

**BIOLOGICKÉ CHOVÁNÍ  
BETA2–MIKROGLOBULINU V LIKVORU  
U KLINICKY DEFINOVANÝCH  
NOSOLOGICKÝCH JEDNOTEK**

**MUDr. Jana Svatoňová**

## OBSAH DIZERTAČNÍ PRÁCE

1. Úvod .....	3
2. Soubory vyšetření v mozkomíšním moku .....	4
3. Bariérové systémy .....	5
4. Dynamika proteinů pocházejících primárně z nervového systému .....	8
5. Biochemické vyšetření likvoru .....	8
6. Nejčastěji sledované frakce proteinů akutní fáze: .....	11
7. Strukturální proteiny CNS .....	13
8. Elektroforetické dělicí metody .....	15
9. Intrathekální produkce specifických protilátek .....	16
10. Protilátkový index .....	17
11. Autoprotilátky .....	18
12. Spektrofotometrické vyšetření likvoru .....	19
13. Cytologie likvoru .....	20
14. Patologické cytologické nálezy v likvoru .....	26
15. Syndromologická klasifikace likvorových cytologických nálezů .....	36
16. Beta2-mikroglobulin .....	40
17. Cíl práce .....	51
18. Pracovní hypotézy .....	52
19. Soubor pacientů a metodika – preanalytická a analytická fáze .....	54
20. Výsledky .....	63
21. Diskuze a závěr .....	81

## 1. ÚVOD

Za fyziologických podmínek je likvor /CSF/ čirou bezbarvou kapalinou, která se nachází v komorovém systému mozku, v cisternách a v subarachnoidálních prostorech mozku a míchy.

Mozek i mícha jsou kryty třemi membránami. Zevní kryt – dura mater, uprostřed arachnoidea, na vnitřní straně je pia mater. Mozkomíšní mok je obsažen v prostoru subarachnoidálním, jenž ohraničuje na vnitřní straně pia mater, která sleduje mozkové závitě. Zevní list tohoto prostoru je tvořen arachnoideou, přiléhající volně k dura mater.

Cirkulace likvoru začíná v intersticiálních prostorech drénujících mozkovou a míšní tkáň, je produkován v chorioidálních plexech. V makroskopických likvorových prostorách cirkuluje z obou postranních komor přes foramen Monroi do III. komory a Sylviovým kanálkem do IV. komory, odtud přes foramina Luschkae do mostomozečkových koutů a přes foramen Magendi do cerebromedulární cisterny. Odtud se dělí – část nad mozečkové hemisféry, část po bázi přes premedulární, prepontinní a interkrurální cisterny a dále frontálně a laterálně na přední část konvexity a dorzálně přes cisternae ambientes a cisternae venae magnae cerebri do interhemisferálního subarachnoidálního prostoru a nad okcipitální laloky, nejmenší část do zadního spinálního prostoru.

Resorpce likvoru probíhá v Pacchionských granulacích a durálních sinech, kde je vypouštěn do venózního oběhu. Hnací silou pro přestup likvoru do venózní krve je tlakový rozdíl mezi arteriální a venózní krví.

Funkce likvoru je komplexní - obklopuje mozek a míchu a chrání je před otřesy, slouží k vyrovnávání tlakových poměrů nitrolebečních a nitropáteřních spolu s venózním systémem. Plní regulační a ochrannou funkci při změnách teploty a atmosferického tlaku, účastní se na metabolismu neuronů, na odstraňování produktů katabolismu a na imunologických procesech.

Průměrné množství likvoru u dospělého člověka je asi 140 ml, průměrná denní produkce likvoru je asi 500 ml s průměrnou rychlostí cirkulace 0,3 ml/hod. Rychlost likvorové

---

cirkulace se mění s věkem a má zásadní význam pro koncentraci likvorových proteinů.

Normální hodnoty likvorového tlaku jsou vleže 0,59 – 1,96 kPa /60 – 200 mm H<sub>2</sub>O/, u sedícího pacienta 3,92 kPa/ 400 mm H<sub>2</sub>O/.

K odběru likvoru se používá nejčastěji lumbální punkce /LP/. Provádí se u ležícího či sedícího pacienta. Poloha pacienta má vliv na hodnoty likvorového tlaku /viz výše/.

Likvor by měl být odebrán alespoň do 3 zkumavek; postupný odběr do více zkumavek umožní posouzení arteficiální příměsi erytrocytů, při němž dochází k postupnému čerění vytékajícího moku – u pravého intermeningeálního krvácení zůstává intenzita růžového či červenavého zbarvení neměnná.

Relativní kontraindikací provedení odběru moku lumbální punkcí je přítomnost mozkového edému a syndromu nitrolební hypertenze, dále záněty v oblasti provedení punkce, koagulační defekty a antikoagulační terapie, vrozené a získané deformity páteře.

(6,12,14,70)

## **2. SOUBORY VYŠETŘENÍ V MOZKOMÍŠNÍM MOKU**

### **2.1. Akutní vyšetření**

makroskopický popis mozkomíšního moku

celková bílkovina

kvantitativní a orientačně kvalitativní cytologie

laktát

### **2.2. Základní vyšetření**

makroskopický popis

celková bílkovina kvantitativní a kvalitativní cytologie

laktát a glukóza v likvoru

---

albumin, IgG, IgA, IgM v likvoru a v séru

oligoklonální IgG v likvoru a v séru

specifické protilátkové indexy /AI - antibody indices/ ve třídě IgG u příslušných indikací: spalničky, zarděnky a virus planých neštovic, tzv. MRZ reakce, dále AI pro HSV, HIV, CMV, Toxoplasmosa gondii, Borrelia burgdorferi ve třídě IgM a IgG, Treponema palidum počet erytrocytů a přítomnost hemoglobinu

### **2.3. Rozšířené vyšetření**

PCR při podezření na HSV encefalitidu, tuberkulózu a oportunní infekce/CMV infekce, toxoplazmóza/

tumorový marker – karcinoembryonální antigen v likvoru a séru

stanovení CNS proteinů – např. neuronspecifické enolázy v séru jako markeru postižení nervové tkáně po hypoxii, tau-protein, beta-amyloid – při diagnostice demencí, ...

beta-trace protein k určení přítomnosti likvoru v nazálním sekretu

(2,6,13,70,76,78,81)

## **3. BARIÉROVÉ SYSTÉMY**

Výměna látek mezi krví, likvorem a nervovou tkání je regulována bariérami, které vytvářejí 4 kompartmenty důležité pro účely likvorové diagnostiky:

1. intravaskulární kompartment tvořený luminy kapilár mozkového parenchymu, chorioidálního plexu a leptomening
  2. intracelulární prostor nervových a gliových buněk
  3. extracelulární prostor mezi nervovými a gliovými buňkami otevřený k likvorovému prostoru, tvořený výběžky glie a neuronů
  4. likvorový kompartment tvořený mozkovými komorami, bazálními cisternami,
-

subarachnoidálním prostorem a úzkou zónou přiléhajícího extracelulárního prostoru

Mezi jednotlivými kompartmenty jsou následující bariérové systémy s různými transportními mechanismy:

1. hematoencefalická bariéra tvořená pevnými spojeními mozkových kapilár s převážně transendoteliálním transferem lipofilních substancí mechanismem specifických transportních mechanismů
2. hematolivorová bariéra tvořená chorioidálním plexem a endotelem kapilár s dominantním mechanismem přestupu proteinů do likvoru difuzí a se specifickými transportními systémy pro aminokyseliny, elektrolyty a cukry
3. intra/extracelulární bariéra především s transmembranózním transferem a specifickými transportními systémy

Hematoencefalická bariéra a intra/extracelulární bariéra jsou lipidové bariéry dovolující průnik lipofilních molekul do velikosti cca 500 Da a zadržující většinu hydrofilních molekul. Mezi likvorovým a extracelulárním kompartmentem existuje difuzní ekvilibrium. Hematolivorová bariéra je relativně propustná pro hydrofilní molekuly a v širším smyslu zahrnuje všechny procesy ovlivňující definitivní koncentraci proteinů v lumbálním likvoru.

Všechny krevní proteiny prostupují kapilární stěnou mechanismem pasivní difuze do mozku, extracelulární tekutiny a likvoru. Větší molekuly (např. IgM) prostupují pomaleji a vytvářejí strmější hematolivorový koncentrační gradient než molekuly menší /např. albumin/. Zvýšení koncentrace jednotlivého proteinu v séru má za následek vyšší koncentraci téhož proteinu v likvoru, avšak gradient zůstává konstantní, což může být adekvátně vyjádřeno poměrem koncentrace proteinu v likvoru a séru - tzv. koncentračním kvocientem Q.

Např. pro albumin  $Q_{alb} = \text{CSF alb} / \text{sérum alb}$ .

Stupeň cirkulace likvoru je hlavním faktorem ovlivňujícím koncentraci proteinů v likvoru,

---

tzn. snížení průtoku likvoru má za následek zvýšení koncentrace sérových proteinů.

Albuminový kvocient  $Q_{alb}$  je obecně přijímaným indikátorem funkce hematolikorové bariéry zahrnující stupeň likvorového průtoku. Zvýšená koncentrace albuminu v likvoru je vždy důsledkem dysfunkce hematolikorové bariéry, neboť albumin pochází výlučně z krve.

Redukce stupně likvorového průtoku může být způsobena:

- sníženou tvorbou likvoru
- omezením průtoku v subarachnoidálním prostoru
- blokádou resorpce likvoru v arachnoidálních klcích

Obecně patologické zvýšení koncentrace proteinu, např. IgG v likvoru, je zapříčiněno dysfunkcí hematolikorové bariéry nebo intrathekální syntézou IgG.

K rozlišení mezi těmito dvěma příčinami je nutné porovnat  $Q_{IgG}$  versus  $Q_{alb}$ .

V důsledku permanentní difuze sérových proteinů do likvoru v subarachnoidálním prostoru podél likvorových cest stoupá koncentrace proteinů mezi ventrikulárním a lumbálním likvorem.

Vztah mezi  $Q_{alb}$  a  $Q_{IgG}$  není lineární a je nejlépe vyjádřen numericky i graficky hyperbolickou závislostí.

Hyperbolická závislost byla nejprve určena empiricky, později potvrzena zákony difuze a závislostí koncentrace proteinů na stupni průtoku mozkomíšního moku.

Na základě této teorie byl stupeň cirkulace mozkomíšního moku určen jako hlavní modulátor obsahu proteinů v likvoru, a to proteinů jak krevního, tak intrathekálního původu. Redukovaný stupeň cirkulace likvoru má za následek zpočátku lineární vzestup koncentrace proteinů, vzrůstající koncentrace podél dráhy cirkulujícího likvoru vede k narůstajícímu množství difundujících proteinů za jednotku času z krve do likvoru a tento cyklus narůstající koncentrace a zvyšujícího se molekulárního, resp. proteinového přestupu přes bariéru vytváří mechanismus pozitivní zpětné vazby. (78,71,73,70,1,12,14,15,2,6,72,81)

---

## **4. DYNAMIKA PROTEINŮ POCHÁZEJÍCÍCH PRIMÁRNĚ Z NERVOVÉHO SYSTÉMU**

Je odlišná od dynamiky proteinů pocházejících z krevního séra. Hlavní frakce proteinů v normálním likvoru /cca 80%/ je tvořena proteiny séra se značným podílem albuminu. Asi 20% vzniká intrathekálně z mozkového parenchymu a leptomening, výjimečně jsou specifické pro nervový systém.

Základním rysem těchto predominantně mozkových proteinů je jejich vyšší koncentrace v likvoru ve srovnání se sérem, což indukuje jejich difuzi směrem z likvoru do krevního séra.

(8,73,81)

## **5. BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ LIKVORU**

Spektrum biochemických vyšetření likvoru stále narůstá s rozvojem laboratorních metodik.

V zásadě by vždy mělo být vyšetřeno:

- hladina celkové bílkoviny
- hladina glukózy
- stanovení hladiny imunoglobulinů a albuminu
- stanovení hladiny proteinů akutní fáze

Mělo by být provedeno vyšetření spektrofotometrické, které nás informuje o přítomnosti hematogenních pigmentů.

