

Současné možnosti likvorové diagnostiky

MUDr. Ondřej Sobek, CSc⁽¹⁾,

MUDr. Martina Koudelková⁽¹⁾,

MUDr. Lenka Hajduková^(1,2) MUDr. Zuzana Bílková⁽¹⁾,

MUDr. Jiřina Lukášková^(1,3)

- 1- Laboratoř pro likvorologii a neuroimunologii - Topelex s.r.o.,
- 2- Neurologické odd., ÚVN- Vojenská fakultní nemocnice, Praha
- 3- Klinická laboratoř, ON Kladno

Základní likvorologické vyšetření

- **Biochemické** vyšetření
 - (CB, Glu, Lac + KEB)
 - Spektrofotometrie
- **Cytologie** - kvantitativní - kvalitativní

= základní rychlá informace o :

- přítomnosti patologie
- typu patologie
- doplnění indikací specializovaných vyš.

Specializovaná likvorologie

KOMPLEXNÍ, MULTIOBOROVÉ POJETÍ:

- Rozšířená kvalitativní cytologie
- Proteinogram likvoru
 - *HLB, IG- IEF, strukturální proteiny...*
- Imunologické parametry
 - *PAF, cytokiny, autoprotiátky ...*
- Průkaz mikrobiálních agens
 - *Specifické protilátky, PCR ...*

Zánětlivá onemocnění

Diff. Dg. úloha likvoru

– Neuroinfekce

- Serozní
 - virové
 - bakteriální
- Hnisavé

– Autoimunitní choroby

- RS, ADEM, NMO, brain lupus, AE- LE
- AIDP/CIDP a varianty
- Vaskulitidy CNS (PACNS)

Zánětlivá onemocnění likvorové parametry

Cytologie: základní charakteristika celulizace

Q Alb, Imunoglobuliny:

Kvantitativně + IEF IgG + IgA, IgM, FLC...

Humorální zánětlivé markery

- diff.dg. infekčního zánětu, aktivita procesu

IL 6 (IL1) – základní prozánětlivé cytokiny

IL 8 – chemokin

IL 10- protizánětlivý

CXCL 13- neuroborelioza

PAF: BMG, AAG ...

Zánětlivá onemocnění likvorové parametry

- **Neuroinfekce:**
 - Detekce agens- protilátky, PCR
- **Autoimunitní záněty**
 - Autoprotilátky

Doplňující parametry:

markery destrukce (S100, NSE, Tau, MBP..)
- Stupeň + typ postižení parenchymu

Detekce mikrobiálních agens v likvoru- protilátky

- **! 2-stupňová diagnostika!**
- **Kvantitativní** stanovení metodou ELISA (lege artis NUTNÉ likvor+ sérum k výpočtu i.t. syntézy/ Antibody Index- AI)
-
- Konfirmace nálezu **kvalitativně**- Western Blot-WB
- **Zlatý standard:**
Borelie, Treponemy, MEK, Toxo...

Stanovení intratekální syntezy protilátek

Výpočet protilátkového indexu (AI):

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

Modifikace dle Reiberova vztahu:

$Q(IgX)_{TOTAL} > Q_{lim(IgX)}$, dosadíme Q_{lim}

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

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

Detekce mikrobiálních agens v likvoru – PCR

! Prioritní při akutním průběhu !

Metoda volby pro diagnostika infekčních agens

I) před vytvořením protilátek:

!!! Herpetické viry

!!! JC virus u imunosuprimovaných pacientů při podezření na PML

II) při nedostatečné či obtížně prokazatelné tvorbě protilátek:

Borelie, MEK v časném stádiu

Enteroviry

M. tuberculosis

Chlamydia, Mycoplasma, HHV6 ...apod.

Detekce mikrobiálních agens v likvoru – PCR

Přímý průkaz v likvoru- PCR:
= stanovení „cizího genomu“
(*DNA /RNA mikrobiálního agens*)

Limitace:

- **Citlivost**

(*přítomnost ve zkoumaném objemu !*)

- **Interpretace**

(*DNA/RNA ≠ kompletní mikroorganismus !*)

Neurální autoantilátky

- Onkoneurální – paraneoplastické sy

■ intracelulární ag

– Hu/ANNA-1, Ri, Ma2, amphiphysin...

