC viru metodou PCR v likvoru
Pravidelná účast laboratoře v národním a mezinárodním externím hodnocení kvality (EHK/EQA), zaměřeném na analýzu likvoru (SEKK, INSTAND, NEQAS aj.)

CB: celková bílkovina, Glu: glukóza, Lac: laktát, Alb: albumin, OCB: oligoklonální pásy (oligoclonal bands), IEF: izoelektrická fokusace, JC virus: John Cunningham virus, PCR: polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction), EHK/EQA: externí hodnocení kvality/ external quality assessment, SEKK: Systém externí kontroly kvality, INSTAND: Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V., NEQAS: National External Quality Assessment System, UK

Předpokladem úspěšné diagnostiky neurologických pacientů je obousměrně fungující komunikace mezi klinickým a laboratorním pracovištěm, resp. indukujícím klinickým lékařem a laboratorním specialistou.

5.4.2 Rozšířená cytologie a imunocytologie

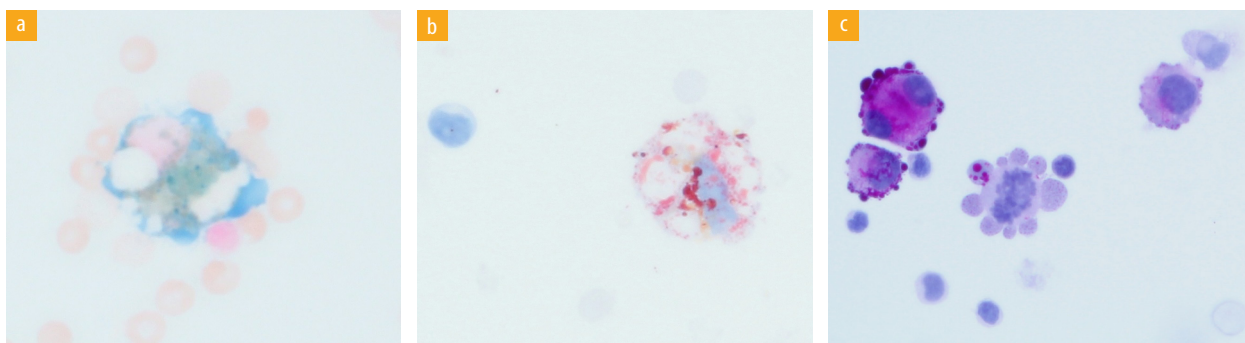
V rámci rozšířeného cytologického vyšetření likvoru lze na specializovaném pracovišti aplikovat celou škálu barvení, které poskytují doplňující diagnostické informace (**obr. 5.10, 5.11**). Patří sem tato barvení:

- charakter makrofágové odpovědi v likvoru (identifikace substrátu fagocytózy – barvení na lipidy, na železo)
 - mikroskopická identifikace mikrobiálních agens (barvení dle Grama, Ziehla-Neelsena, alciánovou modří aj.)
 - identifikace intracelulárních metabolických substrátů (PAS reakce)
 - morfologie buněčného jádra (PAP, barvení na jádérka)
- Samostatnou a klinicky závažnou problematikou je cytologická identifikace nádorových elementů v likvoru. Záchyt a identifikaci nádorových buněk v likvoru obecně komplikují:

- malý objem primárního vzorku
- malý buněčný záchyt
- hypoonkoticky podmíněné morfologické změny
- zánětlivě podmíněné morfologické změny

Morfologická kritéria a konvenční barvení většinou nedostačují k určení konkrétního typu nádoru. K bližší identifikaci nádorových elementů je tak zapotřebí jejich imunotypizace pomocí značených monoklonálních protilátek proti konkrétním membránovým, cytoplasmatickým nebo jaderným antigenům.

Jedná se o technicky náročné imunocytochemické (ICC) nebo průtokově-cytometrické laboratorní metody



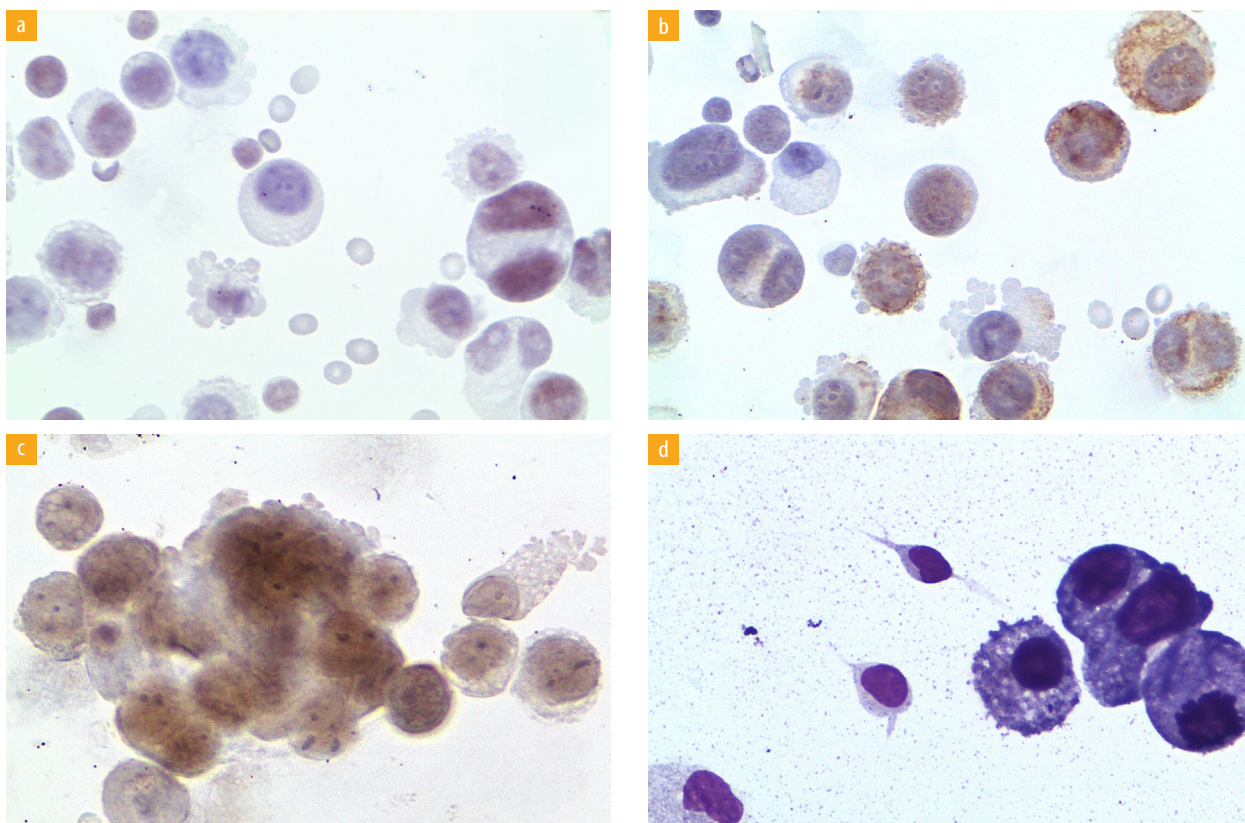
Obr. 5.10 Paleta cytochemických barvicích metod v rámci rozšířeného cytologického vyšetření likvoru; **a)** barvení na železo u krvácení, **b)** lipofág barvený ORO, **c)** PAS reakce u nádorových buněk

(FCM – flow-cytometry), prováděné zpravidla na specializovaném likvorologickém (nebo cyto-patologickém a hemato-onkologickém) pracovišti.

Imunocytochemické a imunohistochemické metody jsou vhodné pro identifikaci nádorových elementů u solidních tumorů (karcinomy, neuroektodermální tumory, sarkomy) a při zpracování oligocelulárních vzorků. U hematologických malignit postihujících CNS (leukemie, lymfomy) se doporučuje kombinovat konvenční mikroskopickou cytologii s cytometrickým vyšetřením likvoru.

Pro detailní cytologické, imunocytochemické a FCM vyšetření je nutné zachovat u vyšetřovaných buněk co nejlepší morfologické a antigenní charakteristiky.

CAVE: Je vhodné tato vyšetření předem domluvit s laboratoří a zajistit rychlý a šetrný transport vzorku (optimálně > 5 ml) ihned po odběru!



Obr. 5.11 Imunocytochemická identifikace nádorových buněk v likvoru; **a)** jaderná pozitivita TTF1, **b)** pozitivita cytokeratinů (CKAE), **c)** pozitivita estrogenních receptorů u infiltrace mamárního karcinomu, **d)** nádorové buňky v likvoru – základní barvení MGG

5.4.3 Stanovení permeability hematolivorové bariéry

Hematolivorová bariéra je struktura tvořená endotelem chorioideálních plexů a sítí drobných kapilár v pia mater. Jedná se o dynamický systém umožňující transport látek mezi krevním kompartmentem (vyšetřovanou matrici zde zpravidla představuje krevní sérum) a likvorem, zejména na podkladě difuze dle koncentračního gradientu (zpravidla ze séra do likvoru). Snáze a rychleji procházejí menší molekuly. Zvýšení koncentrace určité látky v séru má za následek zvýšení koncentrace této látky i v likvoru, přičemž poměr obou koncentrací, označovaný jako kvocient (Q), zůstává konstantní. Stav HLB popisuje referenční, tzv. **albuminový kvocient** (Q_{alb}), daný poměrem koncentrace albuminu v likvoru a koncentrace albuminu v séru.

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

Permeabilitu HLB ovlivňuje celá řada faktorů, např. zánětlivý proces či porucha cirkulace likvoru. Vyšší věk ji zvyšuje (tab. 5.4). Od 5 let věku lze použít rovnici pro horní hranici referenčního rozmezí podle Reibera.

$$Q_{alb} \cdot 10^{-3} \leq 4 + \frac{\text{věk v letech}}{15}$$

5.4.4 Vyšetření imunoglobulinů

Vyšetření imunoglobulinů v likvoru má klinický význam zejména u zánětlivých onemocnění CNS, kdy dochází zpravidla ke zvýšení jejich koncentrací. Samotné zvýšení koncentrací imunoglobulinů v likvoru ještě neznamená jejich lokální, tj. **intratekální syntézu**. Mohou se sem dostat přestupem ze séra po koncentračním spádu, popř. v důsledku zvýšené permeability HLB.

Klíčové je tedy stanovení imunoglobulinů, ve vztahu k hematolivorové bariéře, resp. jejich intratekální syntéze. U zánětlivých procesů v CNS, včetně autoimunitních, jsou zdrojem intratekálních imunoglobulinů plasmocyty tvořící perivaskulární infiltráty lokalizované v CNS. Na rozdíl od séra, kde po akutním stadiu nemoci charakterizovaném IgM odpovědí následuje produkce IgG, v likvorovém kompartmentu tuto konverzi ne vždy pozorujeme. Imunoglobulinový vzorec IgG/IgM/IgA prokázaný u určitého jedince zůstává spíše konstantní, a může pak dokonce přetrvávat i bez přítomnosti vyvolávajícího agens.