### **5.1. Celková bílkovina**

Za normální lze považovat u dospělého člověka hladinu mezi 0,20 až 0,45 g/l, u novorozenců lze považovat za normální až hodnotu 0,90g/l a u lidí nad 60 let věku až do 0,60g/l.

Zvýšení hladiny celkové bílkoviny může být způsobeno jednak poruchou hematalikvorové

---



bariéry – do likvoru proniká zprvu albumin a při výrazné poruše bariéry i imunoglobuliny, příp. možností intrathekální tvorby imunoglobulinů v CNS. Zvýšení hladiny celkové bílkoviny je patologickým jevem a je obecně součástí likvorových syndromů proteinocytologické asociace / při současném zmnožení počtu buněk / nebo protienocytologické disociace / při normálním počtu elementů/.

## **5.2. Glukóza**

Hladina glukózy dosahuje za normálních okolností asi 2/3 hladiny v séru – cca 2,2 – 4,2 mmol/l.

Zvýšení hladiny glykorachie lze pozorovat často u diabetiků, kde odráží celkově vysokou hladinu glukózy v séru. Dále bývá někdy vyšší u virových neuroinfekcí, kde může být i nižší. Výrazně nízké hladiny glukózy jsou typické u hnisavých meningitid.

## **5.3. Laktát**

Je důležitým parametrem mozkového metabolismu. Hladina není závislá na plasmatické koncentraci laktátu.

Laktát vzniká v CNS v případě anaerobní glykolýzy. Za normálních podmínek přestupuje hematoencefalickou bariéru v malém množství. Při bakteriálních meningitidách hladina vzrůstá až dvojnásobně.

## **5.4. Albumin a imunoglobuliny**

Hladiny imunoglobulinů a albuminu musí být paralelně stanovovány v likvoru i v séru. Hematolikvorová bariéra vždy propouští určité množství proteinových frakcí, což odpovídá především jejich výchozí koncentraci v séru, dále upozorňuje na přítomnost poruchy bariéry hematolikvorové.

---

Hladiny jednotlivých imunoglobulinů v likvoru mohou být zvýšeny i přítomností jejich intrathekální syntézy v CNS, a to při poruše bariéry či izolovaně.

Pro výpočet stavu hematolikvorové bariéry a intrathekální syntézy imunoglobulinů bylo v klinické praxi používáno mnoho indexů a vzorců.

V současnosti se za nejvýhodnější považuje grafické znázornění funkce bariéry a možné přítomnosti syntézy imunoglobulinů dle Reibera. Provádí se pro imunoglobuliny IgG, IgA, IgM. Za nejprínosnější se považuje stanovení hladiny IgG. Přítomnost jeho oligoklonální syntézy lze pozorovat u neuroinfekcí, zejména při přechodu do chronicity, velmi často u roztroušené sklerózy.

Albuminový kvocient odráží funkci hematolikvorové bariéry.

Jeho hladina se výrazně mění s věkem. U novorozenců je vysoká – při zvýšené propustnosti hematolikvorové bariéry.

### **5.5. Proteiny akutní fáze**

Velmi perspektivní skupina likvorových proteinů, též nazývaná reaktanty akutní fáze.

Tyto proteiny přecházejí do likvoru ze séra. Jejich hladina v likvoru je závislá jednak na jejich výchozí hladině v séru, jednak na funkci hematolikvorové bariéry. Tyto bílkovinné frakce jsou integrální součástí systému humorální imunity a za jejich produkci jsou odpovědné interleukiny, které mohou stimulovat jaterní buňky k jejich tvorbě.

Tyto proteiny jsou syntetizovány v játrech a jejich výsledná hladina v likvoru je závislá na uvedených okolnostech.

Jedná se o mediátory zánětlivé reakce, a to ve smyslu plus i minus. Některé z těchto působků zabraňují např. poškození tkání zánětlivým procesem a jsou pak nazývány reaktanty negativními. Tyto proteiny zprostředkovávají aktivaci mezenchymálních elementů monocytární řady v elementy makrofagické, ovlivňují nástup, ukončení a rozsah úklidové makrofagické reakce. Většina těchto frakcí patří mezi alfa 1 a alfa 2 globuliny. Změny jejich

---

hladin, např. u zánětlivých onemocnění, jsou podkladem tzv. alfa-inverze popisované v elektroforéze likvoru.

Sledování hladin některých reaktantů akutní fáze může mít značný význam i pro zjištění maligního procesu CNS.

(6,7,14,57,70,72,76,81)

## **6. NEJČASTĚJI SLEDOVANÉ FRAKCE PROTEINŮ AKUTNÍ FÁZE:**

### **6.1. CRP – C – reaktivní protein**

Stanovení považujeme za významné u hnisavých neuroinfekcí. Jeho normální hladiny možnost bakteriálního zánětu prakticky vylučují. U ostatních zánětlivých afekcí bývá hůře stanovitelný marker při velmi nízké iniciální hladině v likvoru. Velký význam je při odlišení virové a bakteriální infekce.

### **6.2. Orosomukoid**

Kyselý glykoprotein z alfa1 frakce globulinů. U zánětlivých chorob jeví jeho hladina zřetelný vzestup. Velmi výrazný vzestup může provázet maligní onemocnění.

### **6.3. Prealbumin**

Negativní reaktant. V likvoru dosahuje vysokých koncentrací proti koncentracím sérovým.

---

#### **6.4. Alfa 1-antitrypsin a alfa 1-antichymotrypsin**

Negativní reaktanty zánětlivé fáze. Tyto látky blokují účinek enzymů, čímž eliminují tkáňové poškození zánětlivým procesem.

#### **6.5. Alfa 2 – ceruloplasmin**

Význam spočívá v tom, že se jedná o transportní mechanismus pro měď. Je typickým proteinem akutní fáze.

#### **6.6. Transferin**

Transportní mechanismus pro železo, reaktant zánětlivé fáze.

#### **6.7. Fibrinogen**

Účastní se hemokoagulace, protein akutní fáze. V likvoru je zodpovědný za vznik síťky u kompresivních likvorových syndromů a za vznik Froinova syndromu. Za normálních okolností je jeho hladina velmi nízká.

#### **6.8. C3, C4**

Komponenty komplementového systému, proteiny akutní fáze.

(6,7,8,14,32,57,58,59,70,81)

## **7. STRUKTURÁLNÍ PROTEINY CNS**

Tato skupina je též nazývána stopovými bílkovinami /trace proteins/ pro jejich velmi nízkou hladinu v likvoru.

Tyto proteiny nejsou sérového původu, ale jedná se o bílkovinné frakce syntetizované v CNS. V séru jsou buď zcela nepřítomny, nebo jestliže pronikají hematolikorovou bariérou, jsou přítomny i v séru, ovšem ve stopových až neměřitelných koncentracích. Některé z nich mají vztah k neuroinfekcím.

### **7.1. Gama trace protein**

Zvýšení hladiny je nespecifickou známkou přítomnosti rozpadu mozkové tkáně.

### **7.2. Bazický protein myelinu**

Zvýšení hladiny je u roztroušené sklerózy, leukoencefalitid, vaskulárních lézí CNS.

### **7.3. GFAP – astroprotein – Glial Fibrillary Acidic Protein**

Produkován astroglíálními elementy CNS. Zvýšení hladiny u neuroinfekcí, roztroušené sklerózy, tumorů z gliových buněk, ...

### **7.4. Beta – trace protein**

Zvýšení hladiny je u ischemických cévních lézí, infiltrativně rostoucích tumorů, roztroušené sklerózy, infekčních onemocnění CNS.

### **7.5. Protein S 100**

Zvýšení hladiny u neuroinfekcí, kontuzí mozku. S – 100B spolu s tau proteinem - velmi

---

důležité při stanovení diagnózy Creutzfeldt-Jakobovy choroby. Senzitivita a specificita stanovení hladiny těchto proteinů je kolem 90%. Zvýšení hladiny S – 100B představuje astroglální aktivitu a možnou destrukci, zatímco zvýšení tau proteinu je v důsledku ztráty neuronů.

### **7.6. Bazický protein myelinu**

Protein s vysokým obsahem bazických aminokyselin, který je součástí myelinu. Jeho stanovování je používáno výzkumně, ale i v klinické praxi – u roztroušené sklerózy, u neuroinfekcí. Je považován za významný antigen, který je schopen senzibilizovat a stimulovat imunitní systém jedince k autoagresi.

### **7.7. Tau protein**

Je protein intraneuronální, mikrotubuly stabilizující protein, primárně se nacházející v axonech. Hladina je závislá na věku, zvýšení je spojené se stupněm neuronálního poškození. Vysoce zvýšená hladina je u degenerativních onemocnění – např. Alzheimerovy demence, Creutzfeld–Jakobovy choroby, akutního mozkového infarktu. Normální hladina – např. u depresí, demence při alkoholické encefalopatii, Parkinsonově chorobě. Zvýšená hladina je rovněž u sclerosis multiplex v časných formách. Spolu s S - 100 B – zvýšení u CJD /Creutzfeld–Jakobovy choroby/. Dále hladina stoupá spolu s GAP 43 /Growth–associated protein/ a beta amyloidem 42 u frontotemporální demence, Alzheimerovy demence, vaskulární demence. Zvýšení tau proteinu je v důsledku neuronální a axonální degenerace.

(1,12,14,15,16,2,6,8,13,14,57,73)

## 8. ELEKTROFORETICKÉ DĚLÍCÍ METODY

Elektroforéza na papíře je již prakticky opuštěna.

Novější elektroforetickou metodikou je izoelektrická fokuzace.

Izoelektrická fokuzace je elektroforéza, která dělí bílkoviny mozkomíšního moku a séra v gradientu pH podle jejich izoelektrických bodů /pI/.

Aminokyseliny v bílkovinách mají amfoterní vlastnosti, tzn. že bílkoviny mohou mít záporný náboj při hodnotách pH vyšších než je jejich pI a kladný náboj při nižších hodnotách pH. Izoelektrický bod je pH, při kterém má bílkovina nulový náboj.

Bílkoviny během izoelektrické fokuzace putují do svých pI, kde se fokuzují – koncentrují.

Po rozdělení bílkovin moku a séra izoelektrickou fokuzací jsou možné 4 typy detekcí:

1. barvení v gelu
2. barvení v gelu po imunofixaci
3. blottování na membránu /nejčastěji nitrocelulózovou/ s následnou imunodetekcí
4. blottování na membránu impregnovanou protilátkou proti lidskému IgG s následnou imunodetekcí - tzv. afinitivní imunoblotting

Stanovení oligoklonálního IgG izoelektrickou fokuzací s následným imunoenzymatickým barvením představuje nejčastěji užívanou komplementární metodu k diagnostice zánětlivého procesu s intrathékální IgG syntézou. Kvalitativní stanovení IgA a IgM je rovněž možné, ale méně senzitivní než detekce oligoklonálního IgG.

Na základě mezinárodního konsenzu je navrženo 5 typů možných výsledků při párové analýze likvoru a séra:

Typ 1. Normální likvor

Typ 2. Oligoklonální IgG pouze v likvoru /např. sklerosis multiplex/

---

Typ 3. Oligoklonální IgG v likvoru a jiné identické pásy v likvoru a séru /např. neuroborelióza/

Typ 4. Identické oligoklonální pásy v likvoru a v séru /např. paraneoplastické syndromy/

Typ 5. Monoklonální pásy v likvoru a séru /myelom nebo monoklonální gamapatie/

Pásy se obvykle nacházejí v alkalické oblasti elektroforetického pole.

Z hlediska neurologické diagnostiky jsou významné typy 1, 2, 3. V případě nálezů pod bodem 3 a 4 dostáváme další informaci, neboť oligoklonální pásy v séru jsou typické pro řadu jiných onemocnění, např. Guillanův- Barreho syndrom, zánětlivé polyneuropatie.

(70,73,3,7,11,13,15,53,76,79,82)

## **9. INTRATHÉKÁLNÍ PRODUKCE SPECIFICKÝCH PROTILÁTEK**

Případy, kdy se podaří z mozkomíšního moku izolovat mikroorganismus odpovědný za vznik závažného onemocnění mozku nebo míchy, jsou ojedinělé.

Efektivnější je sledování specifických protilátek, jejichž tvorbu mikroorganismus vyvolal.