■ Membránové a receptorové ag

– VGKC (LGI1, caspr-2), AMPA1, AMPA2, NMDAR, GABAB ...

– Autoimunitní choroby

AQP 4 / NMO(MOG, MBP...RS)

GAG, MAG / *Zánětlivé neuropatie*

Poruchy NS přenosu / MG, LEMS – Titin, SOX1

Strukturální proteiny CNS: identifikace léze

S100, NSE, Tau, 14-3-3, MBP, BTP...

AD: Likvorový triplet *Tau / P- Tau / AB*

CJD: *14-3-3 ... NSE, Tau*

Likvorea: *BTP*

Demyelinizace: *MBP*

Neuronální poškození: *NSE*

Gliální marker, melanom: *S100*

IEF

Elektroforéza v pH gradientu

Rozdělení proteinů podle isoelektrických bodů

Detailní diskriminace Ig (OCB)

Imunoblotting- IgG, IgA, IgM, FLC kappa, lambda

IEF v souboru 25.402 vzorků/ 0 OCB IgG v CSF:

IgM OCB CSF **17,88%**

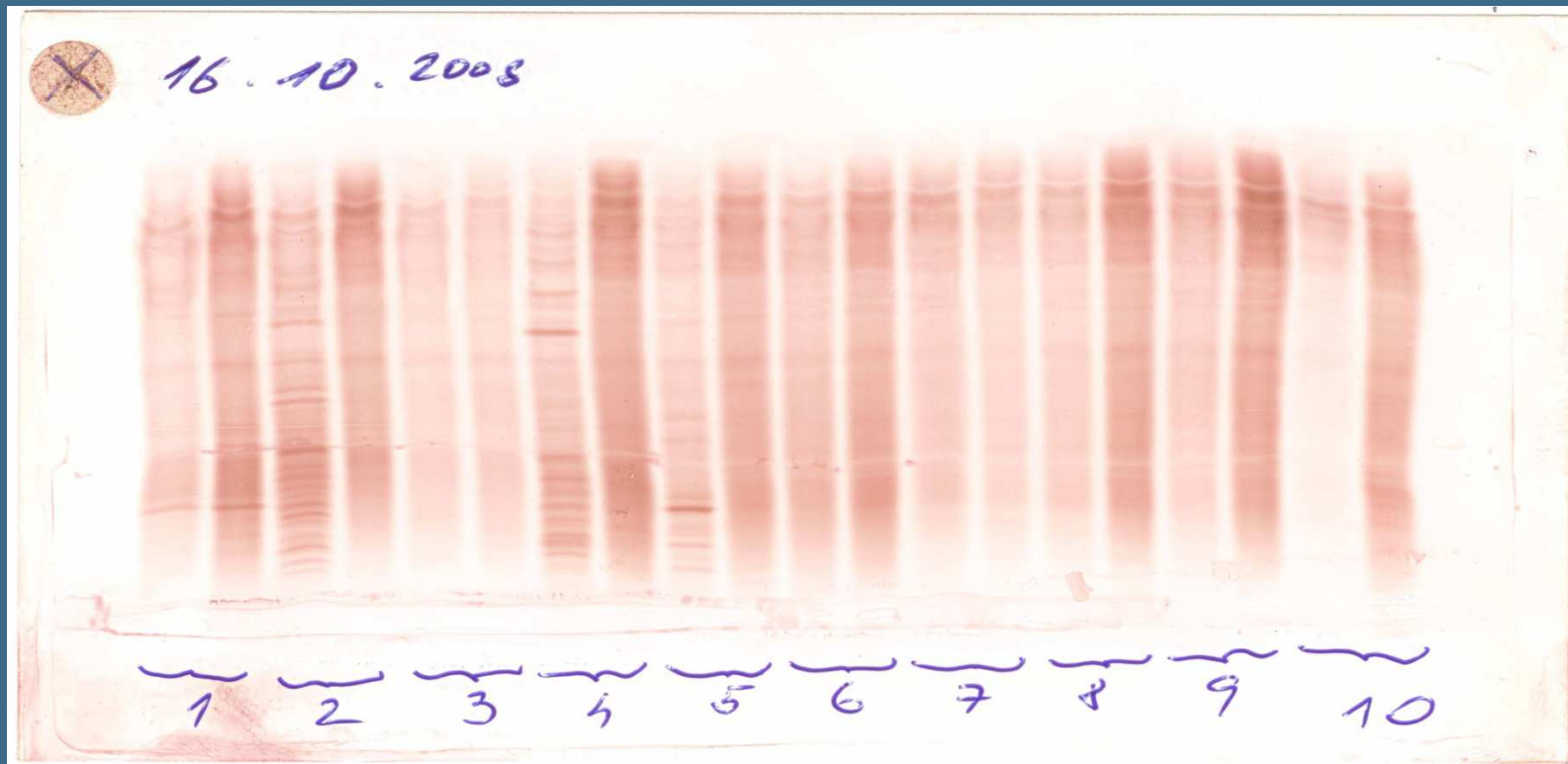
IgA OCB CSF **17,79%**

FLC K OCB CSF **4,97%**

FLC L OCB CSF **7,16%**

IEF

- I. Normální nález
- II. Intrathekální syntéza (RS)
- III. „More than pattern“ (RS)
- IV. Mirror pattern (AIDP/CIDP, ADEM..)
- V. Monoklonální gamapatie



Komplexní hodnocení CSF: LIKVOROVÉ NÁLEZY U MS

Komplexní hodnocení laboratorního nálezu:

1) Cytologie

2) Imunologické parametry:

- IEF IgG, IgM, IgA, FLC ...
- Tkáňová destrukce
(NSE, MBP...)
- Zánětlivé markery (IL6, BMG, C3, C4)
- MRZH reakce
- diff.dg. Neuroinfekce (Borelie...)

Komplexní hodnocení CSF: sy demence...

! strukturální proteiny CNS!