Kvantitativní analýza zahrnuje hmotnostní koncentrace a následně výpočtové vztahy (Linkův index, Reibera rovnice) (tab. 5.5) pro základní třídy IgG, IgM,

IgA. Míra intratekální syntézy stanovená výpočtem však nedosahuje senzitivity ani specifity vyšetření oligoklonálních páسů (OCB – oligoclonal bands) metodou izoelektrické fokusace (IEF). Perspektivní se jeví z hlediska míry korelace s kvalitativními metodami kvantitativní stanovení intratekální syntézy volných lehkých řetězců imunoglobulinů kappa a lambda (free light chains – fLC).

■ **Tabulka 5.4** Věkově vázané referenční hodnoty albuminového kvocientu Q_{alb} (orientační hodnoty)

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

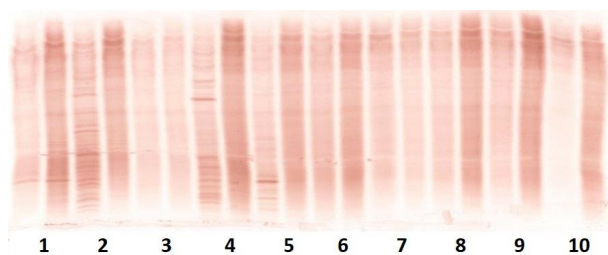
■ **Tabulka 5.5** Základní hmotnostní koncentrace imunoglobulinů a jejich výpočtové vztahy

Výpočet IgG indexu (normální hodnoty do 0,65)	
IgG index = $\frac{IgG_{CSF} / IgG_{sérum}}{albumin_{CSF} / albumin_{sérum}} = \frac{Q_{IgG}}{Q_{alb}}$	
Výpočet intratekální syntézy IgG (IgGLoc) dle Reibera (za normálních okolností je hodnota ≤ 0 , tj. intratekální syntéza není přítomna)	
IgGLoc = $[QIgG - QLim (IgG)] \cdot IgG_{sérum} [mg/l]$ (výpočet Q lim viz výpočet protilátkového indexu)	
Výpočet indexu fLC kappa (normální hodnota 1,24–5,03)*	
fLCk index = $\frac{fLC_{CSF} / fLC_{sérum}}{albumin_{CSF} / albumin_{sérum}} = \frac{Q_{fLCk}}{Q_{alb}}$	
Výpočet indexu fLC lambda (normální hodnota 1,49–7,48)*	
fLCL index = $\frac{fLCL_{CSF} / fLCL_{sérum}}{albumin_{CSF} / albumin_{sérum}} = \frac{Q_{fLCL}}{Q_{alb}}$	

* referenční rozmezí normálních hodnot viz www.likvor.cz

■ **Tabulka 5.6** Vzorce IEF a jejich interpretace

IEF vzorec	Interpretace
I. Negativní OC syntéza 0–1 OCB	normální nález
II. Intratekální syntéza $> 1 OCB_{CSF}$ 0 $OCB_{sérum}$	zánět postihující CNS
III. „More than pattern“ $> 1 OCB_{CSF}$ $> 1 OCB_{sérum}$ $OCB_{CSF} > OCB_{sérum}$	systémový zánět s postižením CNS
IV. Mirror pattern $OCB_{CSF} = OCB_{sérum}$	systémový zánět bez postižení CNS
V. Vzorec paraproteinu	monoklonální gamapatie



Obr. 5.12 Izoelektrická fokusace, deset pozic s nanesenými párovými vzorky likvoru : sérum od různých pacientů. Jsou patrné oligoklonální pásy v likvoru a séru na blotovací nitrocelulózové membráně (imunochemická vizualizace pomocí monoklonální protilátky proti lidskému IgG značené chromogenem).

Kvalitativní analýza intratekální syntézy s přímým průkazem **oligoklonálních pásů** představuje základní pilíř likvorologické diagnostiky zánětlivých onemocnění CNS, zvláště autoimunitních demyelinizačních onemocnění. V rámci rozsáhlých metaanalýz u pacientů s RS se pro o-IgG (oligoklonální IgG) udává diagnostická senzitivita 93–95% a specifita 94% (Petzold, 2013). Zlatým standardem je izoelektrická fokusace s následným blottin-gem a imunoenzymatickým barvením (obr. 5.12).

Pokrok v laboratorních metodikách v současnosti umožňuje stanovit oligoklonální pásy nikoliv pouze v základní třídě IgG, ale rovněž v třídách IgM a IgA a FLC κ , λ . Při detekci OCB je klíčovým momentem průkaz intratekální syntézy, tj. nález vzorce II a III s nekorespondujícími pásy v likvoru, s absencí sérového korelátu (tab. 5.6).

Rozšíření diagnostiky i na další třídy imunoglobulinů IgM, IgA a FLC κ , λ má značný klinický význam v čas-ných stádiích autoimunitního demyelinizačního procesu, kde nemusí být OCB ve třídě IgG detekovány, i v rámci diferenciální diagnostiky rozlišení zánětlivých procesů u neuroinfekcí, popřípadě dalších typů autoimunitního poškození CNS.

I přes poměrně vysokou klinickou senzitivitu a speci-ficitu kvantitativního stanovení FLC kappa u roztroušené sklerózy, zůstává stále z laboratorně - analytického hlediska **kvalitativní detekce OCB základní referenční metodou pro přímý průkaz oligoklonální intratekální syntézy.**

Oligoklonální pásy i celkové imunoglobuliny (v obec-né rovině platí i pro specifické protilátky či další humo-rální imunologické parametry) je vzhledem k potřebě sta-novení intratekální frakce nutno vyšetřit paralelně vždy v likvoru i v séru.

5.4.5 Specifické protilátky

S vyšetřením imunoglobulinů souvisí i stanovení specifi-ckých protilátek proti infekčním agens i tzv. autoproti-látek. Pro vyšetření specifické protilátkové odpovědi je z dia-gnostického hlediska klíčové prokázat intratekální syntézu.

Vychází se z kvantifikace permeability hematolikvorové bariéry (Q_{alb}) a limitních kvocientů imunoglobulinů dle Reiberovy rovnice, které se použijí pro výpočet tzv. proti-látkového indexu (**AI – antibody index**).

$$AI = \frac{Q(IgX)_{SPEC}}{Q(IgX)_{TOTAL}}$$

Je-li $Q_{(IgX)TOTAL} > Q_{lim(IgX)}$, dosadíme Q_{lim} , vypočtené z Rei-berovy rovnice:

$$Q_{lim(IgG)} = 0,93 * \sqrt{(Q_{alb})^2 + 6 * 10^{-6}} - 1,7 * 10^{-3}$$

$$Q_{lim(IgM)} = 0,67 * \sqrt{(Q_{alb})^2 + 120 * 10^{-6}} - 7,1 * 10^{-3}$$

Zkratky: Q – kvocient, Q_{lim} – limitní kvocient, Q_{TOTAL} – kvo-cient celkových imunoglobulinů, Q_{SPEC} – kvocient specifických imunoglobulinů, IgX – imunoglobulin dané třídy (IgG, IgM...). Hodnota AI větší než 1,5 svědčí pro intratekální syntézu dané protilátky.

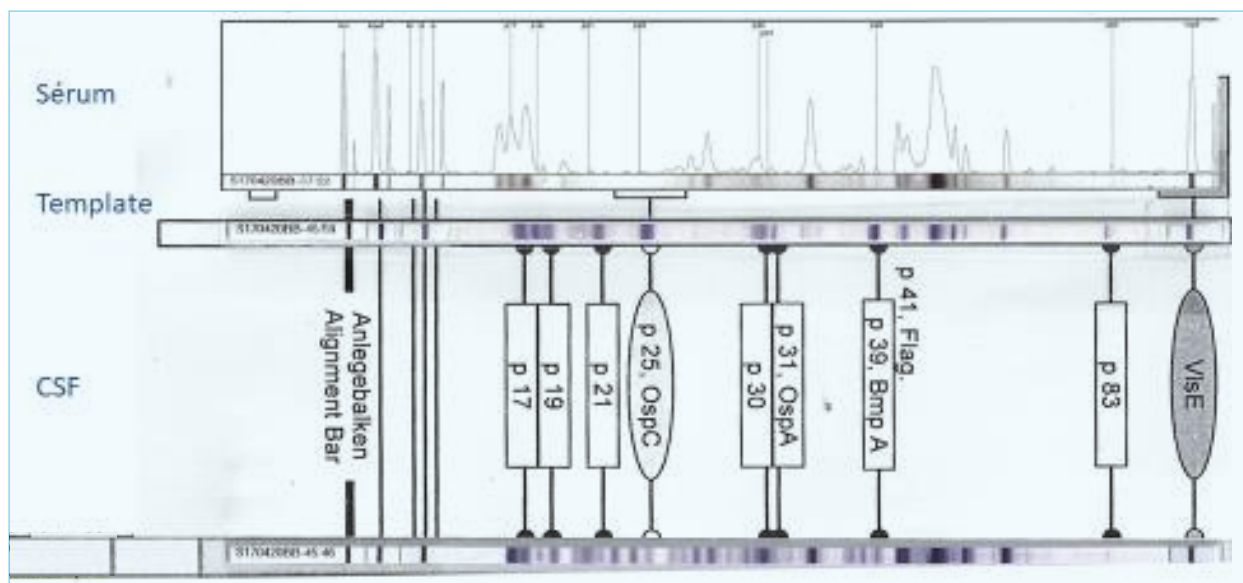
Protilátky proti infekčním agens

Stanovení specifických protilátek proti infekčním agens je v rámci mikrobiologické diagnostiky označováno za tzv. nepřímý průkaz původce. V likvoru takto typicky proka-zujeme protilátky např. proti *Borrelia burgdorferi*, *Treponema pallidum*, viru klíšťové meningoencefalitidy apod. Vzhledem k nutnosti stanovit intratekální syntézu proti-látek se toto vyšetření provádí paralelně s likvoru i z krve (séru). Lege artis postup je tzv. **dvoustupňová diagnostika**, kdy se nejprve provede kvantitativní stanovení proti-látek metodou ELISA (popř. jinou imunoanalytickou me-todou) a následně se potvrzuje jejich specifita metodou Western blot (WB) (obr. 5.13 a obr. 5.14).

Plasmatické buňky lokalizované v kompartmentu CNS mohou produkovat protilátky zaměřené na odliš-né antigenní epitopy než protilátky detekované v séru. Na heterogenitě likvorové a sérové protilátkové odpovědi je založena i detekce intratekálních OCB metodou IEF. Logickým požadavkem je standardní provádění konfir-mace protilátek WB v likvoru i v séru.