Existuje několik metod, které nám to umožňují:

1. Výpočet protilátkových indexů, které informují o intrathékální produkci specifických protilátek na základě stanovení ELISA technikou.
  2. Capture ELISA, specifické protilátky jsou vycytávány na nespecifické anti-IgG, resp. anti-IgM protilátky; detekce se provádí se značeným antigenem, proti kterému je namířena specifická protilátka. Pokud jsou v mozkomíšním moku vyšší titry specifických protilátek než v séru, svědčí to pro lokální onemocnění.
  3. Imunoblotting, antigeny mikroorganismu jsou elektroforeticky rozděleny podle svých molekulových hmotností, přeneseny na nitrocelulózovou membránu a pak inkubovány s mozkomíšním moky a se sérem, srovnává se počet a intenzita
-



vybarvených pásů, pro lokální onemocnění svědčí vyšší počet a intenzivnější vybarvení pásů po inkubaci s mozkomíšním mokem ve srovnání se sérem.

4. Afinitní imunoblotting, specifické protilátky rozdělené izoelektrickou fokuzací jsou vychytávány na nitrocelulóзовou membránu nasycenou antigenem, proti kterému je namířená specifická protilátka. Pokud je v mozkomíšním moku vyšší počet pásů nebo jsou intenzivněji vybarveny než v séru, svědčí to pro intrathekální produkci specifických protilátek.
5. Měření specifických protilátek produkovaných lymfocyty izolovanými z mozkomíšního moku a kultivovanými in vitro.

(70,73,1,3,5,7,11,13,14,16)

## 10. PROTILÁTKOVÝ INDEX

Molekuly imunoglobulinů přecházejí ze systému do CNS i za fyziologických podmínek, tj. při neporušené hemato-likvorové bariéře. Porovnáním stanovení koncentrací celkového nespecifického imunoglobulinu v moku a v séru s koncentracemi specifického imunoglobulinu můžeme zjistit, zda koncentrační poměr – kvocient je u specifického Ig stejný jako u celkového nespecifického IgG nebo zda je vyšší. Pokud je vyšší, dochází k intrathekální produkci specifických protilátek, jde o imunitní odpověď proti danému antigenu přímo v CNS

Poměr těchto kvocientů se nazývá protilátkový index.

(12,14,15,78,70,71,73,13,79)

Průkaz virových a bakteriálních antigenů:

Používají se ELISA techniky, imunoblotting, PCR – polymerázové řetězové reakce.

---

Tuto citlivou metodu lze použít k průkazu virů a bakterií u neuroinfekcí pouze tehdy, pokud jsou v moku přítomny.

(3,6,15)

## **11. AUTOPROTILÁTKY**

### **11.1. Anti-MBP protilátky /proti bazickému proteinu myelinu/**

Poprvé byly zjištěny u pacientů s roztroušenou sklerózou. Antigenem je bazický protein myelinu. Stanovuje se metodou RIA.

Anti-MBP protilátky jsou senzitivním markerem demylinizačního procesu.

### **11.2. Anti-MAG protilátky /proti glykoproteinu asociovanému s myelinem – Myelin Associated Glycoprotein/**

Antigen – minoritní glykoproteinová komponenta myelinu centrálního i periferního nervového systému, strukturálně podobný některým adhezivním molekulám.

Protilátky proti MAG jsou většinou monoklonální imunoglobuliny třídy IgM, vyšetřujeme je v séru pacienta.

Indikací k vyšetření anti-MAG je především neuropatie spojená s monoklonální gamapatií IgM.

K detekci se užívá metoda ELISA nebo imunoblott.

### **11.3. Antiglykolipidové protilátky**

Tyto protilátky se zřejmě přímo podílejí na patogenezi neuropatií. Stanovují se metodou ELISA. Velké množství je stanoveno např. u Guillain–Barrého syndromu.

(3,7,12,14,17)

---

## **12. SPEKTROFOTOMETRICKÉ VYŠETŘENÍ LIKVORU**

Spektrofotometrické vyšetření nás informuje o přítomnosti hematogenních pigmentů v likvoru, má význam u příhod hemorhagických, subarachnoidálního krvácení, intraparenchymového mozkového hematomu a prokrvácených mozkových tumorů.

Spektrofotometrické vyšetření pomůže odlišit přítomnost arteficiálního krvácení.

Vyšetření se provádí ve spektru viditelného světla.

V likvoru lze bezpečně identifikovat hematogenní pigmenty: oxyhemoglobin, bilirubin, methemoglobin.

### **12.1. Oxyhemoglobin**

Proniká do likvoru z rozpadajících se erytrocytů, mok se jeví jako růžový, červený. Absorpční pík oxyhemoglobinu je při 415 nm, je doprovázen dvěma píky vedlejšími.

Izolovaná přítomnost oxyhemoglobinu se vyskytuje u čerstvých intermeningeálních krvácení všeho druhu.

### **12.2. Bilirubin**

Vzniká v buňkách mozkových a míšních obalů působením enzymu hemoxygenázy na oxyhemoglobin. Vzniklý bilirubin se dostává do likvorového prostoru, železo putuje do elementů retikuloendoteliálního systému a za pomoci transportních mechanismů pro železo je pak dále distribuováno.

Absorpční maximum bilirubinu kolísá mezi 430 a 460 nm, což je způsobeno tím, že lze odlišit dvě bilirubinové frakce – LB frakce a SB frakce.

Vzorek je při přítomnosti bilirubinu výrazně žlutý nebo nažloutlý.

---

### **12.3. Methemoglobin**

Vzniká z hemoglobinu oxidací jeho dvojmocného železa na železo trojmocné, které váže kyslík, ten však již nemůže být uvolněn k utilizaci tkáním.

V likvoru se vyskytuje izolovaně pouze vzácně, často lze zaznamenat jeho přítomnost spolu s ostatními hematogenními pigmenty. Likvor má hnědavou barvu, která přechází do okrově žluté.

Absorpční maximum je při 406 až 408 nm. Přítomnost methemoglobinu lze zaznamenat při krvácení do ohraničených uzavřených prostor CNS, např. při epidurálním hematomu, subdurálním hematomu, intraparenchymálním mozkovém hematomu či u prokrvácených mozkových tumorů. (12,14,15,70,71,7,6,13)

## **13. CYTOLOGIE LIKVORU**

Morfologické zhodnocení buněk v likvoru je významnou součástí likvorové diagnostiky. Buněčné elementy jsou stanoveny ve Fuchsově – Rosenthalově komůrce .

Cytologické vyšetření umožňuje:

- diagnózu zánětlivého likvorologického syndromu
- diagnózu patologického krvácení do likvoru
- diagnózu nespecifického iritačního likvorologického syndromu
- diagnózu nádorového onemocnění

### **13.1. Příprava cytologického preparátu**

V klinické praxi jsou používány nejčastěji 3 následující metody:

- cytocentrifugační technika
  - sedimentační technika
  - filtrace
-

### **13.2. Metody barvení cytologického preparátu:**

#### a. Konvenční metody

Těmito metodami získaný cytologický preparát je následně barven základním standardním barvením dle Maye-Grúnwalda-Giemsy s nabarvením buněčného jádra a cytoplazmy. V indikovaných případech jsou prováděna speciální barvení, např. dle Grama k diferenciaci bakterií, Ziehlovo-Nielsenovo barvení k průkazu mykobakterií, ...

#### b. Imunocytochemické metody

Diagnosticky relevantní antigeny mohou být vizualizovány imunochemickými metodami za použití příslušných monoklonálních protilátek. Protilátka značená enzymem umožňuje následnou barevnou reakci s příslušným substrátem. Tato metoda je nejčastěji užívána ke stanovení intracelulární přítomnosti imunoglobulinů třídy IgG, IgM, IgA v tzv. B aktivovaných lymfocytech nebo k typizaci nádorových buněk.

#### c. Molekulárně biologické metody

Tyto metody: in situ-hybridizace, in situ-PCR, nemají klinické rutinní využití, jsou používány hlavně ve výzkumu.

### **13.3. Fyziologické buněčné složení likvoru**

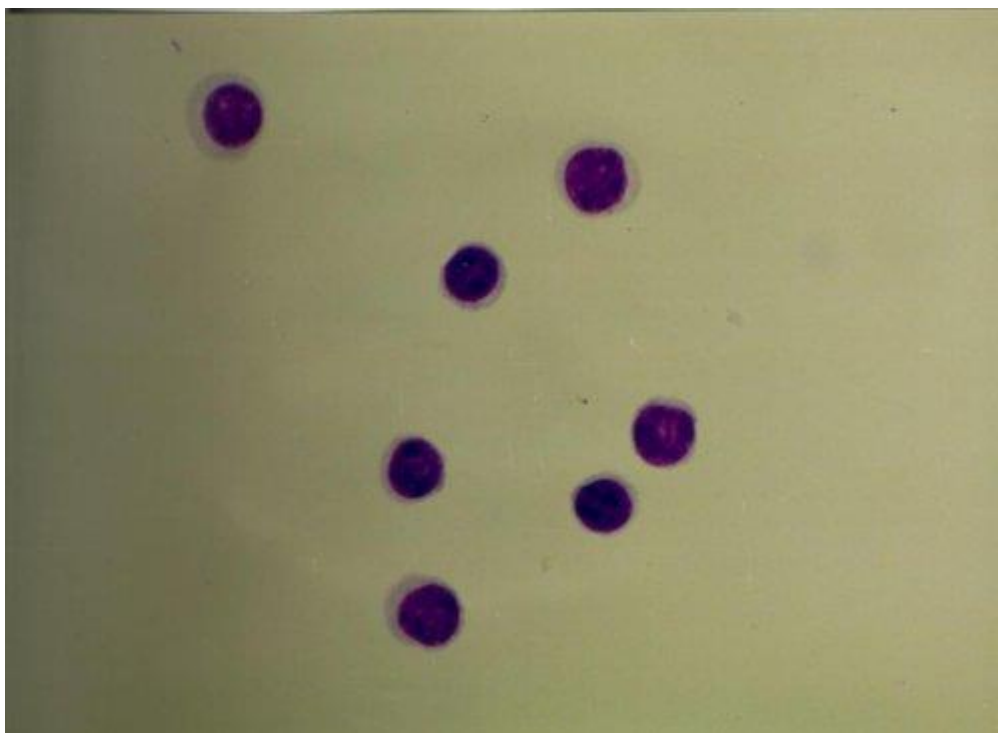
Buňky v likvoru jsou pravděpodobně krevního původu. Jak dlouho tyto buňky zůstávají v perivaskulárním prostoru mening, než jsou uvolněny do likvoru, není známo. Rovněž není známo, zda lymfocyty z mozkového parenchymu přecházejí do likvoru.

V lumbálním likvoru se vyskytují za normálních okolností 2 buněčné druhy: lymfocyty /70%/, monocyty /30%/. Erytrocyty a neutrofilní granulocyty jsou přítomny pouze v důsledku arteficiální krevní příměsi. V likvoru se mohou vyskytovat buňky chorioidálního plexu, ependymální buňky, arachnoidální buňky. Ty však nemají diagnostický význam.