NSE, S100, MBP ... Tau, P-Tau, AB... 14-3-3..

Diff. Dg. Chronický, infekční zánět: IL 6, BMG

IEF: OC i.t. synteza- typická pro chronický zánět!

Specifické protilátky: (zejm. boreliové protilátky, neurolyues .)

Autoprotilátky: na 1. místě anti –**NMDAR**,
popř. doplňkově kompletní spektrum membránových antigenů
(anti-LGI1, anti-caspr-2, anti-AMPA1/2, anti-GABABR)

Doplňkově: anti-Yo, Hu, Ri, PNMA2-Ma/Ta, Amphiphysin,.

Komplexní hodnocení CSF: Nádorové postižení CNS...

I) leukemická/ karcinomatózní meningeální infiltrace

Cytologie + Markery buněčné proliferace/ obecné nádorové markery:
beta-2-mikroglobulin- BMG, orosomukoid- AAG, komplement (C3, C4),
S100

II) paraneoplastické neurologické syndromy

zánětlivé markery (IL8), IEF (paraneoplastická imunitní reakce, vzorec V)

Paraneoplastické/ onkoneurální protilátky:

anti-Yo, Hu, Ri, PNMA2-Ma/Ta, CV2, Amphiphysin, anti –NMDAR
(součást bloku pro LE).

Myatonia gravis a LEMS- Anti-Titin (pac. s thymomem), anti-SOX1 (SCLC)

Diff. Dg. úloha likvorologického vyšetření

Zánětlivá onemocnění CNS/PNS

- infekční x **autoimunitní (MS !)**

Nádorové postižení NS

- infiltrace NS x Paraneo

Destrukce tkáně CNS

- neurodegenerace, demence (CJD, AD)

Krvácení do likvorových prostor

Likvorhoea- BTP

Vhodně indikované spektrum likvorových parametrů

+

Erudovaná a komplexní interpretace