MRZ(H) reakce

MRZ(H) reakce je neuroimunologický parametr, detekují-cí polyspecifickou intratekální syntézu IgG protilátek pro-ti virům spalniček (**measles**), zarděnek (**rubeola**), planých neštovic (**varicella zoster**) a event. **herpes simplex viru**. Tuto reakci lze detekovat všeobecně u autoimunitních zánětlivých onemocnění CNS, specifická je pro roztrou-šenou sklerózu, a to již v časném stadiu (CIS – clinically isolated syndrome). Kumulativní specifita MRZ(H) re-akce u pacientů s RS při kombinované detekci protilátek



Obr. 5.13 Příklad dvoustupňové diagnostiky s confirmací Western blotem v séru a likvoru

proti spalničkám (M), zarděnkám (R) a varicella zoster (Z) je udávána 97,5%, senzitivita pak 63%, resp. 67,4% u dospělých pacientů (dle Jarius et al., 2017). Kvantifikace intratekální produkce těchto protilátek se vyjadřuje klasicky protilátkovým indexem (AI).

Vysoká pozitivita MRZ(H) reakce je uváděna i u dalších autoimunitních onemocnění, např. u Sjögrenova syndromu, systémového lupusu či granulomatózy s polyangiitidou. Naproti tomu u jiných zánětlivých afekcí, např. neuroboreliózy, neurosyfilis nebo neurotuberkulózy, je kombinovaná MRZ(H) reakce pozitivní pouze v 0,1 % případů.

Autoprotilátky

Původně byly neurální autoprotilátky uvedeny do neurologické diagnostiky v souvislosti s paraneoplastickými syndromy. Jedná se o heterogenní skupinu sdruženou s některými typy maligních nádorů a jejich nepřímým imunitně

zprostředkovaným působením na nervový systém. Principem postižení je autoimunitní reakce proti antigenům nervových struktur na podkladě zkřížené reaktivity s antigeny ektopicky exprimovanými nádorovými buňkami.

V současné době se stanovení neurálních autoprotilátek neomezuje jen na paraneoplastické postižení, ale jedná se o velmi dynamicky se rozvíjející skupinu diagnostických markerů u řady chorob nervového systému autoimunitního charakteru (obr. 5.15).

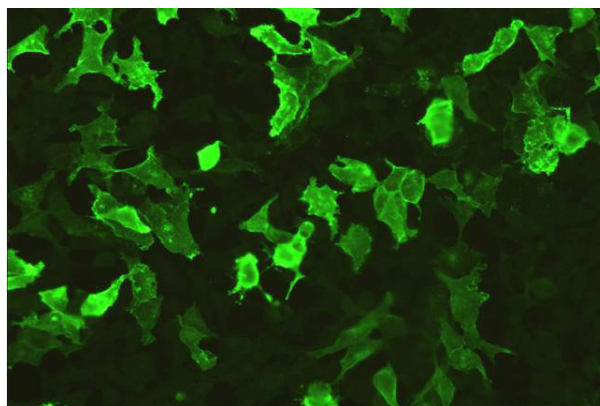
Klasifikace neurálních autoprotilátek

Neurální autoprotilátky můžeme třídit a systematizovat podle lokalizace antigenu:

- intracelulárně
- v oblasti synapse
- v receptoru
- v jiných membránových strukturách



Obr. 5.14 Laboratorní přístroj Dynablot pro automatizované vyšetření WB



Obr. 5.15 Detekce autoprotilátek nepřímou imunofluorescencí na buňkách transfekovaných AQP-4

Z **klinického hlediska** lze autoprotilátky dělit na:

- protilátky asociované s výskytem nádoru (paraneoplastické)
- protilátky bez asociace s nádorem (non-paraneoplastické)
- protilátky, které se vyskytují paraneoplasticky i bez vazby na nádor

V **tabulce 5.7** je uveden výběr neurálních autoprotilátek s určitým charakteristickým antigenem. Výběr relevantních neurálních autoprotilátek podle klinického hlediska je v přehledu shrnut v **tabulce 5.8**.

Řada neurálních autoprotilátek hraje důležitou roli v patogenezi, popř. je diagnostickým markerem, zejména u skupiny autoimunitních encefalitid.

■ Paraneoplastické postižení

S paraneoplastickým postižením míšních, popř. periferních nervových struktur jsou asociovány zejména „klasické“ onkoneurální protilátky proti intracelulárním antigenům:

- encefalomyelitidy, myelitidy: anti-Hu, anti-CV2, anti-amfifysin
- neuropatie: anti-Hu, anti-CV2, anti-PCA2, anti-MAG
- stiff-person syndrom: anti-GAD (specifické jsou vysoké titry), anti-amfifysin

■ **Tabulka 5.7** Výběr relevantních neurálních autoprotilátek charakterizovaných specifickým antigenem

Intracelulární antigeny
• Hu, Ri, Yo/PCA-1, PNMA2 (Ma2/Ta), CV2 • PCA-2, titin, SOX1, GAD
Receptorové antigeny
• NMDAR, AMPAR, GABABR, AchR
Synaptické antigeny
• amfifysin
Antigeny membránových struktur
• VGKC (LGI-1, caspr-2), AQP-4, MAG, MBP

■ **Tabulka 5.8** Výběr relevantních neurálních autoprotilátek podle klinického hlediska

Onkoneurální – paraneoplastické protilátky
• anti- Hu, Ri, Yo/PCA-1, PNMA2 (Ma2/Ta), CV2 • anti- PCA-2, titin, SOX1, GAD
Nonparaneoplastické /paraneoplastické protilátky
• anti-NMDAR, AMPAR-1, 2, VGKC (LGI-1, caspr-2), GABABR
Nonparaneoplastické protilátky
• anti-AQP-4, MOG • anti-gangliosidové autoAb

■ Neparaneoplastické postižení

Neuromyelitis optica

V rámci spektra optické neuromyelitidy (NMOSD) jsou diagnostickými markery protilátky proti:

- membránovým strukturám akvaporinu 4 (anti-AQP 4)
- myelinovému oligodendrocytárnímu glykoproteinu (anti-MOG)

Polyradikuloneuritidy

U nonparaneoplastických autoimunitních zánětlivých neuropatií (polyradikuloneuritid) má diagnostický význam stanovení protilátek proti gangliosidům.

Gangliosidy patří do skupiny kyselých glykolipidů obsahujících lipid (ceramid), oligosacharid a kyselinu sialovou. Gangliosidy tvoří složky buněčných membrán a vyskytují se v hojné míře v centrálním a periferním nervovém systému. Struktury podobné gangliosidům se rovněž vyskytují na povrchu mikroorganismů. Protilátky proti strukturám gangliosidů mikroorganismů mohou zkříženě reagovat s gangliosidy myelinové pochvy nebo axonu a způsobit jejich zánětlivě podmíněné poškození.

Zánětlivé neuropatie nejčastěji následují po infekcích *Campylobacter jejuni* (antigenní mimikry zejména s GM1, GD1a, GD3, GT1a, GQ1b), EBV a cytomegalovirem (GM1, GM2, GD1a, GD1b) nebo *Mycoplasma pneumoniae* či *Haemophilus influenzae*.

■ **Tabulka 5.9** Protilátky proti gangliosidům ve vztahu k jednotlivým typům zánětlivých neuropatií

Akutní zánětlivá demyelinizační polyneuropatie (AIDP)
• GM1, GD1a, GD1b, GT1a, GT1b ve třídě IgG, • GM4 (GM1, GM2, GD1a, GD1b v souvislosti s CMV infekcí) ve třídě IgM
Akutní motorická/senzitivní axonální neuropatie (AMAN/AMSAN)
• GM1, GD1a, GD1b ve třídě IgG • GM4 ve třídě IgM
Akutní ataktická senzitivní neuropatie
• GD1b, GD3 ve třídě IgG • GD1b, GD2, GD3, GQ1b ve třídě IgM
Miller-Fisherův syndrom (MFS)
• GQ1b, GT1a, GT1b ve třídě IgG
Multifokální motorická neuropatie (MMN)
• GM1, GM2, GM3, GM4, GD1a, GD1b ve třídě IgM
Chronická ataktická neuropatie, oftalmoplegie, IgM paraprotein, aglutininy (CANOMAD)
• GM3, GD1a, GD1b, GD2, GD3, GT1b, GQ1b ve třídě IgM
Chronická zánětlivá demyelinizační polyneuropatie (CIDP)
• GM2, GM3, GD1a, GD1b ve třídě IgM

V důsledku zkřížené reaktivity s mikrobiálními strukturami mohou být protilátky anti-GM1 ve třídě IgM zjištěny i u zdravých lidí.

Izolovaný asymptomatický výskyt těchto protilátek není z hlediska neuropatie považován za diagnostický.

Jako diagnostické markery zánětlivých neuropatií využíváme řadu protilátek proti gangliosidům, které uvádíme přehledně v **tabulce 5.9**.

5.4.6 Humorální zánětlivé markery

Mezi jedny z prvních humorálních zánětlivých markerů využívaných v likvoru v rámci diagnostiky zánětlivých procesů CNS patří tzv. proteiny akutní fáze. Řadíme sem **C-reaktivní protein** (CRP – v likvoru zvýšen prakticky pouze u hnisavých bakteriálních neuroinfekcí), **orosomukoid** (v likvoru doprovází aktivaci monocyto-makrofágového systému, a to včetně reakcí na nádorové infiltrace CNS), **transferin** (jeho beta-2-desialoforma je pro likvor specifická a dá se klinicky využít pro průkaz likvorey), **haptoglobin** a **prealbumin**.

■ C3 a C4 složky komplementu

Samostatnou skupinou parametrů zánětu jsou pak C3 a C4 složky komplementu. Ke zvýšení jejich koncentrací v likvoru u zánětů CNS dochází v souvislosti s jejich přestupem ze séra při zánětlivě podmíněném zvýšení permeability hemato-likvorové bariéry.

■ Beta-2-mikroglobulin

Poměrně diagnosticky cenným markerem je beta-2-mikroglobulin. Strukturálně se jedná o lehký řetězec HLA I. třídy. Spolu se samotnými imunoglobuliny a některými CD (cluster of differentiation) znaky patří do širší rodiny imunoglobulinů a je prezentován na buněčných membránách všech buněk, nejvíce však na elementech lymfocytární řady a monocyto-makrofágového systému.

Vzestup koncentrace beta-2-mikroglobulinu lze v likvoru pozorovat u stavů spojených s aktivací a zmnožením lymfocytárních a makrofágových elementů. Dále to lze pozorovat u malignit vycházejících z těchto celulárních řad a postihujících CNS za přítomnosti lymfocytární celulární reakce provázející serózní záněty, u leukemických, resp. lymfomových infiltrací CNS a u HIV encefalopatií.

■ Cytokiny

Látky ze skupiny cytokinů jsou moderní markery, které podávají podrobnější diagnostickou informaci o přítomnosti, charakteru a míře probíhajícího zánětlivého procesu. V likvorové diagnostice nalézají uplatnění zejména **interleukiny**, **chemokiny** a **tumor-nekrotizující fakto-**

ry. Výhodou je jejich krátký biologický poločas, syntéza imunokompetentními buňkami v místě zánětu a řádově srovnatelné koncentrace v likvorovém i sérovém kompartmentu. Odpadá pak výraznější koncentrační spád a významná závislost likvorové koncentrace cytokinů na permeabilitě hemato-likvorové bariéry.