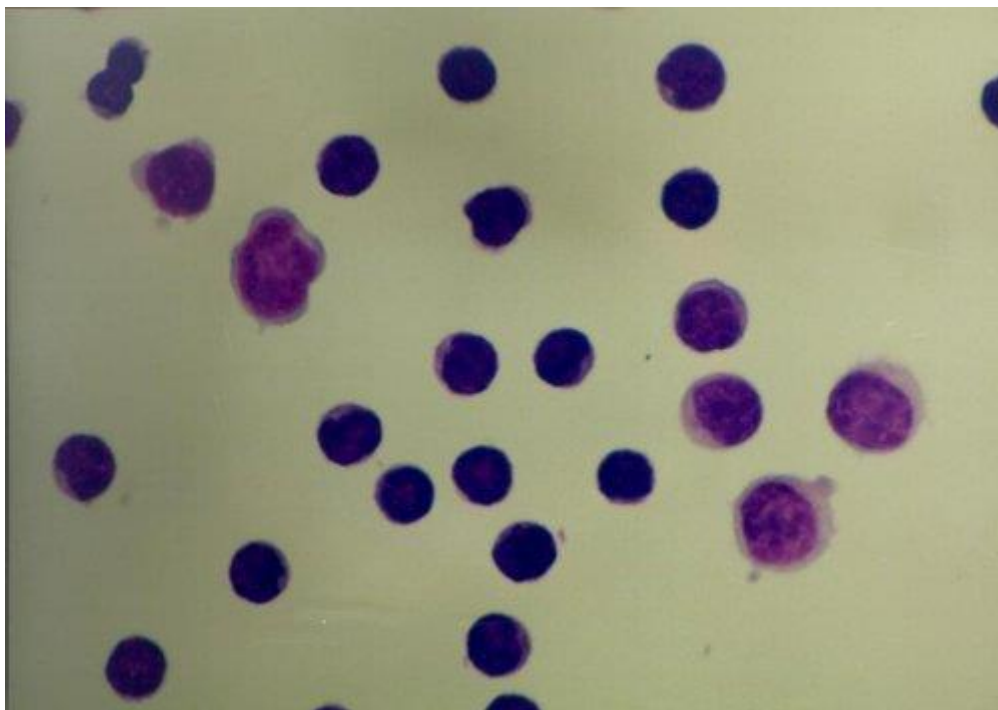
(1,12,14,15,2,5,10,57)

---

Obrázek 1: Neaktivované lymfocyty



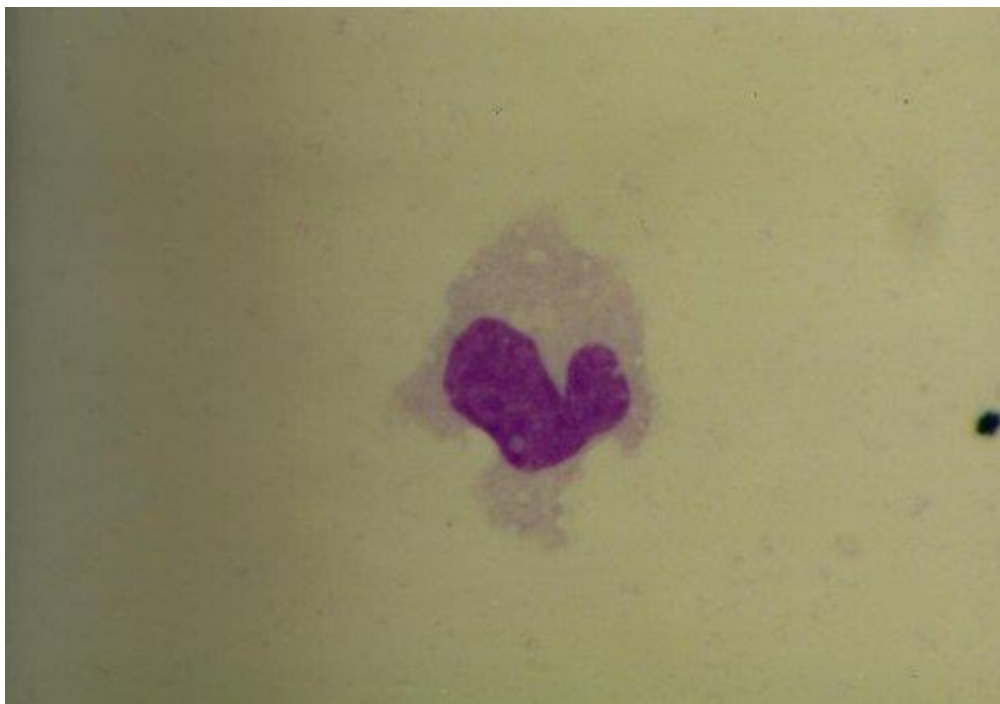
Obrázek 2: Neaktivované a aktivované formy lymfocytů



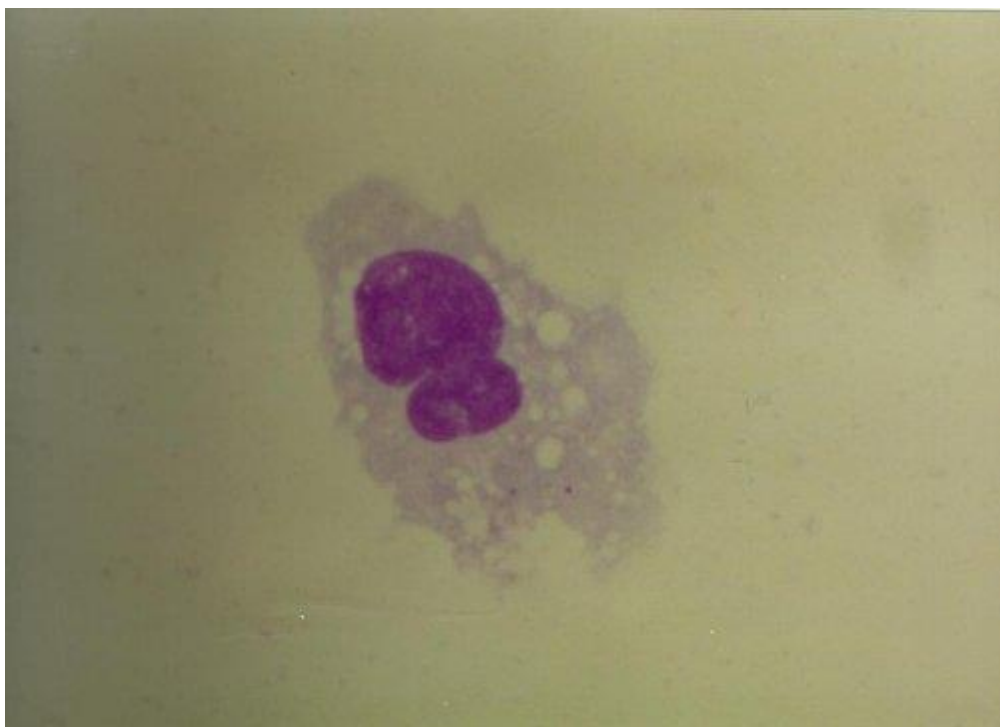
Obrázek 3: Neaktivovaný monocyt



Obrázek 4: Monocyt se známkami aktivace

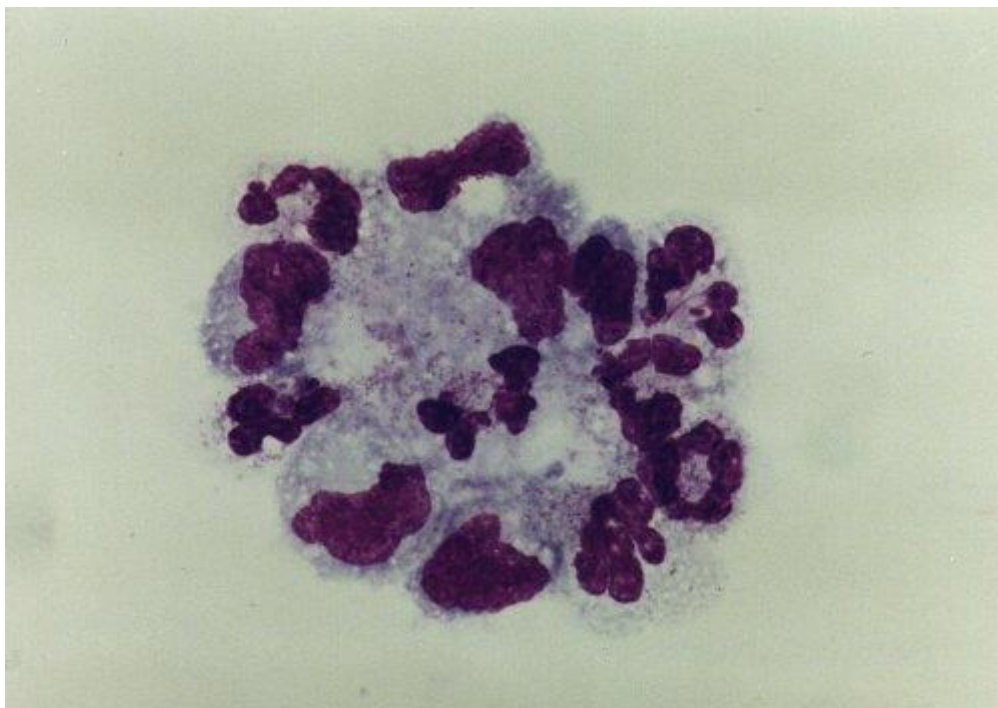


Obrázek 5: Aktivovaný monocyt

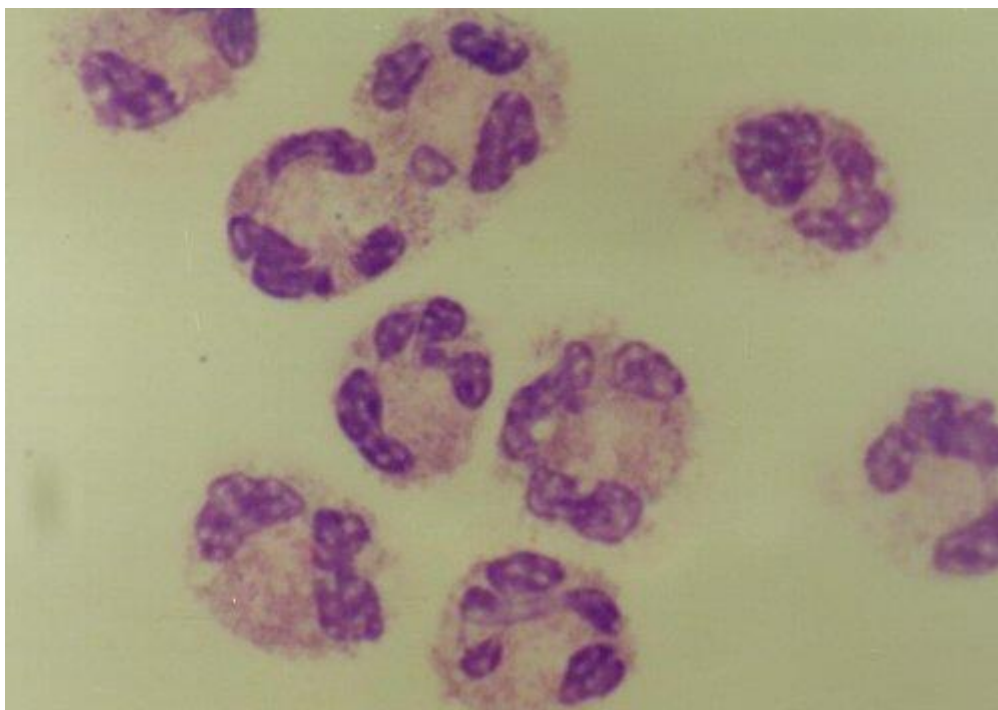




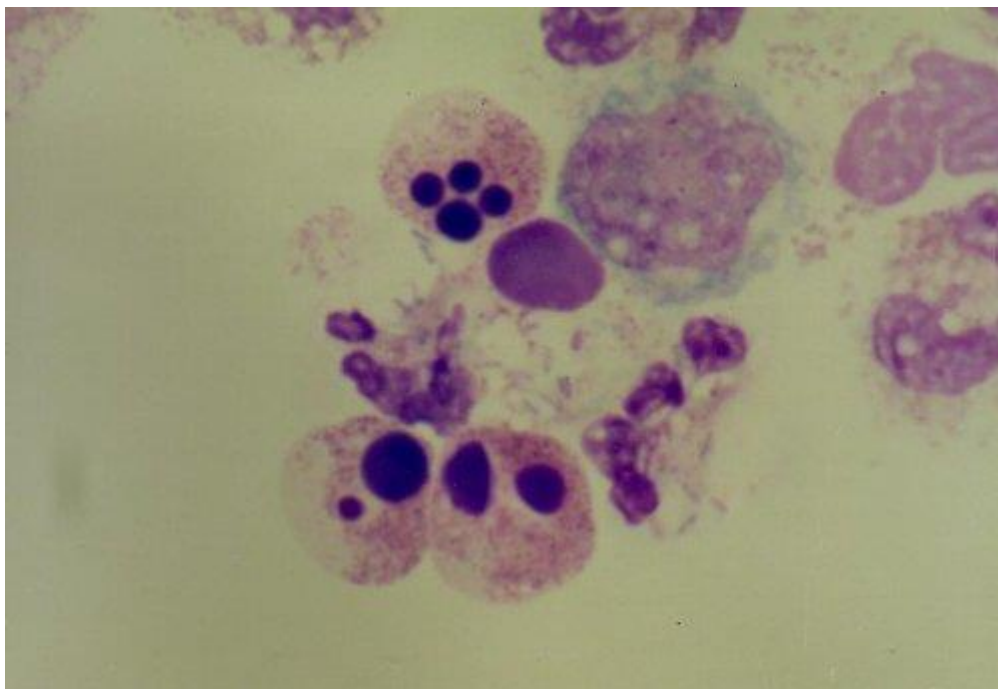
Obrázek 6: Monocyty a granulocyty



Obrázek 7: Neutrofilní granulocyty



Obrázek 8: Degenerativní formy neutrofilů



## 14. PATOLOGICKÉ CYTOLOGICKÉ NÁLEZY V LIKVORU

Známky nespecifické aktivace v cytologickém obraze:

Příčiny – např. přítomnost cizích těles, patologické procesy hluboko v mozgovém parenchymu.

Cytologický obraz – aktivované formy lymfocytů, monocytů, často příměs neutrofilních granulocytů.

### 14.1. Cytologický obraz v likvoru při patologickém krvácení:

Při průniku krve do likvoru dochází k aktivaci monocytárně –fagocytárního systému se vznikem různých typů fagocytů podílejících se na postupném odstraňování krve

---

z likvorových prostorů. Morfologicky rozlišujeme následující fagocyty: erytrofágy, siderofágy, hematoidinsiderofágy. Tyto změny nesledují vždy chronologický sled. Současně se mohou vyskytovat erytrofágy i siderofágy. Fagocytóza se objevuje již za 2-18 hodin po krvácení.

V diagnostice patologického krvácení do CNS se uplatňuje rovněž spektrofotometrie.

#### **14.2. Cytologický obraz v likvoru u zánětlivých onemocnění:**

Zvýšení počtu buněk v likvoru /pleocytóza/ neznamená automaticky infekční onemocnění a naopak ne každá infekce nervového systému způsobí pleocytózu.

Jednotlivé buněčné typy:

##### **a. Polymorfonukleární leukocyty**

Objevují se při akutní reakci mening v likvoru rychle, ale po odběru jejich počet rychle klesá.

##### **b. Neutrofilní granulocyty**

Mají segmentované jádro, objevují se u bakteriálních infekcí, mají schopnost fagocytózy. Během jednoho týdne mizí. Pokud přetrvávají déle, je nutno zvážit i jiné diferenciálně diagnostické možnosti.

##### **c. Eozinofilní granulocyty**

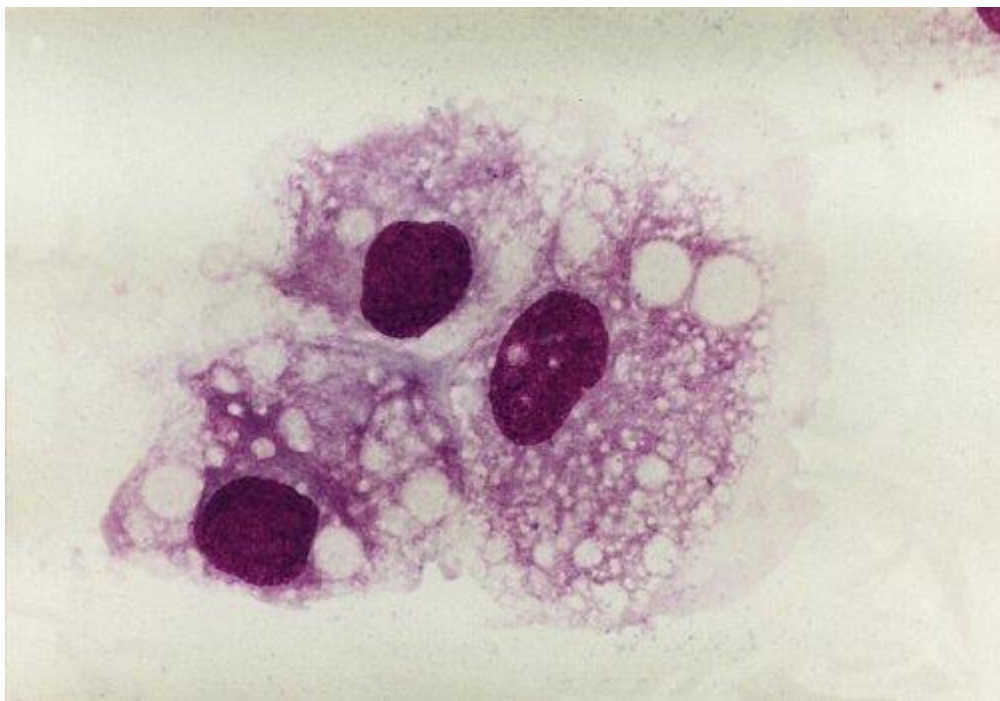
Mají oranžově červená granula v cytoplazmě. Pokud jejich množství přesahuje 1% v diferenciálním cytologickém obraze, musíme pomýšlet na parazitární onemocnění nebo přítomnost cizího tělesa.

##### **d. Makrofágy /fagocyty/**

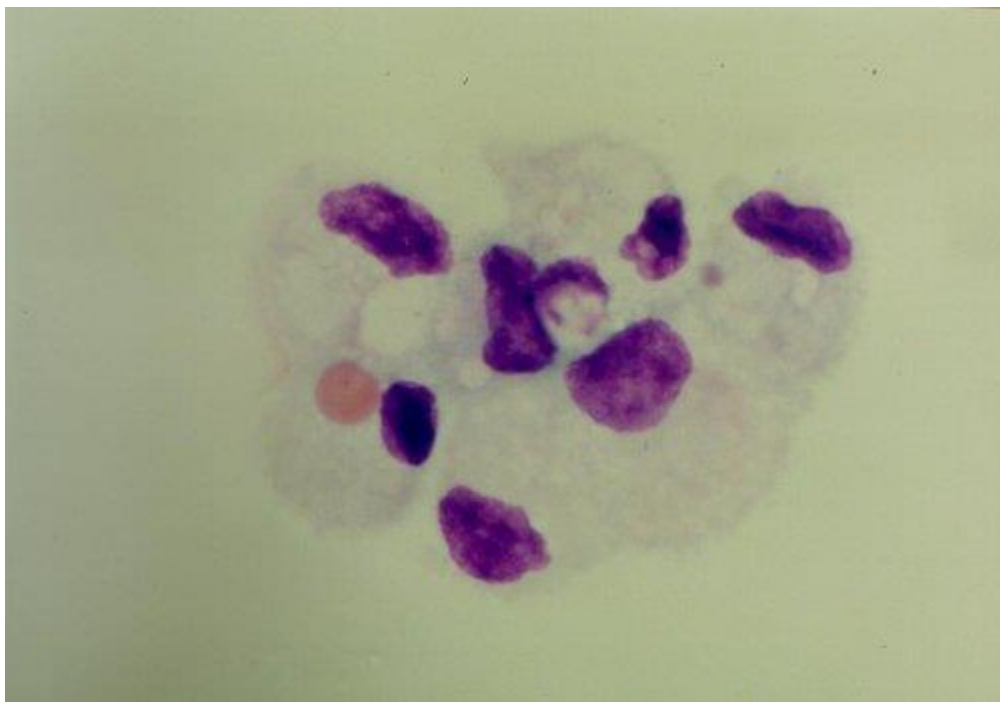
Jsou aktivované a morofologicky transformované monocyty odstraňující cizí materiál z nervové tkáně a likvoru. Podle typu fagocytovaného materiálu rozlišujeme bakteriofagocyty, leukofágy, erytrofágy, lipofágy, pigmentofágy.

---

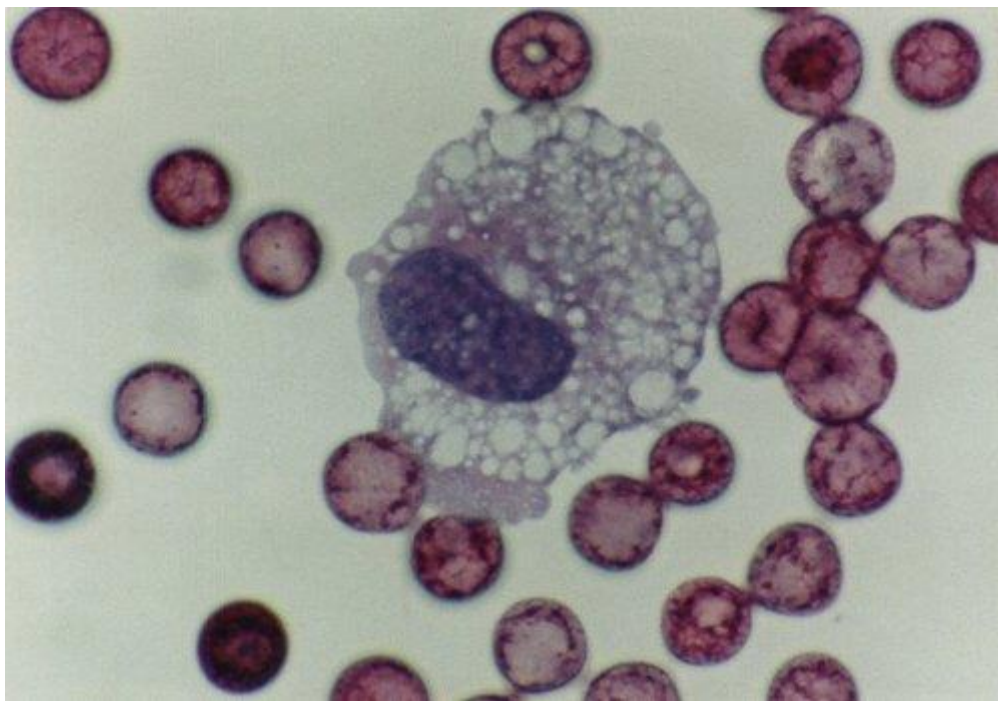
Obrázek 9: Lipofág



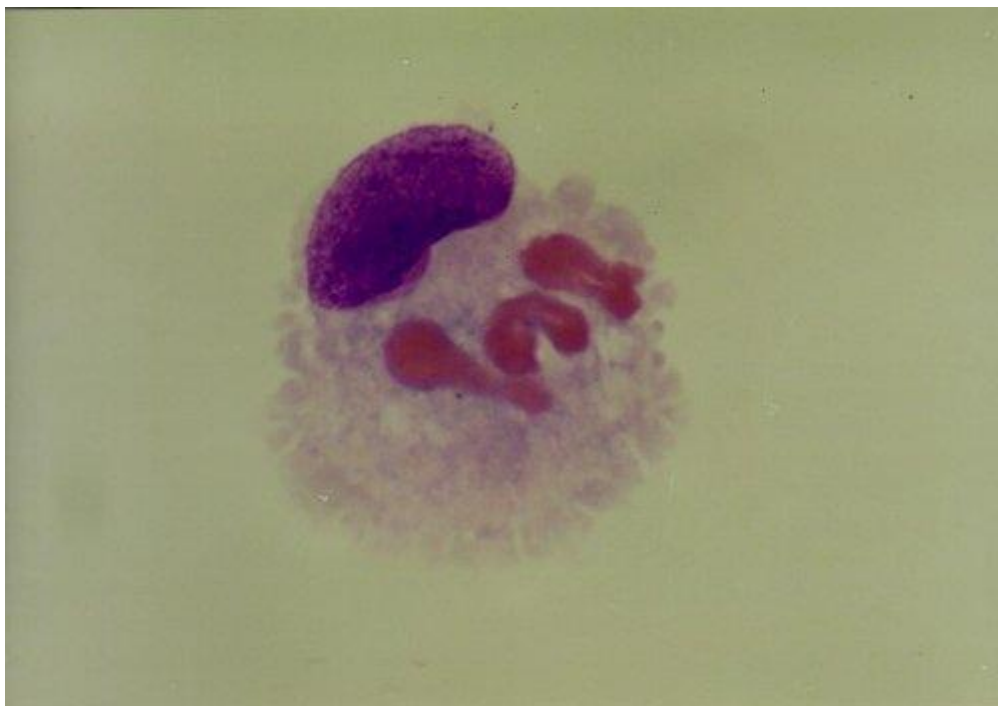
Obrázek 10: Lipofág, fagocytosa erytrocytů