- **IL-1** je produkován makrofágy, **IL-6** navíc ještě lymfocyty. Jedná se o pluripotentní prozánětlivé cytokiny. K jejich výrazné elevaci v likvoru dochází zejména u infekčních zánětů. Nejvyšší hodnoty pozorujeme u bakteriálních neuroinfekcí.
- **IL-8** – chemokin s prozánětlivými účinky – indukuje chemotaxi a angiogenezi. V obecné rovině reaguje na tkáňové poškození.
- **IL-10** – down-regulace zánětu, produkován Th2 lymfocyty, makrofágy, neutrofile. Inhibuje Th1 lymfocytární odpověď, indukuje vyzrávání plasmocytů.
- **CXCL13** (B-lymphocyte chemoattractant/B Cell attracting chemokine) patří do tzv. CXC rodiny chemokinů, účinkuje zejména na B lymfocyty. Nejvyšších hodnot v likvoru dosahuje zvláště u spirochetových neuroinfekcí, proto je využíván jako diagnostický marker floridní neuroboreliózy, nicméně jeho klinické využití je širší.

V obecné rovině je elevace **CXCL13** v likvoru známkou aktivního zánětu CNS u:

- neuroboreliózy, neurosyfilis (typicky nad 500 pg/ml)
- neurokryptokokózy a dalších neuroinfekcí
- lymfomů CNS
- roztroušené sklerózy, NMO (v nižších koncentracích do 200–300 pg/ml)

Koncentrace CXCL13 v likvoru klesají s ustupující zánětlivou aktivitou při úspěšné léčbě. Lze ho využít i jako biomarker pro monitoraci úspěšnosti terapie.

Výše uvedený přehled uvádí cytokiny v rutinní laboratorní diagnostice. Výzkum se v této oblasti rychle rozvíjí a neustále se vynořují další perspektivní markery z této skupiny.

5.4.7 Přímý průkaz infekčního agens v likvoru

Kromě nepřímého průkazu infekčních agens pomocí specifických protilátek, popsaného podrobně výše, můžeme mikrobiální agens prokázat jeho přímou izolací (kultivace, pokus na zvířeti) nebo průkazem jednotlivých složek či produktů mikroorganismu ve vyšetřovaném vzorku. Sem řadíme průkaz antigenů, toxinů, produktů bakteriálního metabolismu a průkaz genetické informace (DNA/RNA).

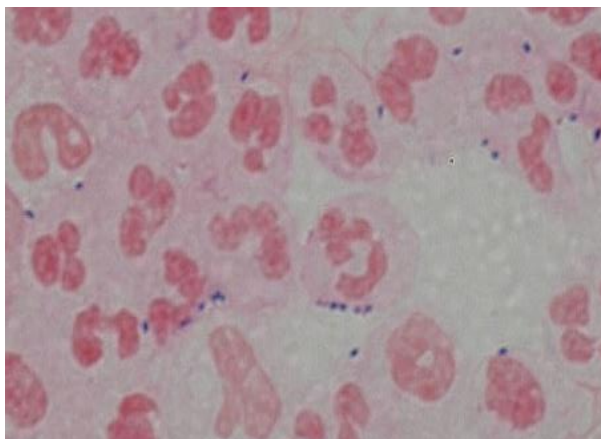
V rámci likvorologické diagnostiky se v klinické praxi využívají zejména následující laboratorní metody.

1. Mikroskopický záchyt (bakterie, prvoci, mykotická agens), zpravidla je nutno použít speciální mikrobiologická barvení:

- ~ Gramovo barvení (základní barvení na bakterie) (**obr. 5.16**)
- ~ Ziehl-Neelsen (identifikace acidorezistentních agens – mykobakterií)
- ~ barvení tuší, alciánovou modří (mykotická agens – kryptokoky)
Patří sem i záchyt mikrobiálních agens elektronovým mikroskopem.

2. Kultivace (bakterie, mykotická agens; v kultivace virů se v rutinní diagnostice běžně neprovádí), jde o zlatý standard bakteriologické diagnostiky, která umožňuje precizní identifikaci bakterií, včetně určení citlivosti na antibiotika. Nevýhodou je delší doba zpracování a citlivost na preanalytickou fázi, která může zkreslit výsledky.

3. PCR (polymerázová řetězová reakce, polymerase chain reaction), molekulárně genetický průkaz mikrobiální DNA/RNA. Při použití tzv. **real time metody** (rt-PCR) je možno v rámci této původně kvalitativní analýzy již kvantifikovat nálož DNA/RNA obsaženou ve vzorku. Tímto způsobem lze detekovat bakterie, viry, mykotická agens, prvoky. PCR je rychlá metoda, kde lze výsledky obdržet v řádu desítek minut. Má vysokou specifitu a senzitivitu. Výhodou i nevýhodou je, že předmětem detekce není komplexní viabilní mikrobiální agens, ale pouze jeho genetická informace. Je to diagnostická metoda volby pro rychlou informaci obecně u mikrobiálních agens, u nichž je předpoklad absence protilátkové odpovědi (např. pro časnou fázi a akutní průběh) nebo je tato obtížně detekovatelná (herpetické neuroinfekce, život ohrožující bakteriální neuroinfekce, progresivní multifokální leukoencefalopatie – PML).



Obr. 5.16 Barvení dle Grama s neutrofilními granulocyty a grampozitivními koky

Například v případě podezření na rozvoj progresivní multifokální leukoencefalopatie je diagnostickou metodou volby přímý průkaz virové DNA JC viru v likvoru metodou PCR. Vzhledem k malé iniciální virové náloži je nutno použít ultrasenzitivní rt-PCR metody v akreditované laboratoři, která má s diagnostikou JC viru v likvoru zkušenosti.

Pro PCR vyšetření je třeba dodržet určité preanalytické zásady:

- odběr a následná manipulace se vzorkem/zkumavkou za sterilních kautel
- vyvarovat se kontaminace inhibitory PCR reakce (např. mastek z chirurgických rukavic)

Vyšetření se provádí z čerstvého nativního vzorku likvoru. Stabilita vzorku je 24 hodin při pokojové teplotě (do 25 °C). V ledničce se dá vzorek skladovat 72 hodin, při zamražení na –80 °C lze skladovat dlouhodobě.

Z dalších metod lze zmínit i tzv. **rychlé (latex) aglutinační testy**, založené na aglutinaci mikrobiálních antigenů s protilátkami na latexových partikulích. V současné době se jedná spíše o pouhé orientační metody s nízkou senzitivitou i specificitou, zejména v likvoru.

5.4.8 Strukturální proteiny CNS

K posouzení míry, kvantity i kvality tkáňového poškození CNS se jako specifických markerů využívá tzv. strukturálních proteinů CNS. Zvýšení jejich koncentrací v likvoru je obecnou známkou neurodestrukce. Jednotlivé proteiny jsou specificky vázány na různé buněčné typy a subcelulární struktury. Podle detekovaného typu destrukčního markeru v likvoru se dá určit zdrojová CNS struktura, resp. převažující typ buněčného poškození (**tab. 5.10**).

Tyto strukturální proteiny nemají přímý vztah k etiologii poškození CNS, v klinické diagnostice se ale řada z nich využívá poměrně „specificky“.

- **H-Tau, p-Tau** (spolu s **AB** – amyloidem beta) jsou součástí tzv. **likvorového tripletu**, využívaného v diagnostice Alzheimerovy demence.

CAVE: Při požadavku na vyšetření Tau a AB je nutno likvor odebírat do polypropylenových zkumavek, jinak může dojít ke zkreslení výsledků (falešně negativní nález).

- **14-3-3** protein se také používá jako marker neurální destrukce u Creutzfeldtovy-Jacobovy choroby, ale

■ **Tabulka 5.10** Přehled strukturálních proteinů CNS využívaných jako tzv. destrukční markery tkáňového a buněčného poškození CNS

Typ „destrukčního“ markeru – strukturálního proteinu CNS	Zdrojový buněčný typ/subcelulární struktura
kalcium-vázající protein B (S100B)	astrocyty/celulární regulační protein
neuron-specifická enoláza (NSE)	neurony/intracelulární enzym
14-3-3 protein	neurony, glie/celulární regulační protein
tau protein (tubulin-associated unit)	neurony/axon (mikrotubulární protein)
neurofilamenta (Nf)	neurony/axon (součást cytoskeletu)
myelinový bazický protein (MBP)	oligodendrocyty/myelin
myelinový oligodendrocytární glykoprotein (MOG)	oligodendrocyty/myelin
beta-trace protein (BTP)	buňky choroidálního plexu

stejnou výpovědní hodnotu mají i „specificky“ vysoké hodnoty h-Tau, NSE, S100B.

- **Beta-trace protein (BTP)** je protein, který se vyskytuje se v likvoru ve vysokých koncentracích (8,89–25,9 mg/l oproti < 0,70 mg/l v séru). Slouží k detekci likvorey. Spolu se vzorkem, u kterého je podezření na obsah likvoru, se vyšetřuje i koncentrace BTP v krvi (séru) a výpočtem se stanoví kvocient Q_{BTP} obou hodnot:

$$Q_{BTP} = \frac{BTP_{CSF}}{BTP_{sérum}}$$

V případě $Q_{BTP} > 2$ je nález hodnocen jako pozitivní průkaz likvoru ve zkoumaném biologickém vzorku.

Jako obecné markery tkáňového poškození CNS se využívají stanovení koncentrací **S100B** a **neuron-specifické enolázy (NSE)**. Zvýšení koncentrace NSE nad 23 µg/l a S100B nad 1,6 µg/l v likvoru (nad 0,105 µg/l S100B v séru) signalizuje neurodestrukci, tj. strukturální poškození nervové tkáně (referenční rozmezí viz www.likvor.cz).

V poslední době se do popředí zájmu dostávají **neurofilamenta (Nf)** jako markery axonálního poškození. Jejich klinické využití sahá od diagnostiky amyotrofické laterální sklerózy k posouzení míry strukturálního poškození u roztroušené sklerózy.

Jedná se o cytoskeletální proteiny, sestávající ze 4 základních podjednotek:

- lehké řetězce o velikosti 70 kDa (Nf-L)
- střední řetězce o velikosti 150 kDa (Nf-M)
- těžké řetězce o velikosti 200 kDa (Nf-H)
- α -internexin

Zatímco v těle neuronu jsou neurofilamenta obsažena s nízkým stupněm fosforylace a provázanosti, v axonu jsou silně fosforylovaná, vzájemně provázaná a pravidelně uspořádaná do vláken. Stupeň fosforylace Nf je důležitý pro správnou funkci a rychlost axonálního transportu.

Těžké fosforylované řetězce neurofilament (pNf-H) jsou tak nejsilněji fosforylované proteiny v CNS.