Obrázek 11: Aktivované monocyty s adherovanými erytrocyty

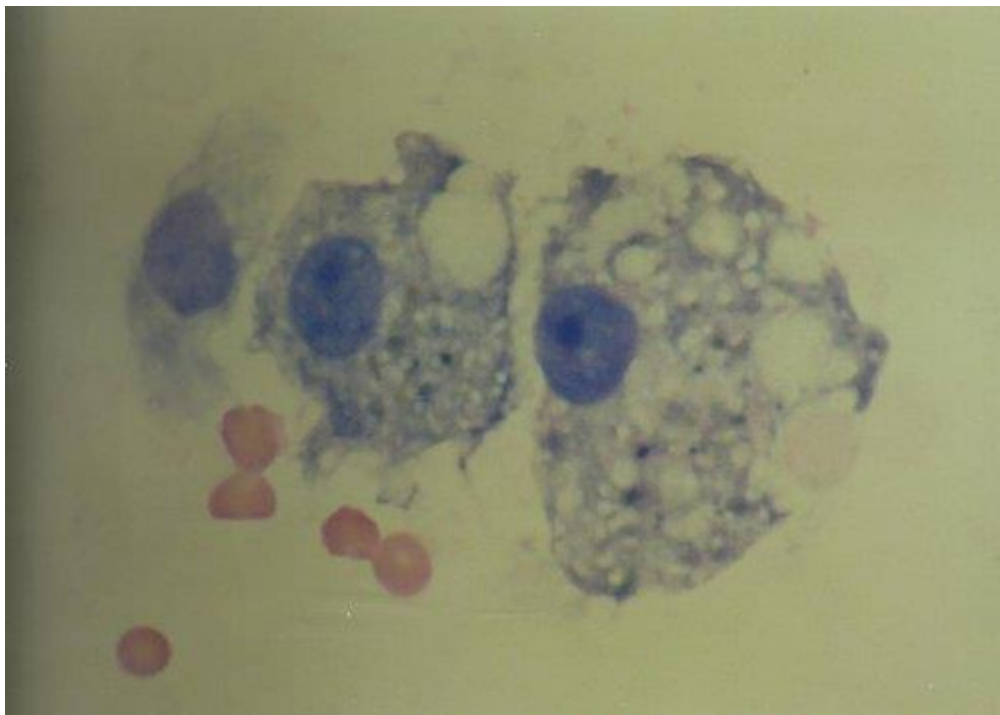


Obrázek 12: Erytrofágy

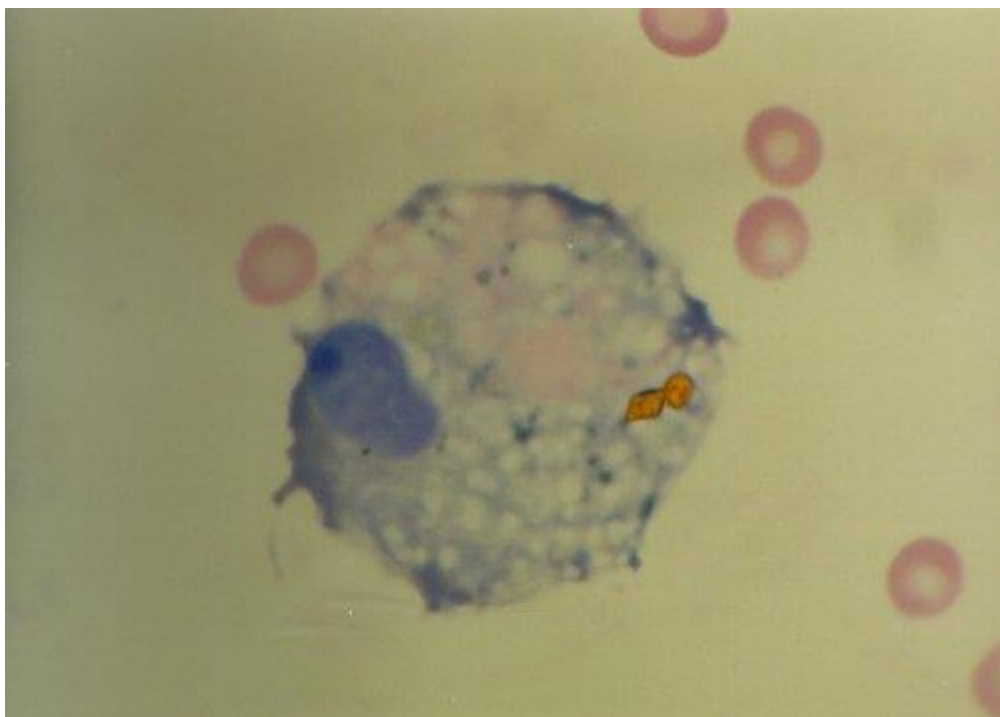




Obrázek 13: Siderofágy



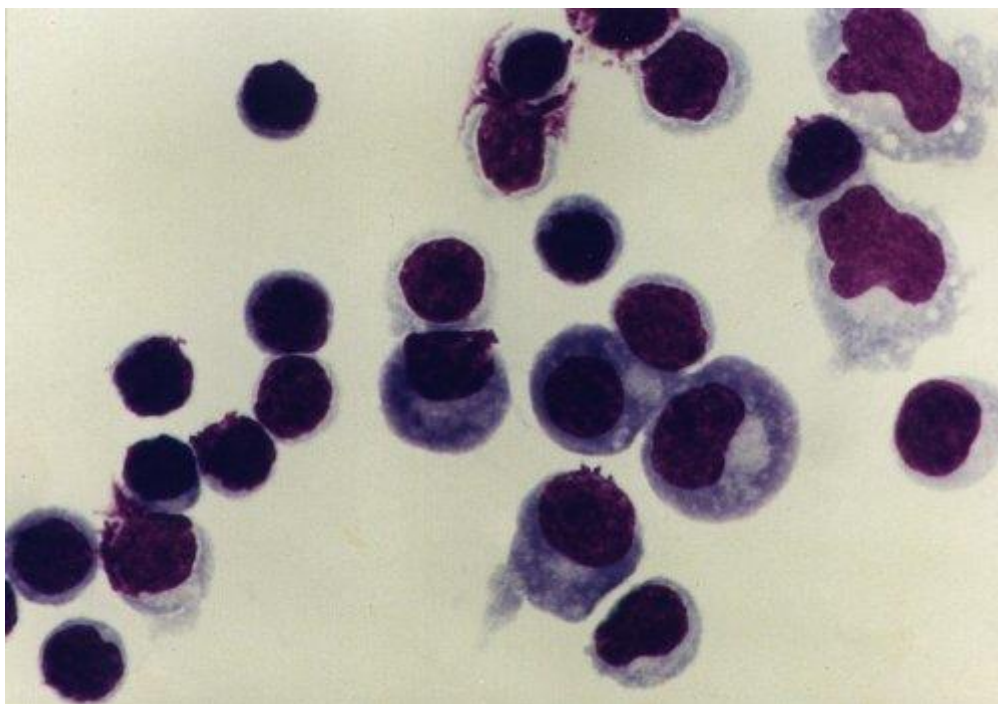
Obrázek 14: Siderofágy s krystaly hematoidinu



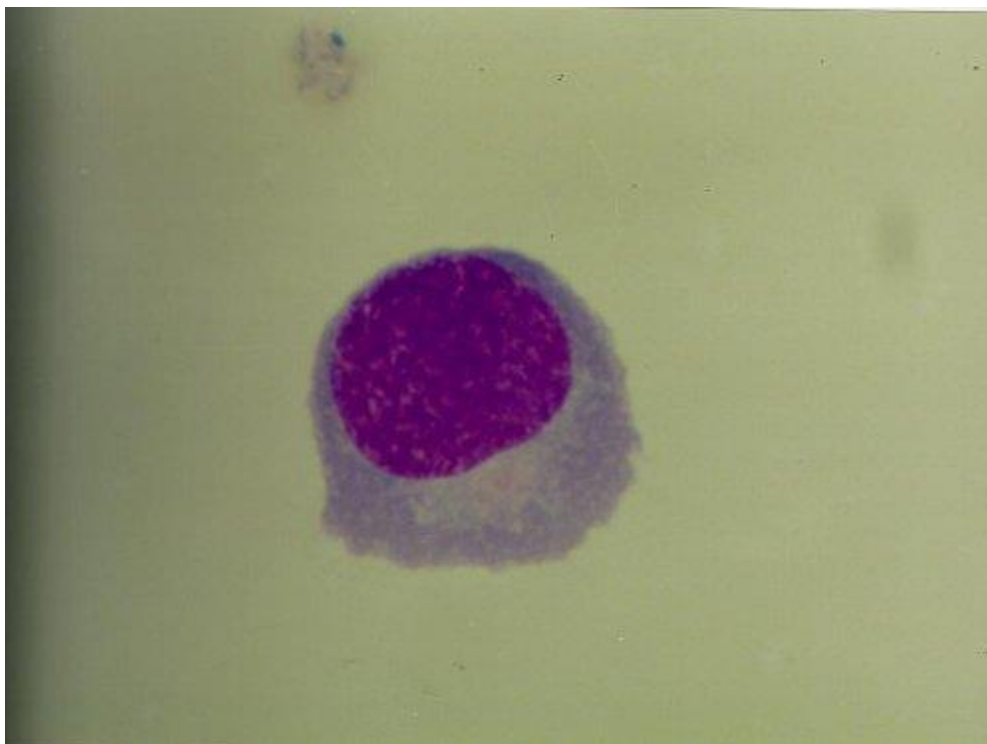
**e. Plazmatické buňky**

V normálním likvoru se nevyskytují. Vždy poukazují na zánětlivou reakci. Plazmatické buňky jsou posledním diferenačním stupněm vývoje B lymfocytů produkujícím protilátky. Mají excentricky uložené jádro s kondenzovaným chromatinem, perinukleárním projasněním a bazofilní cytoplazmu.

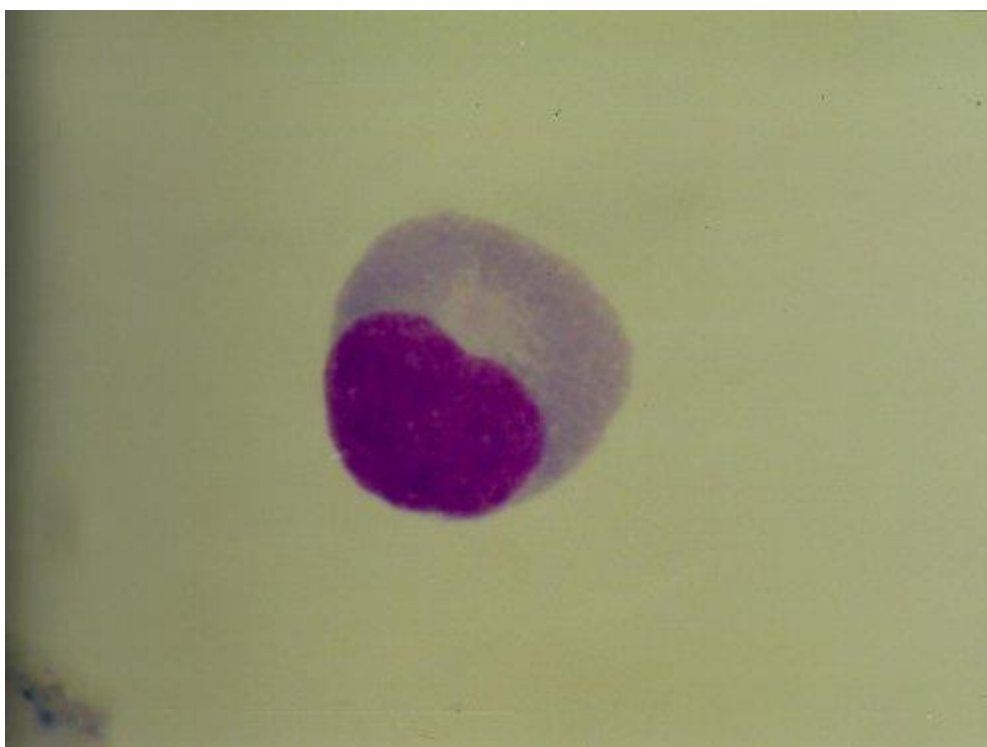
Obrázek 15: Neaktivované, aktivované lymfocyty, lymfoplasmocyty



Obrázek 16: Plasmocyt

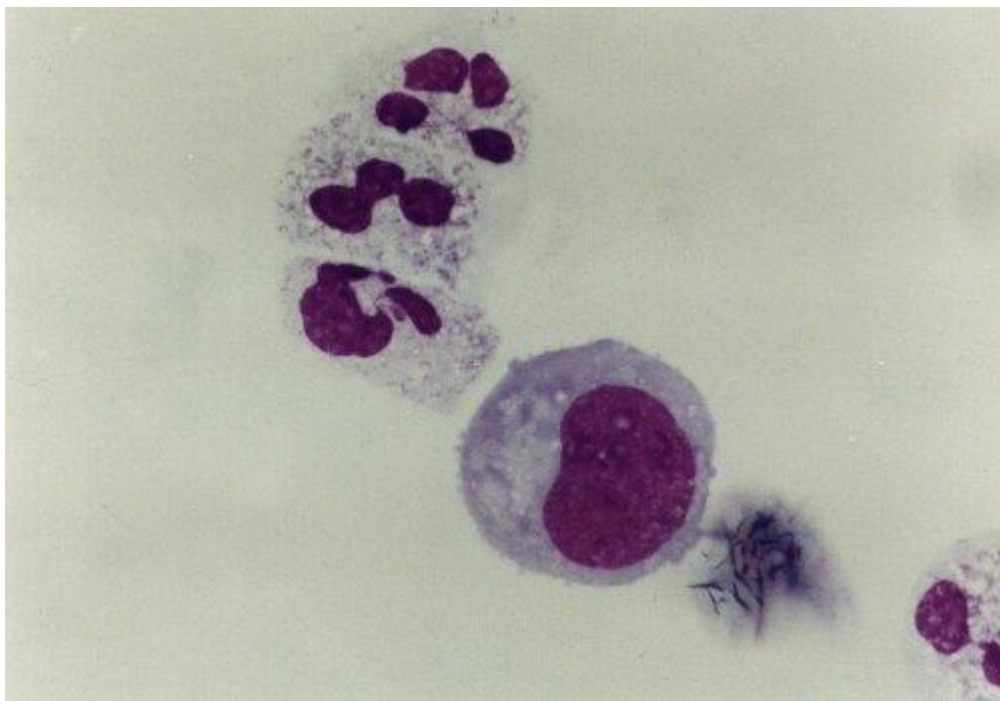


Obrázek 17: Plasmocyt

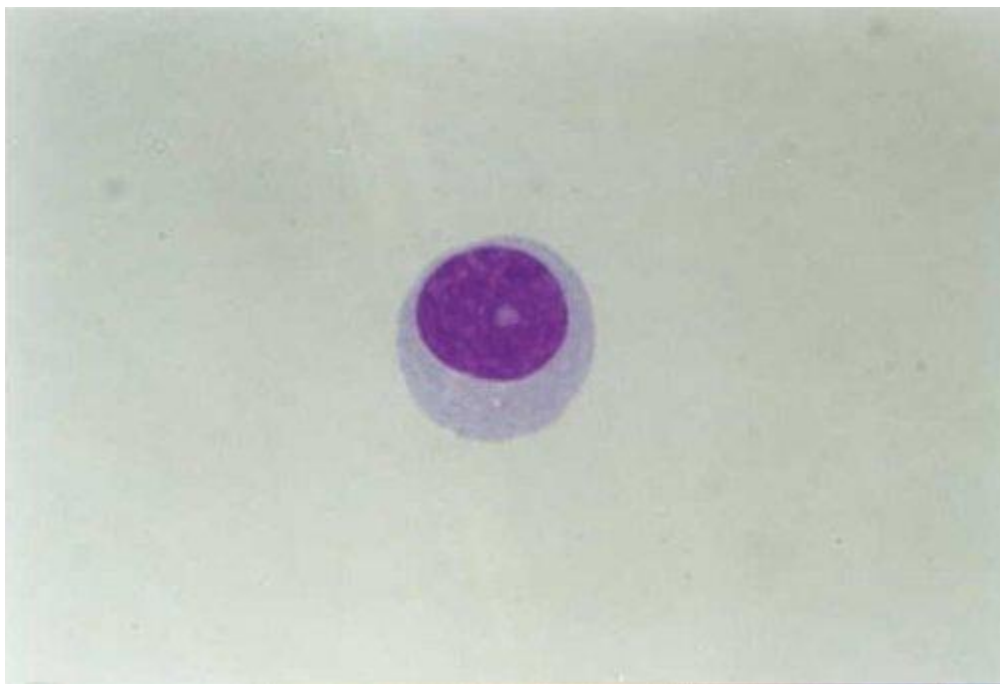




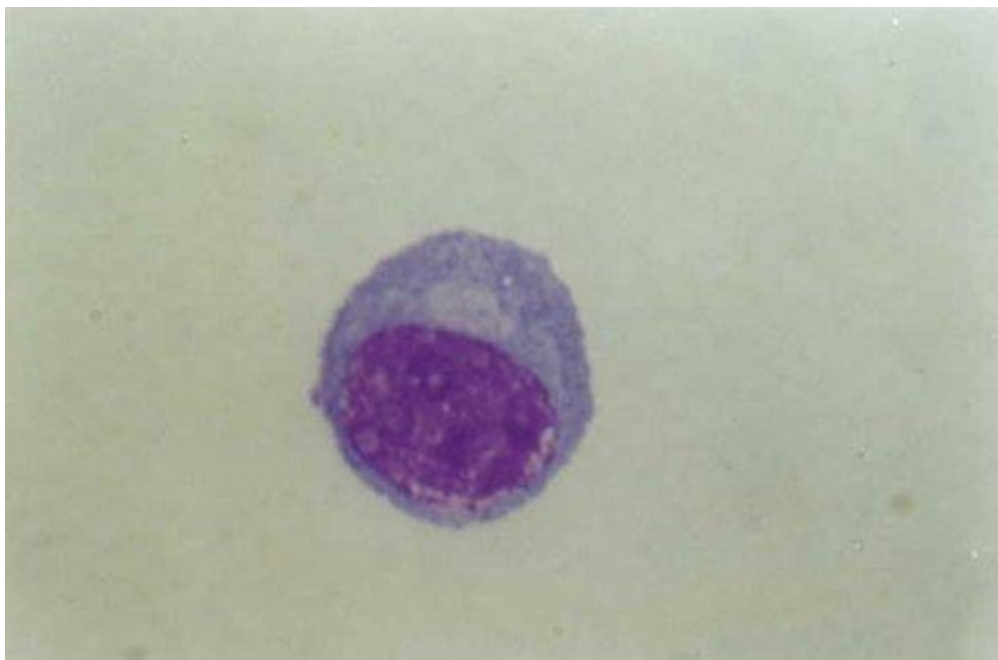
Obrázek 18: Plasmocyt, neutrofil



Obrázek 19: Aktivovaný lymfocyt s cytoplasmatickým projasněním



Obrázek 20: Lymfoplasmocyt

**f. Aktivované B lymfocyty**

Představují vývojový mezistupeň B lymfocytu a plazmocytu. Imunoglobuliny třídy IgG, IgA, IgM jsou prokazatelné imunocytochemicky intracytoplazmaticky a nejsou ještě sekretovány do likvoru. Pravidelně jsou přítomny s plazmocyty.

(1,2,5,10,12,13,16,61,76)

**14.3. Cytologický obraz v likvoru u nádorových onemocnění:**

Diagnostika nádorových buněk v likvoru patří k nejobtížnějším a je nutné při podezření na nádorové onemocnění provést další vyšetření - jako stanovení nádorových markerů, event. imunocytochemické vyšetření.

**a. Cytologická kritéria malignity:**

- polymorfie buněčných jader
- polychromazie
- zmnožení jadérek
- vícejadernost buněk
- zvýšený počet mitóz
- atypické mitózy
- posun v jaderně - plazmatickém poměru
- zvýšená variabilita cytopazmy s nehomogenními strukturami
- vakuolizace
- neostře ohraničení buněčných struktur

**b. Primární mozkové tumory**

Jejich buňky nalzáme v likvoru pouze sporadicky, častěji nacházíme buňky meduloblastomu, neuroblastomu, ependymomu a dysgerminomu. Občas mohou gliomy indukovat průvodní lymfo-monocytární zánětlivou reakci, někdy s přítomností aktivovaných B lymfocytů nebo plazmocytů.

**c. Sekundární mozkové tumory**

Nejčastěji metastazuje do CNS karcinom prsu, plic, ledvin, žaludku a maligní melanom. Při karcinomatóze mening je cytologie likvoru nejpřínosnější diagnostickou metodou.

**d. Lymfomy a leukémie**

Většina lymfomů vzniká z B lymfocytů. Primární lymfom mozku je vzácný. Sekundární lymfom se může vyskytnout ve formě solitární nebo difuzní.

(1,2,5,6,10,13,16,48,54,80,82)

## 15. SYNDROMOLOGICKÁ KLASIFIKACE LIKVOROVÝCH CYTOLOGICKÝCH NÁLEZŮ

### 15.1. Normální nález

- lymfocyty 50-80%, monocyty 20-50%
- v obou řadách převažují klidové formy /maximálně 10-20% aktivovaných forem/
- žádné lymfoplazmocyty, ani zralé plazmatické buňky
- žádné lipofágy
- žádné segmenty

### 15.2. Patologická oligocytóza

Normální počet buněk, patologická celulární skladba:

#### a. Lymfocytární oligocytóza:

- převaha lymfocytů + zvýšené relativní zastoupení jejich aktivovaných forem
- plazmocytární formy

Hodnocení: diskrétní serózně-zánětlivé změny, přítomnost plazmocytárních forem jsou typické pro chronické neuroinfekce a roztroušenou sklerózu.

#### b. Monocytární oligocytóza:

- převaha buněk monocytární řady
  - zvýšené relativní zastoupení aktivovaných forem této řady
  - popř. přítomnost specifického substrátu fagocytózy /lipofágy, erytrofágy, pigmentofágy/
-

Hodnocení: nespecifická abnormita, není-li přítomen specifický substrát fagocytózy, jde někdy spíše o variantu normálního nálezu. Tento nález je nejčastější cytologickou abnormitou u polyradikuloneuritidy Guillain-Barrého, častý u vertebrogenních onemocnění, u nezánettlivých onemocnění nervové soustavy. Nález lipofágů je podezřelý z destrukce nervové tkáně bohaté na lipidy, nález erytrofágů, resp. hematogenních pigmentů, prokazuje čerstvé, resp. starší krvácení do likvorových prostor.

**c. Smíšená mononukleární oligocytóza:**

- zároveň přítomná aktivace buněk lymfocytární i monocytární řady, aniž by známky aktivace v jedné z obou řad zřetelně převažovaly.

Hodnocení: přítomnost plazmocytárních forem vždy odráží zánětlivý proces v likvorovém kompartmentu, nejsou-li plazmocytární formy zachyceny, jde o nepříliš specifický nález, může jít o zánětlivé i nezánettlivé onemocnění nervového systému.

**d. Smíšená oligocytóza /mononukleáry + segmenty/:**

- významné zastoupení granulocytů /cca 20 – 50 %, nejčastěji neutrofilních/

Hodnocení: ne zcela typická „reakce akutní fáze“. Jde o výraznou patologii, která může signalizovat incipientní hnisavou i nehnisavou neuroinfekci nervového systému, přítomnost eozinofilů může značit alergickou reakci, ale také infekční komplikaci po invazivních neurochirurgických výkonech.