Analogicky jako u ostatních „neurodestrukčních markerů“ dochází při poškození axonů a jejich dezintegraci k uvolnění jednotlivých řetězců Nf z cytoskeletu a následně vně buňky. Likvor má intimní vztah k nervové tkáni, a tak představuje nejsenzitivnější diagnostickou matici pro detekci nárůstu koncentrace specifických strukturálních proteinů včetně neurofilament.

Doposud popsané klinické využití neurofilament při onemocnění nervového systému:

- **lehké řetězce (Nf-L)** – roztroušená skleróza, Alzheimerova demence, traumatické poškození mozku
- **těžké řetězce (Nf-H)** – roztroušená skleróza, amyotrofická laterální skleróza, Creutzfeldova-Jacobova choroba

Jako pozitivní pNf-H se u amyotrofické laterální sklerózy považují hodnoty nad 1,52 ng/ml, hodnoty mezi 0,69 a 1,52 ng/ml za hraniční. Rozmezí normálních hodnot pNf-H v likvoru se pohybuje mezi 0,028 a 0,486 ng/ml (viz www.likvor.cz).

5.5 DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA LIKVIOROVÝCH NÁLEZŮ

Ondřej Sobek

Vyšetření likvoru hraje stěžejní roli při diagnostice závažných procesů v kompartmentu CNS. Likvorová laboratorní analýza by měla mít nejen odpověď na základní klinickou otázku „zánět ano-ne“, ale zároveň ho co nejpresněji definovat z diferenciálně diagnostického pohledu

a rozlišit zejména autoimunitní záněty od infekčních, kde je dále cílem identifikovat i mikrobiálního původce. Co nej přesnější charakteristika zánětlivého obrazu v likvoru tak poskytuje zásadní vodítko k diagnostickým a terapeutickým závěrům.

5.5.1 Purulentní bakteriální neuroinfekce

Jedná se o akutní, život ohrožující stav, vyžadující urgentní likvorologickou diagnostiku. V **tabulce 5.11** jsou uvedeny základní likvorologické parametry v režimu statim. V **tabulce 5.12** uvádíme rozšířené likvorologické parametry u purulentního typu zánětu.

Purulentní bakteriální zánět se v likvorovém kompartmentu projevuje primárně vysokou celulizací neutrofilními granulocyty. Často v cytologickém preparátu zastihneme extra- i intracelulárně bakterie. Základní biochemické parametry jsou hrubě alterované. Je patrné výrazné zvýšení celkové bílkoviny v likvoru, dané extrémně zvýšenou permeabilitou hemato-likvorové bariéry při tomto typu zánětu. Dochází k výrazným metabolicko-energetickým změnám s rozvojem anaerobního metabolismu, vyvolaného vysokou energetickou náročností zánětlivého procesu, zejména oxidativním vzplanutím neutrofilních granulocytů při fagocytóze bakterií. Jako funkční parametr intenzity fagocytární aktivity slouží výpočet tzv. **koeficientu energetické bilance** (KEB), vycházející z metabolismu aerobní vs. anaerobní glykolýzy.

K identifikaci bakteriálního původce slouží:

- a) rychlé STATIM metody
 - ~ prvotní **mikroskopický průkaz** (Gramovo barvení, rozliší koky/tyčky, G+/G–)
 - ~ rychlý, senzitivní a specifický průkaz **PCR**
- b) následné metody upřesnění, kam patří **kultivace** a citlivost na antibiotika

Kazuistika 5.1 uvádí příklad rychlé diagnostiky purulentního zánětu.

5.5.2 Serózní záněty CNS

Laboratorní nález serózně zánětlivého obrazu v mozkomíšním moku má velmi širokou diferenciální diagnostiku. Takto se projevují serózní neuroinfekce, někdy též označované jako aseptické. Patří sem záněty způsobené virem, některými druhy bakterií (v našich podmínkách nejčastěji spirochetami – borelie, treponemy a leptospiry), popřípadě i mykotickými agens (kandida, kryptokok, aspergilus).

Serózně zánětlivým obrazem se v likvoru projevují i záněty autoimunitní etiologie – roztroušená skleróza, NMO, ADEM, AE-LE (**autoimunitní encefalitida – limbická encefalitida**), paraneoplastické syndromy apod.

V **tabulkách** jsou v souhrnu uvedeny základní likvorologické parametry u serózní neuroinfekce (**tab. 5.13**), rozšířené likvorologické parametry u serózního virového zánětu (**tab. 5.14**), bakteriálního (**tab. 5.15**) a autoimunitního zánětu (**tab. 5.16, 5.17**)

Tabulka 5.11 Základní likvorologické parametry v režimu statim

Parametr	Popis	Hodnota	Typický laboratorní nález, interpretace
CB	celková bílkovina v likvoru	↑↑↑	výrazná hyperproteinorachie (řádově 1–10 g/l)
Glu	glukóza v likvoru	↓↓↓	hypoglykorachie (až 0 mmol/l)
Lac	laktát v likvoru	↑↑↑	výrazná elevace laktátu
KEB	koeficient energetické bilance	↓↓↓	výrazný pokles (záporné hodnoty)
ELEM	počet buněk v likvoru	↑↑↑	výrazná pleocytóza (řádově 1000 elementů/μl)
CYTO	cytologický nález	GP	granulocytární celulizace (často záchyt bakterií)

Tabulka 5.12 Rozšířené likvorologické parametry u purulentního typu zánětu

Parametr	Popis	Hodnota	Typický laboratorní nález, interpretace
Q Alb	albuminový kvocient	↑↑↑	permeabilita H-L bariéry
IL-1	interleukin 1	↑↑↑	floridní zánět
IL-6	interleukin 6	↑↑↑	floridní zánět
CRP	C-reaktivní protein	↑↑↑	protein akutní fáze

**KAZUISTIKA 5.1 | Ondřej Sobek****Purulentní zánět v likvoru: komplexní rychlá diagnostika**

- 19letá pacientka, náhle nauzea, zvracení, během 12 hodin rozvoj poruchy vědomí
- Příjem materiálu do laboratoře: 15:33 h
- Základní likvorologický nález: 16:31 h
 - ~ elementy: 9130/ μ l
 - ~ erytrocyty: 1109/ μ l
 - ~ granulocytární pleocytóza v cytologickém obraze CSF
 - ~ výrazně zvýšená permeabilita hemolikvorové bariéry (CB_{CSF} 6,9 g/l)
 - ~ anerobní metabolismus v likvorovém kompartmentu ($Glu_{CSF} < 0,01$ mmol/l, Lac_{CSF} 11,69 mmol/l, KEB — 21004)
- Laboratorní nález zhodnocen jako purulentní bakteriální zánět
- PCR detekována přítomnost *Neisseria meningitidis* v CSF: 19:47 h

Definitivní laboratorní závěr: Meningokoková neuroinfekce.

Tabulka 5.13 Serózní neuroinfekce — základní likvorologické parametry

Parametr	Popis	Hodnota	Typický laboratorní nález, interpretace
CB	celková bílkovina v likvoru	N- $\uparrow\uparrow$	lehká až střední hyperproteinochorie (řádově 0,5–1,0 g/l)
Glu	glukóza v likvoru	N	normální glykorachie
Lac	laktát v likvoru	N (– $\uparrow$)	normální laktát (event. lehké zvýšení při aktivaci monocytomakrofágového systému)
KEB	koeficient energetické bilance	N- $\downarrow$	normální nebo snížený v tzv. „pásmu serózního zánětu“ (KEB 15–28)
ELEM	počet buněk v likvoru	N- $\uparrow\uparrow$	mírná až střední pleocytóza (desítky až stovky elementů/ μ l)
CYTO	cytologický nález	LO/LP	lymfocytární celulizace (často výskyt plasmatických buněk, popř. příměs polymorfonukleárů či monocytů)

Vybrané zkátky používané v likvorologii

- AI — protilátkový index (Antibody Index)
- Alb — albumin
- AQP 4 — aquaporin 4
- BMG — beta-2-mikroglobulin
- CB — celková bílkovina
- CSF — likvor (CerebroSpinal Fluid)
- ELISA — Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
- fLC — volné lehké řetězce imunoglobulinů
- GAD — dekarboxyláza glutamové kyseliny
- Glu — glukóza
- i.t. — intratekální
- IEF — izoelektrická fokuzace
- KEB — koeficient energetické bilance
- Lac — laktát
- LO/LP — lymfocytární oligocytoza/pleocytoza
- MAG — s myelinem asociovaný glykoprotein
- MBP — myelinový bazický protein
- MOG — myelinový oligodendrocytární glykoprotein
- Nf — neurofilamenta
- NSE — neuron-specifická enoláza
- OCB — oligoklonální pásy (oligoclonal bands)
- PCR — polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
- S — sérum
- TBE — virus klíšťové meningoencefalitidy
- VGKC — komplex napětově řízených kaliových kanálů (vč. podjednotek LGI1, caspr2)
- WB — western blot

■ **Tabulka 5.14** Rozšířené likvorologické parametry u serózní virové neuroinfekce

Parametr	Popis	Hodnota	Typický laboratorní nález, interpretace
Q _{alb}	albuminový kvocient	N–↑	permeabilita H–L bariéry
IgG IgM IgA	celkové imunoglobuliny	N–↑	průkaz intratekální syntézy málo častý - výpočet (Reiber) - negativní IEF
fLC κ fLC λ	volné lehké řetězce imunoglobulinů	↑–↑↑	průkaz intratekální syntézy - výpočet (index) – častý - IEF – méně častý
IL-1	interleukin 1	N	
IL-6	interleukin 6	↑–↑↑	floridní zánět
IL-8	chemokin	↑–↑↑	u tkáňového poškození
CXCL13	chemokin-B lymfocytární	↑–↑↑	floridní zánět
BMG	beta-2-mikroglobulin	N–↑	zánětlivý marker lymfocytární reakce (HIV encefalopatie)
S100	protein S100B	N–↑	známky tkáňového poškození CNS
NSE	neuron specifická enoláza	N–↑↑↑	známky neurálního poškození (herpetické neuroinfekce)
NF	neurofilamenta	N–↑	známky axonálního poškození
ELISA/PCR	nepřímý/přímý průkaz etiologického agens		

■ **Tabulka 5.15** Rozšířené likvorologické parametry u serózní bakteriální neuroinfekce

Parametr	Popis	Hodnota	Typický laboratorní nález, interpretace
Q _{alb}	albuminový kvocient	N–↑↑	permeabilita H–L bariéry
IgG IgM IgA	celkové imunoglobuliny	↑–↑↑↑	průkaz intratekální syntézy častý - výpočet (Reiber) - IEF (vz. II–III)
fLC κ fLC λ	volné lehké řetězce imunoglobulinů	↑–↑↑↑	průkaz intratekální syntézy častý - výpočet (index) - IEF (vz. II–III)
IL-1	interleukin 1	N (–↑)	většinou v normě
IL-6	interleukin 6	↑–↑↑↑	floridní zánět
IL-8	chemokin	↑–↑↑↑	u tkáňového poškození
CXCL13	chemokin-B lymfocytární	↑–↑↑↑	zvýšen zejm. u spirochetových infekcí (typicky neuroborelióza)
BMG	beta-2-mikroglobulin	↑–↑↑	zánětlivý marker lymfocytární reakce
S100	protein S100B	N–↑↑	známky tkáňového poškození CNS
NSE	neuron-specifická enoláza	N–↑↑	známky neurálního poškození
Nf	neurofilamenta	N–↑↑	známky axonálního poškození
ELISA + WB/PCR	nepřímý/přímý průkaz etiologického agens		

Tabulka 5.16 Serózní autoimunitní záněty – základní likvorologické parametry

Parametr	Popis	Hodnota	Typický laboratorní nález, interpretace
CB	celková bílkovina v likvoru	N (–↑↑)	normální až lehce vyšší proteinorachie (u zánětlivých neuropatií typicky hyperproteinorachie v rámci DPC)
Glu	glukóza v likvoru	N	normální glykorachie
Lac	laktát v likvoru	N	normální laktát
KEB	koeficient energetické bilance	N	normální energetické parametry
ELEM	počet buněk v likvoru	N–↑↑	normální až mírná pleocytóza (desítky elementy/μl)
CYTO	cytologický nález	LO/LP	lymfocytární celulizace (typický výskyt plasmatických buněk)

Tabulka 5.17 Rozšířené likvorologické, resp. neuroimunologické parametry u autoimunitních zánětů

Parametr	Popis	Hodnota	Typický laboratorní nález, interpretace
Q _{alb}	albuminový kvocient	N (–↑)	permeabilita H–L bariéry
IgG IgM IgA	celkové imunoglobuliny	N–↑	průkaz intratekální syntézy typický • IEF (vzorec II–III)
flC κ flC λ	volné lehké řetězce imunoglobulinů	↑–↑↑	průkaz intratekální syntézy typický • výpočet (index) • IEF (vzorec II–III)
IL-1	interleukin 1	N	
IL-6	interleukin 6	N	
IL-8	chemokin	N (–↑)	event. u tkáňového poškození
CXCL13	chemokin-B lymfocytární	N–↑↑	floridní zánět
BMG	beta-2-mikroglobulin	N (–↑)	zánětlivý marker lymfocytární reakce
S100	protein S100B	N (–↑)	většinou v normě
NSE	neuron specifická enoláza	N (–↑)	většinou v normě
Nf	neurofilamenta	N–↑↑	známky axonálního poškození (vysoká pNf-H u ALS)
Anti • AQP4 • MOG • MAG • MBP • GAD • gangliosidy	autoprotilátky	–/+	bližší specifikace autoimunitního procesu

LITERATURA

- Deisenhammer F, et al. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from EFNS taskforce. Eur J Neurol. 2006;13(9):913–22.
- Kelbich P, et al. Coefficient of energy balance, a new parameter for basic investigation of the cerebrospinal fluid. Clin Chem Lab Med. 2014;52:1009–17.
- Petereit HF, et al. Leitlinien und Methodenkatolog der Deutschen Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie. Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2007.
- Schmidt RM. Der Liquor cerebrospinalis. Leipzig: Georg Thieme Verlag; 1987.
- Sobek O, et al. Algoritmus vyšetření likvoru v návaznosti na doporučení Sekce neuroimunologie a likvorologie České neurologické společnosti JEP. Cesk Slov Neurol N. 2012;75/108(2):159–63.
- Zeman D. Praktický průvodce laboratorním vyšetřením likvoru. Olomouc: Univerzita Palackého; 2018.
- Deisenhammer F, et al. Guidelines on routine cerebrospinal fluid analysis. Report from EFNS taskforce. Eur J Neurol. 2006;13(9):913–22.
- Felgenhauer K. Clinical Laboratory Diagnostics. Frankfurt am Main: TH-Books Verlag; 1998.



KAZUISTIKA 5.2 | Ondřej Sobek

Likvorologický obraz neuroinfekce vyvolané virem klíšťové meningoencefalitidy (žena, 61 let)

CYTOLOGIE LIKVORU

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
elementy (CSF)	56/μl	(< 4)	+	erythrocyty (CSF)	0 /μl	–	–

Výrazně převažují neutrofilní granulocyty. V lymfocytární řadě bez záchytu zralých plasmocytárních forem. V monocytární řadě místy jemná vakuolizace cytoplasmy, bez průkazu specifického substrátu fagocytózy. RE: granulocytární pleocytóza.

ZÁKLADNÍ BIOCHEMIE

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
CB (CSF)	0,35 g/l	(0,18–0,43)	N				
glukóza (CSF)	4,65 mmol/l	(2,0–4,0)	+	glukóza (S)	9,55 mmol/l	(3,9–5,6)	
laktát (CSF)	2,29 mmol/l	(1,0–2,0)	+				
KEB	29,14	(28–38)	N				

IMUNOGLOBULINY

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
IgG (CSF)	30,6 mg/l	(< 34)	N	IgG (S)	12,7 g/l	(7–16)	N
IgA (CSF)	4,11 mg/l	(< 5)	N	IgA (S)	3,12 g/l	(0,7–4)	N
IgM (CSF)	2,25 mg/l	(< 1,3)	+	IgM (S)	2,95 g/l	(0,4–2,3)	+
fLC kappa (CSF)	0,78 mg/l	(0,1–0,34)	+	fLC kappa (S)	15,75 mg/l	(3,3–19,4)	N
fLC kappa I	8,91	(1,2–5)	+	fLC kappa Q	$49,52 \times 10^{-3}$	(5–17)	+
fLC lambda (CSF)	0,45 mg/l	(0,1–0,24)	+	fLC lambda (S)	23,18 mg/l	(5,71–26,3)	N
fLC lambda I	3,49	(1,5–7,5)	N	fLC lambda Q	$19,41 \times 10^{-3}$	(7,9–26)	N

HEMATOLIKVOROVÁ BARIÉRA

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
albumin (CSF)	185 mg/l	(< 350)	N	Albumin (S)	33,30 g/l	(35–52)	–
Q_{alb}	$5,56 \times 10^{-3}$	(< 7,4)	N	NORMA na věk	$8,07 \times 10^{-3}$		

ZÁNĚTLIVÉ MARKERY

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
IL-6 (CSF)	479 pg/ml	(< 7,9)	+	IL-6 (S)	< 2,0 pg/ml	(< 5,9)	N
IL-8 (CSF)	310 pg/ml	(< 91,0)	+	IL-8 (S)	63,4 pg/ml	(< 62,0)	+
IL-10 (CSF)	7,27 pg/ml	(< 5,4)	+	IL-10 (S)	< 5,0 pg/ml	(< 9,1)	N
CXCL13 (CSF)	1,45 pg/ml	(< 20)	N				
CRP (CSF)	< 8,6 μg/l	(10–40)		CRP (S)	< 3 mg/l	(< 3)	

KLÍŠŤOVÁ MENINGOENCEFALITIDA – STANOVENÍ PROTILÁTEK PROTI VIRU KLÍŠŤOVÉ MENINGOENCEFALITIDY

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
TBE IgG (CSF)	61,238 U/ml	(< 8)	+	TBE IgG (S)	44,079 U/ml	(< 20)	+
AITBE IgG	2,88	(< 1,5)	+				
TBE IgM (CSF)	165,770 U/ml	(< 8)	+	TBE IgM (S)	186,256 U/ml	(< 20)	+
AITBE IgM	5,82	(< 1,5)	+				

Komentář: Granulocytární pleocytóza je v akutním stadiu virové neuroinfekce poměrně typická. Stupeň celulizace však dosahuje řádově nižších hodnot než u purulentního zánětu, rovněž energetika nesvědčí pro oxidativní vzplanutí PMN (viz normální KEB). Za povšimnutí stojí negativita CXCL13 (v rámci diferenciální diagnostiky boreliózy) a elevace fLC kappa i lambda, které se u neuroinfekcí chovají jako poměrně senzitivní pozitivní markery zánětu.

**Likvorologický obraz serózní bakteriální neuroinfekce vyvolané *Borrelia burgdorferi* (muž, 60 let)****CYTOLOGIE LIKVORU**

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
elementy (CSF)	118/μl	(< 4)	+	erythrocyty (CSF)	11/μl		

Převaha buněk lymfocytární řady s aktivací včetně lymfoplasmocytů i zralé plasmatické buňky. V monocytární řadě výraznější cytoplasmatická vakuolizace, zachycena pěníta buňka. Na pozadí minimální příměs volných erytrocytů a neutrofilních granulocytů. RE: v preparátu jednoznačné známky serózního zánětu.

ZÁKLADNÍ BIOCHEMIE

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
CB (CSF)	1,40 g/l	(0,18–0,43)	+
glukóza (CSF)	2,2 mmol/l	(2,0–4,0)	N
laktát (CSF)	2,67 mmol/l	(1,0–2,0)	+
KEB	16,15	(28–38)	–

IMUNOGLOBULINY

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
IgG (CSF)	140 mg/l	(< 34)	+	IgG (S)	10,5 g/l	(7–16)	N
IgA (CSF)	12 mg/l	(< 5)	+	IgA (S)	0,97 g/l	(0,7–4)	N
IgM (CSF)	14,6 mg/l	(< 1,3)	+	IgM (S)	0,98 g/l	(0,4–2,3)	N
IEF IgG (CSF)	3	(0–1)	+	IEF IgG (S)	0	(0–1)	N
IEF IgA (CSF)	0	(0–1)	N	IEF IgA (S)	0	(0–1)	N
IEF IgM (CSF)	2	(0–1)	+	IEF IgM (S)	0	(0–1)	N
IEF fLC kappa (CSF)	3	(0–1)	+	IEF fLC kappa (S)	0	(0–1)	N
IEF fLC lambda (CSF)	0	(0–1)	N	IEF fLC lambda (S)	0	(0–1)	N

HEMATOLIKVOROVÁ BARIÉRA

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
albumin (CSF)	1060 mg/l	(< 350)	+	albumin (S)	35,36 g/l	(35–52)	N
Q_{alb}	$29,98 \times 10^{-3}$	(< 7,4)	+	NORMA na věk	$8,04 \times 10^{-3}$		

ZÁNĚTLIVÉ MARKERY

IL-1 (CSF)	< 5,00 pg/ml	(< 5,4)	N	IL-1 (S)	< 5,00 pg/ml	(< 5)	N
IL-6 (CSF)	91,4 pg/ml	(< 7,9)	+	IL-6 (S)	< 2,00 pg/ml	(< 5,9)	N
IL-8 (CSF)	879 pg/ml	(< 91)	+	IL-8 (S)	18,5 pg/ml	(< 62)	N
IL-10 (CSF)	225 pg/ml	(< 5,4)	+	IL-10 (S)	64,7 pg/ml	(< 9,1)	+
CXCL13 (CSF)	1007,74 pg/ml	(< 20)	+				
beta-2-mikroglobulin (CSF)	5,8 mg/l	(0,7–2,0)	+	beta-2-mikroglobulin (S)	1,74 mg/l	(1,09–2,53)	N
orosomukoid (CSF)	23,8 mg/l	(2,5–4,5)	+	orosomukoid (S)	0,84 g/l	(0,5–1,2)	N

BORELIÓZA – STANOVENÍ PROTILÁTEK PROTI BORRELIA BURGDOFRER! SENSU LATO, PŘÍMÝ PRŮKAZ BORELIOVÉ DNA

anti-borelie IgG (CSF)	373,629 U/ml	(< 8)	+	anti-borelie IgG (S)	44,295 U/ml	(< 16)	+
AI IgG Bor	3,16	(< 1,5)	+				
borelie IgG WB (CSF)	POZITIVNÍ			borelie IgG WB (S)	POZITIVNÍ		
anti-borelie IgM (CSF)	250,278 U/ml	(< 8)	+	anti-borelie IgM (S)	263,488 U/ml	(< 16)	+
AI IgM Bor	0,33	(< 1,5)	N				
borelie IgM WB (CSF)	POZITIVNÍ			borelie IgM WB (S)	POZITIVNÍ		
PCR borelie (CSF)	POZITIVNÍ						

Komentář: Neuroborelióza, typický představitel serózní bakteriální neuroinfekce, vykazuje v likvoru oproti virovým neuroinfekcím výraznější zánětlivé změny. Je přítomen vyšší stupeň celulózy se zralými plasmocyty, energetika s jasně sníženým KEB v pásmu serózního zánětu, elevace humorálních markerů, zvýšená permeabilita H-L bariéry. Za zmínku stojí vysoké hodnoty chemokinu CXCL13, pro floridní zánět boreliové etiologie typické (nikoliv však patognomické). V tomto případě byl i při vysokých titrech specifických protilátek stále pozitivní i přímý průkaz boreliové DNA metodou PCR.



KAZUISTIKA 5.4 | Ondřej Sobek

Likvorologický obraz neuromyelitis optica (žena, 36 let)

CYTOLOGIE LIKVORU							
Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
elementy (CSF)	57/μl	(< 4)	+	erytrocyty (CSF)	896/μl	—	—
Přítomna výraznější krevní příměs s ojedinělými PMN, v.s. artefic. původu. Výrazná převaha lymfocytů, známky aktivace v řadě, nečetné zralé plasmocytární formy. V monocytární řadě bez průkazu specifického substrátu fagocytózy. RE: lymfocytární pleocytóza s plasmocytární reakcí – serózně zánětlivý obraz.							
ZÁKLADNÍ BIOCHEMIE							
Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
CB (CSF)	0,63 g/l	(0,18–0,43)	+				
glukóza (CSF)	3,19 mmol/l	(2,0–4,0)	N	glukóza (S)	8,14 mmol/l	(3,9–5,6)	+
laktát (CSF)	1,78 mmol/l	(1,0–2,0)	N				
KEB	27,96	(28–38)	—				
IMUNOGLOBULINY							
Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
IgG (CSF)	50,7 mg/l	(< 34)	+	IgG (S)	12,8 g/l	(7–16)	N
IgG I	0,38	(< 0,65)	N				
IgG i.t.	0 %						
IgA (CSF)	6,9 mg/l	(< 5)	+	IgA (S)	2,03 g/l	(0,7–4)	N
IgA i.t.	0 %						
IgM (CSF)	2,42 mg/l	(< 1,3)	+	IgM (S)	0,96 g/l	(0,4–2,3)	N
IgM i.t.	0 %						
IEF IgG (CSF)	0	(0–1)	N	IEF IgG (S)	0	(0–1)	N
IEF fLC kappa (CSF)	0	(0–1)	N	IEF fLC kappa (S)	0	(0–1)	N
IEF fLC lambda (CSF)	0	(0–1)	N	IEF fLC lambda (S)	0	(0–1)	N
HEMATOLIKVOROVÁ BARIÉRA							
Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
albumin (CSF)	387 mg/l	(< 350)	+	albumin (S)	37,07 g/l	(35–52)	N
Q _{alb}	10,44 × 10 ⁻³	(< 7,4)	+	NORMA na věk	6,42 × 10 ⁻³		
ZÁNĚTLIVÉ MARKERY							
Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
IL-6 (CSF)	150 pg/ml	(< 7,9)	+	IL-6 (S)	< 2,00 pg/ml	(< 5,9)	N
IL-8 (CSF)	196 pg/ml	(< 91)	+	IL-8 (S)	21,2 pg/ml	(< 62)	N
CXCL13 (CSF)	285,73 pg/ml	(< 20)	+				
orosomukoid (CSF)	5,64 mg/l	(2,5–4,5)	+	orosomukoid (S)	0,55 g/l	(0,5–1,2)	N
CRP (CSF)	< 8,6 μg/l	(10–40)		CRP (S)	< 3 mg/l	(< 3)	

DESTRUKČNÍ MARKERY							
Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
S-100 (CSF)	8,81 µg/l	(0,304–1,600)	+	S-100 (S)	0,051 µg/l	(< 0,105)	N
NSE (CSF)	13,98 µg/l	(3,5–22,9)	N				
AUTOPROTILÁTKY							
AQP-4 (S)				POZITIVNÍ			



KAZUISTIKA 5.5 | Ondřej Sobek

Likvorologický obraz roztroušené sklerózy (muž, 28 let)

CYTOLOGIE LIKVORU							
Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
elementy (CSF)	8/µl	(< 4)	+	erytrocyty (CSF)	0/µl		
Výrazná převaha lymfocytů, známky aktivace v řadě, přítomny nečetné zralé plasmocytární formy. V monocytární řadě místy viditelná vakuolizace cytoplasmy, dále ojedinělé pěníte buňky (lipofágy). RE: mírná lymfocytární pleocytóza s plasmocytární a lipofagickou reakcí – serózně zánětlivý obraz a známky tkáňové léze.							
ZÁKLADNÍ BIOCHEMIE							
Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
CB (CSF)	0,37 g/l	(0,18–0,43)	N				
glukóza (CSF)	3,47 mmol/l	(2,0–4,0)	N	glukóza (S)	3,42 mmol/l	(3,9–5,6)	-
laktát (CSF)	1,17 mmol/l	(1,0–2,0)	N				
KEB	31,93	(28–38)	N				
IMUNOGLOBULINY							
Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
IgG (CSF)	46,3 mg/l	(< 34)	+	IgG (S)	9,72 g/l	(7–16)	N
IgG I	0,86	(< 0,65)	+				
IgG i.t.	17,83 %						
IgA (CSF)	4,26 mg/l	(< 5)	N	IgA (S)	3,12 g/l	(0,7–4,0)	N
IgA i.t.	0 %						
IgM (CSF)	0,38 mg/l	(< 1,3)	N	IgM (S)	0,81 g/l	(0,4–2,3)	N
IgM i.t.	0 %						
IEF IgG (CSF)	16	(0–1)	+	IEF IgG (S)	0	(0–1)	N
IEF IgA (CSF)	14	(0–1)	+	IEF IgA (S)	0	(0–1)	N
IEF IgM (CSF)	14	(0–1)	+	IEF IgM (S)	0	(0–1)	N
IEF fLC kappa (CSF)	13	(0–1)	+	IEF fLC kappa (S)	0	(0–1)	N
IEF fLC lambda (CSF)	11	(0–1)	+	IEF fLC lambda (S)	0	(0–1)	N
HEMATOLIKVOROVÁ BARIÉRA							
Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
albumin (CSF)	231 mg/l	(< 350)	N	albumin (S)	41,87 g/l	(35–52)	N
Q _{alb}	5,52 × 10 ⁻³	(< 7,4)	N	NORMA na věk	5,9 × 10 ⁻³		

ZÁNĚTLIVÉ MARKERY

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
IL-1 (CSF)	< 5,00 pg/ml	(< 5,4)	N	IL-1 (S)	< 5,00 pg/ml	(< 5)	N
IL-6 (CSF)	3,41 pg/ml	(< 7,9)	N	IL-6 (S)	2,76 pg/ml	(< 5,9)	N
IL-8 (CSF)	49,5 pg/ml	(< 91)	N	IL-8 (S)	92,9 pg/ml	(< 62)	+
IL-10 (CSF)	< 5,0 pg/ml	(< 5,4)	N	IL-10 (S)	< 5,00 pg/ml	(< 9,1)	N
CXCL 13 (CSF)	21,61 pg/ml	(< 20)	+				
beta-2-mikroglobulin (CSF)	2,03 mg/l	(0,7–2,0)	+	beta-2-mikroglobulin (S)	1,89 mg/l	(1,09–2,53)	N
haptoglobin (CSF)	< 0,93 [0,39] mg/l	(0,93–2,0)		haptoglobin (S)	0,34 g/l	(0,3–2,0)	N
transferin (CSF)	17,3 mg/l	(7–22)	N	transferin (S)	2,51 g/l	(2,0–3,6)	N
prealbumin (CSF)	17,3 mg/l	(12–27)	N	prealbumin (S)	0,28 g/l	(0,2–0,4)	N
orosomukoid (CSF)	< 2,5 [1,94] mg/l	(2,5–4,5)		orosomukoid (S)	0,54 g/l	(0,5–1, 2)	N
CRP (CSF)	< 8,6 [0] µg/l	(10–40)		CRP (S)	< 3 [0,79] mg/l	(< 3)	

MRZ REAKCE

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
AI morbilli IgG	1,47	(< 1,5)	N
AI rubeola IgG	2,24	(< 1,5)	+
AI VZV IgG	1,68	(< 1,5)	+

AUTOPROTILÁTKY

Metoda	Hodnota
AQP-4 (S)	negativní

DESTRUKČNÍ MARKERY

Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav	Metoda	Hodnota	Rozmezí	Stav
S-100 (CSF)	1,07 µg/l	(0,304–1,600)	N	S-100 (S)	0,023 µg/l	(< 0,105)	N
NSE (CSF)	25,47 µg/l	(3,5–22,9)	+				
pNf-'H (CSF)	2,087 ng/ml	(0,028–0,486)	+				

Komentář ke kazuistikám 5.4 a 5.5: Neuromyelitis optica a roztroušená skleróza patří mezi autoimunitní demyelinizační onemocnění. Obě nosologické jednotky mají specifické klinické, MR i likvorologické rysy. U NMO bývají v likvoru výraznější zánětlivé změny, resp. stupeň celulózy, elevace humorálních markerů, permeabilita H-L bariéry. Obvykle nejsou přítomny OCB, které jsou typické právě u roztroušené sklerózy. Za povšimnutí stojí laboratorní známky tkáňové/axonální léze, více vyjádřené v likvoru u demyelinizačních lézí právě při míšní lokalizaci.

- Goffette S, et al. Detection of oligoclonal free kappa chains in the absence of oligoclonal IgG in the CSF of patients with suspected multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75:308–10.
- Hajduková L, Sobek O, et al. Biomarkers of Brain Damage: S100B and NSE Concentrations in Cerebrospinal Fluid - Normative Study. *BioMed Res Int*. 2015;2015:379071.
- Jarius et al.: The MRZ reaction as a highly specific marker of multiple sclerosis: re-evaluation and structured review of the literature. *J. Neurol* (2017) 264:453–466
- Khalil M, et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat Rev Neurol*. 2018;14(10):577–89.
- Link H, Tibbling G. Principles of albumin and IgG analysis in neurological disorders: 2. Relation of the concentration of the proteins in serum and cerebrospinal fluid. *Scand J Clin Lab Invest*. 1977;37:391–6.
- Presslauer S, et al. Validation of kappa free light chains as a diagnostic biomarker in multiple sclerosis and clinically isolated syndrome: A multicenter study. *Mult Scler*. 2016;22(4):502–10.
- Reiber H. The hyperbolic function: a mathematical solution of the protein flux/CSF flow model for blood-CSF barrier function. *J Neurol Sci*. 1994;126:243–5.
- Rossi D, et al. CSF neurofilament proteins as diagnostic and prognostic biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol*. 2018;265(3):510–21.
- Štourač P, Ambler Z. Paraneoplastické neurologické syndromy – základní charakteristika, klasifikace, etiopatogeneze a diagnostika. *Neurol Praxi*. 2013;14(1):8–11.
- Wieseler-Frank J, et al. Cells of meninges surrounding the spinal cord CSF space produce proinflammatory cytokines in response to an inflammatory stimulus. *Brain Behav Immun*. 2007;21:711–8.

6 DALŠÍ LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ

Ondřej Sobek, Michal Frajer

KLÍČOVÉ BODY

- V rámci laboratorního vyšetření krve rozlišujeme základní, resp. rutinní laboratorní testy a dále speciální vyšetření, cílená v rámci konkrétní diferenciálně diagnostické úvahy
- Nezbytným předpokladem úspěšné laboratorní diagnostiky je dobrá informovanost klinického lékaře o indikacích a požadavcích na jednotlivé laboratorní testy a také dostatečná míra komunikace s laboratorním pracovištěm

6.1 LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ KRVÉ

Nejtěsnější anatomický i funkční vztah k CNS má z hlediska laboratorního vyšetření mozkomíšní mok. Avšak i laboratorní vyšetření krve má nezastupitelný diagnostický význam, zejména u systémových biochemicko-metabolicky, geneticky, hematologicky, endokrinně, zánětlivě, nádorově, popř. toxicky podmíněných procesů, které ovlivňují i funkci centrálního a periferního nervového systému.

V tabulkách uvádíme v přehledu základní (tab. 6.1) a speciální laboratorní testy (tab. 6.2), mikrobiologická (tab. 6.3) a imunologická vyšetření (tab. 6.4) a neurální autoprotilátky (tab. 6.5).

■ Tabulka 6.1 Základní laboratorní testy

- krevní obraz a diferenciál
- iontogram (Na, K, Cl)
- glykemie
- urea
- kreatinin
- jaterní testy (bilirubin, ALT, AST, GMT)
- celková bílkovina (CB), albumin (alb)

Fakultativně

- ELFO (+ event. imunotypizace monoklonální komponenty)
- moč chemicky a sediment

■ Tabulka 6.2 Speciální laboratorní testy

V rámci diferenciální diagnostiky metabolicky či toxicky podmíněné afekce nervového systému

- hormony štítné žlázy – fT3, fT4, TSH
- vitaminy (B₁₂, kyselina listová)
- porfyriny v moči
- toxikologie (těžké kovy, léčiva aj.)*

*vhodné indikovat dle konzultace a doporučení Sekce průmyslové neurologie a neurotoxikologie ČNS

■ Tabulka 6.3 Mikrobiologická vyšetření*

- základní infekční screening
- Lymfská borelióza
- herpetické viry
- syfilis
- hepatitidy
- HIV

*při klinickém podezření na floridní neuroinfekci je nutno provést přímý nebo nepřímý průkaz infekčního agens v mozkomíšním moku

■ Tabulka 6.4 Imunologická vyšetření

- základní imunologický screening při podezření na poškození nervové soustavy v rámci vaskulitid*
- C-reaktivní protein (CRP)
- Revmatoidní faktor (RF)
- ANA (ENA, anti-Ro (SS/A), anti-La (SS/B), anti-dsDNA, anti-Sm)
- ANCA
- AECA
- složky komplementu – C3, C4
- sběr moči na mikroalbuminurii

*vhodné indikovat dle konzultace a doporučení klinického imunologa/neuroimunologa

■ Tabulka 6.5 Neurální autoprotilátky

- onkoneurální protilátky
- protilátky proti membránovým a receptorovým antigenům (AChR aj.)
- protilátky proti gangliosidům

■ **Tabulka 6.6** Klinicky významné geneticky podmíněné nosologické jednotky v rámci diagnostiky spinálního a periferního postižení

- **Spinální muskulární atrofie (SMA)** *AR typ dědičnosti* Skupina autozomálně recesivně dědičných degenerativních onemocnění, která postihují alfa motoneurony předních rohů míšních, často ve spojení s degenerací motorických jader hlavových nervů.
- **Hereditární neuropatie (HN)** Rozsáhlá skupina nejčastějších geneticky podmíněných nervosvalových onemocnění, která jsou geneticky heterogenní a která se liší klinickým průběhem i typem dědičnosti. Onemocnění se může manifestovat v dětském věku nebo až v dospělosti, příznaky zahrnují postižení periferního senzitivního i motorického neuronu v závislosti na délce nervového vlákna a projevuje se progresivní slabostí distálních svalových skupin a jejich atrofií, hyporeflexií. Dědičnost většiny typů je autozomálně dominantní, molekulárně genetická analýza je u velké části pacientů možná, avšak komplikovaná. U rodin se závažnou klinickou symptomatologií se provádí většinou prenatální diagnostika.
- **Hereditární motoricko-senzorická neuropatie (HMSN)** *AD typ dědičnosti* (též Charcot-Marie-Toothova choroba – CMT) autozomálně dominantně dědičná nejčastější forma hereditární neuropatie. Nejčastější fenotypy CMT: **ADCMT1** – Autozomálně dominantní demyelinizační formy CMT. Nejčastějším typem je CMT1A, který představuje asi 70 % demyelinizačních CMT1 neuropatií. Příčinou je tandemová duplikace o velikosti 1,5 Mb zahrnující gen PMP22 na chromozomu 17. Typ CMT 1B způsoben bodovými mutacemi genu MPZ (lokus 1q22-q23). **ADCMT2** – Autozomálně dominantní axonální formy CMT **ARCMT1/CMT4** – Autozomálně recesivní demyelinizační formy. **ARCMT2** – Autozomálně recesivní axonální formy CMT **CMT1X** – X vázaná forma CMT. Je druhou nejčastější formou CMT, představuje až 10 % všech CMT neuropatií. Kauzální mutace postihují gen GJB1 (lokus Xq13.1) kódující protein connexin32 (Cx32). Je jednou z mála forem CMT choroby s manifestním postižením CNS. Klinická manifestace pouze u mužů.
- **Hereditární motorické neuropatie (HMN)** *AD typ dědičnosti* Heterogenní skupina chorob s exkluzivním postižením motorické části periferního nervového systému, zejména jeho distální segmenty.
- **Hereditární senzitivní neuropatie (HSN, HSAN)** Tato skupina neuropatií je klinicky i geneticky heterogenní a jejich příčinou je neurogenní léze, postihující predilekčně senzitivní a autonomní neurony
- **Neurofibromatóza** Toto onemocnění se projevuje abnormálním růstem podpůrných buněk centrální a periferní nervové soustavy s výraznou predispozicí ke vzniku benigních i maligních nádorů. **Neurofibromatóza I** (NF-1 či periferní typ neurofibromatózy) *AD typ dědičnosti* Je podmíněna mutacemi v genu NF1 na 17. chromozomu (17q11.2), který kóduje protein neurofibrimin (reguluje buněčné dělení a diferenciaci a je součástí intracelulární signální kaskády spojené s RAS-kinázou). Jedná se o velký tumor supresorový gen, který má 60 exonů a kde mutace jsou rozloženy v průběhu celého genu, což komplikuje možnosti molekulárně genetické diagnostiky. V současné době se preferuje analýza celé kódující oblasti – RNA analýza (přesto jsou mutace nalezeny pouze u části pacientů). Molekulárně genetická diagnostika vyžaduje využití více metodik, 25–50 % případů onemocnění vznikají na základě nových mutací a klinické projevy jsou velmi variabilní i v rámci jedné rodiny. **Neurofibromatóza II** (NF-2 či centrální typ neurofibromatózy) *AD typ dědičnosti* Je podmíněna mutacemi v genu NF2 na 22. chromozomu (22q12.2), který kóduje protein neurofibromin 2 (ovlivňuje mezibuněčné kontakty). NF-2 je vzácné AD dědičné onemocnění. K základním diagnostickým kritériím patří neurinom akustiku, dále se projevuje mnohočetnými Schwannomy a meningeomy. Kožní projevy jsou méně výrazné.

6.2 GENETICKÁ VYŠETŘENÍ

Genetické vyšetření je vhodné cíleně indikovat dle konzultace a doporučení experta v lékařské genetice. Vlastní laboratorní diagnostika se opírá o tři základní skupiny vyšetření.

- První skupinou je **analýza chromozomů** – analýza karyotypu pacienta, kde se uplatňují cytogenetické metody (G-pruhování, C-pruhování) a metody molekulární cytogenetiky (FISH – fluorescenční in situ hybridizace).
- Do druhé skupiny patří **diagnostika biochemická** (stanovení enzymových aktivit, detekce metabolitů aj.), která se uplatňuje zvláště v diagnostice vrozených metabolických poruch.
- Třetí skupinu představuje **přímá diagnostika DNA** s využitím molekulárně biologických metod – PCR (polymerázová řetězová reakce, polymerase chain reaction), sekvenování, či MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification).

Geneticky podmíněné nozologické jednotky

Klinicky významné geneticky podmíněné nozologické jednotky v rámci diagnostiky spinálního a periferního postižení uvádí **tabulka 6.6**.

LITERATURA

1. Krejsek J, Andrys C, Krčmová I. Imunologie člověka. Hradec Králové: Garamon; 2016.
2. PCR [online]. [cit. 5. 10. 2019] dostupné na: <https://labguide.cz/metody/pcr/>
3. Real-time PCR [online]. [cit. 5. 10. 2019] dostupné na: <http://labguide.cz/metody/real-time-pcr/>
4. Snustad DP, Simmons MJ. Genetika. Brno: Masarykova univerzita; 2009.
5. Šmarda J. Metody molekulární biologie. Brno: Masarykova univerzita; 2005.
6. Votava M, et al. Lékařská mikrobiologie speciální. Brno: Neptun; 2003.
7. Votava M. Lékařská mikrobiologie obecná. Brno: Neptun; 2001.
8. Zima T, et al. Laboratorní diagnostika. Praha: Galén; 2013.