**e. Granulocytární oligocytóza:**

- zřetelná převaha granulocytů /nejčastěji neutrofilních/

Hodnocení: incipientní hnisavá či nehnisavá neuroinfekce, „reakce akutní fáze“, alergická reakce, infekční komplikace po neurochirurgických invazivních výkonech. Nejčastěji ale neuroinfekce.

---

**f. Tumorózní oligocytóza:**

přítomnost nádorových buněk v preparátu

**15.3. Pleocytóza**

Zvýšený počet elementů:

**a. Lymfocytární pleocytóza:**

počet elementů velmi různý /desítky až stovky/

převaha lymfocytů

zvýšené zastoupení jejich aktivovaných forem

zpravidla přítomny plazmocytární formy

Hodnocení: serózně-zánětlivé změny.

**b. Monocytární pleocytóza:**

počet elementů většinou jen mírně zvýšen

převaha monocytárních buněk

zvýšené zastoupení jejich aktivovaných forem

někdy přítomnost specifického substrátu fagocytózy

Hodnocení: etiologicky nespecifická „reaktivní“ abnormita – např. ischemie CNS, polyradikuloneuritida Guillana-Barrého, terminální fáze neuroinfekcí.

**c. Smíšená mononukleární pleocytóza:**

zmnožení buněk lymfocytární i monocytární řady nebo zvýšené zastoupení aktivovaných forem v obou řadách bez jednoznačné převahy jedné z nich

přítomny aktivované formy obou řad

---

přítomnost specifického substrátu fagocytóz

Hodnocení: serózně-zánětlivé změny, je-li však počet elementů jen hraničně zvýšen, jde o nepřiliš specifický nález, může jít o zánětlivé i nezánnětlivé onemocnění nervového systému.

**d. Smíšená pleocytóza /tj. mononukleáry + granulocyty/:**

počet elementů je velmi různý /hraniční až k tisícům/

signifikantní zastoupení granulocytů v preparátu /cca 10-50%/

přítomny známky aktivace v lymfocytární nebo monocytární řadě

Hodnocení: většinou zánětlivé onemocnění CNS, vyšší počet elementů /stovky/ bývá u počínajících neuroinfekcí, ale také v proliferativní fázi neuroinfekcí hnisavých. Je-li počet elementů jen hraničně zvýšen, může jít i o reaktivní abnormitu.

**e. Granulocytární pleocytóza:**

počet elementů výrazně zvýšen /až desetitisíce/

vzácněji jen mírně zvýšen počet elementů, prakticky vždy neutrofilly, výjimečně eozinofily

Hodnocení: charakteristický nález pro hnisavé neuroinfekce. Je-li pleocytóza jen mírného stupně, může jít o incipientní zánět nehnisavý, výjimečně reaktivní abnormitu. Přítomnost četnějších eozinofilů může znamenat alergickou reakci i neuroinfekci.

**f. Tumorózní pleocytóza:**

přítomnost nádorových buněk v preparátu

(1,12,14,15,71,70,2,5,13,76,81)

## 16. BETA 2 - MIKROGLOBULIN

Beta2-mikroglobulin byl poprvé izolován v r. 1968 Beggardem a Bearnem z moče pacientů s onemocněním proximálního tubulu. Poté byla studována jeho struktura, metabolismus a jeho význam v různých medicínských oborech.

Beta2-mikroglobulin je nízkomolekulární protein, vysoce stálý během evoluce, jehož syntéza je kontrolována z lokusů na 6. chromozómu. Má molekulovou hmotnost 11.800 Daltonů. Je tvořený 99 aminokyselinami, jejichž sekvence je známa. Má vnitřní disulfidickou vazbu a vytváří tím smyčku. /viz. obr.21/

Nápadná je podobnost jeho primární i sekundární struktury s konstantní doménou IgG, zvláště doménou CH3 /více než ¼ poloh je identická a také beta2-mikroglobulin zaujímá konformaci beta listu, typickou pro imunoglobulinovou strukturu/, což vede k předpokladu, že se oba, beta2-mikroglobulin i IgG, vyvinuly ze stejného ancestrálního genu.

Beta2-mikroglobulin tvoří lehký nevariabilní řetězec histokompatibilních antigenů /HLA I. třídy/, proti nimž je zaměřena imunologická intervence po transplantaci. HLA jsou s různou intenzitou syntetizovány všemi živými jadernými buňkami těla a jsou rozmístěny na jejich buněčném povrchu, nejhustěji na lymfocytech a makrofázích. Nenachází se na erytrocytech. Ve srovnání s lymfocyty je molekul HLA například 5x méně na jaterních buňkách, 200x méně na buňkách kosterních svalů a 1000 x méně na buňkách mozkových.

Beta2-mikroglobulin je k těžkému řetězci HLA nekovalentně vázán, následkem metabolismu a degradace HLA je od těžkých řetězců disociován, a poté se objevuje ve volné formě v extracelulární tekutině a ve všech tělních tekutinách – sérum, moč, ascites, pleurální tekutina, synoviální tekutina, sliny, likvor, zatímco těžký HLA řetězec je rychle degradován.



Tvorba beta2-mikroglobulinu a jeho uvolňování do těchto tekutin jsou u zdravých lidí konstantní a velmi nízké – 0,13 mg/hod/kg hmotnosti.

V séru se zvyšuje hladina beta2-mikroglobulinu u různých stavů – u nádorů /mnohočetný myelom, non – Hodginský lymfom, Hodgikova choroba, chronická lymfatická leukémie/, zánětů, imunologických onemocnění, selhávání ledvin – kdy dochází ke snížení katabolismu beta2-mikroglobulinu, neboť beta2-mikroglobulin je z 99% vylučován ledvinami. Komplexní vzorec korelace močového kreatininu, albuminu a beta 2-mikroglobulinu je sledován jako vysoce specifický mechanismus renální filtrace. Vyšetření v moči představuje menší zátěž / neinvazivní odběr na rozdíl od odběru krve, možnost opakovaných odběrů../vede k časně detekci, prognóze, a sledování odpovědi na léčbu.

(33,85,89,78,63)

Koncentrace beta2-mikroglobulinu v séru je ovlivňována velkým množstvím faktorů, a proto její stanovení nemá velký diagnostický význam.

Zvýšení hladiny beta2-mikroglobulinu v likvoru odpovídá lokální produkci a je připisováno především aktivaci imunitního systému, produkci anomálními buňkami a dále uvolňování při tkáňové destrukci.

(16,18,34,55,7,27)

Obrázek 16 – molekula beta2-mikroglobulinu

636

Schardijn and Statius van Eps



Molecular Stokes radius 16A  
Sedimentation coefficient  $S_{20,w} = 1.6$   
Estimated molecular weight: 11 800 dalton

Amino-acid residues: 100  
Carbohydrates: 0  
pI: 5.7

Fig. 1. Primary structure and physicochemical characteristics of  $\beta_2$ -microglobulin. From Phadedoc Diagnostic Communications 6: 4: 1979 (Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Sweden).

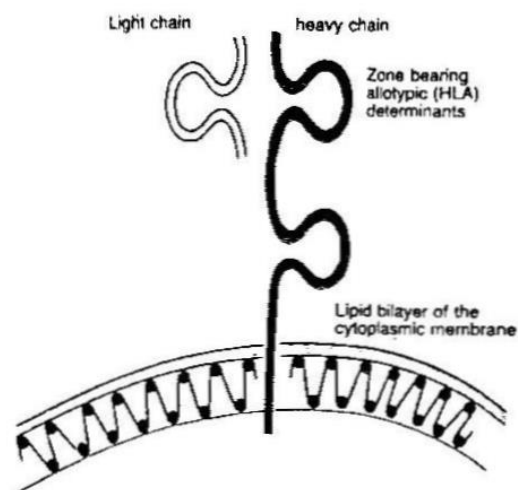


Fig. 2. A schematic representation of the HLA complex (class I) with the heavy chain (right side) penetrating the cytoplasmic membrane and the light chain being  $\beta_2$ -microglobulin attached non-covalently to the heavy chain. From Phadedoc Diagnostic Communications 6: 9: 1979 (Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Sweden).

### Indikace stanovení hladiny beta2-mikroglobulinu:

monitorování a sledování úspěšnosti léčby lymfomu, plasmocytomu, non - Hodginského lymfomu

stanovení glomerulární filtrace – především u dětí

diagnóza a monitoring u tubulo-intersticiálního poškození ledvin

podezření na dialýze – závislé amyloidóze

stanovení renálních funkcí po transplantaci ledvin a časná detekce onemocnění cytomegalovirem

zjištění nepřijetí transplantátu po transplantaci kostní dřeně

monitoring a progresse onemocnění u pacientů HIV pozitivních

(18,41,77,21,24,38)

Stanovení hladiny beta2-mikroglobulinu současně s hladinou ferritinu v mozkomíšním moku může být užíváno jako marker pro diferenciální diagnózu meningitid a stanovení odpovědi na léčbu.

Byla publikována studie 122 pacientů – rozdělených podle známé etiologie obtíží do tří skupin: bakteriální meningitidy, virové meningitidy a skupina nemeningitických postižení.

Hladina beta2-mikroglobulinu a ferritinu byla stanovena metodou latexové fotometrické imunoessaye /LPIA/.

Hlavní kritéria pro diagnózu meningitidy byla horečka, cefalea, zvracení a pleocytosa v mozkomíšním moku.

První skupina – bakteriální meningitida s etiologickým agens H. influenze a Streptococcus sk. B. Byla intravenózně podávána antibiotika.

Ve druhé skupině virových meningitid bylo etiologické agens – virus zarděnek, spalniček, echo virus, herpes zoster, enterovirus – stanovení bylo potvrzeno serologickým vyšetřením.

Třetí skupina byli pacienti s normálním mozkomíšním mokem. Byly zde pacienti s nejrůznějšími onemocněními – jako např. epilepsie, leukemie ve fázi remise, febrilní křeče, pneumonie, infekce močových cest, ...

Studie ukázala, že hladina výše jmenovaných proteinů ve skupině nemeningitických postižení závisí na věku. Vzorky od pacientů starších 5 měsíců vykazovaly vyšší hladinu proteinů než u pacientů mladších než 6 měsíců. Hladina beta2-mikroglobulinu byla výrazně zvýšena u pacientů s virovou meningitidou než u pacientů s nemeningitickým postižením CNS. Hladina ferritinu byla vyšší u pacientů s bakteriální meningitidou než u pacientů s virovou meningitidou a závisela na odpovědi na antibiotickou léčbu. Tyto výsledky jsou signifikantní pro pacienty starší než šest měsíců.

Ferritin a beta2-mikroglobulin mohou být užívány jako diagnostická kritéria v akutní fázi meningitid a určování odpovědi na léčbu antibiotiky.

Studie ukázala, že je indikováno rychlé stanovení beta2-mikroglobulinu a ferritinu

---

v mozkomíšním moku jako diagnostické kritérium pro akutní fázi meningitidy a stanovení odpovědi léčby meningitidy. Koncentrace beta2-mikroglobulinu a ferritinu je závislá na věku – v závislosti na propustnosti hematoencefalické bariéry. A hladina beta2-mikroglobulinu a ferritinu koreluje s hladinou celkové bílkoviny.

Koncentrace beta2-mikroglobulinu a ferritinu byla signifikantně zvýšena u pacientů s virovou meningitidou. Koncentrace ferritinu byla signifikantně zvýšena u pacientů s bakteriální meningitidou než u virových meningitid.

(41,84,85,86)

Nízkomolekulární proteiny / interleukin-6,tumor nekrotizující faktor alfa,beta 2-mikroglobulin/ mají opodstatnění při sledování glomerulární filtrace, při studování vztahů normální funkce ledvin / 18 ti měsíční srovnávací studie zdravých a pacientů s chronickou renální insuficiencí/.

(63,33)

U novorozenců se symptomatickou infekcí cytomegalovirem je vysoká hladina beta2-mikroglobulinu v mozkomíšním moku a koreluje s neurologickými nálezy na zobrazovacích vyšetřeních /CT, MRI, SONO/.

Byla vyšetřována skupina 23 novorozenců se symptomatickou vrozenou infekcí CMV. Klinické postižení bylo mikrocefalie, hepatosplenomegalie, ikterus. Provedena lumbální punkce, kraniální sonografie, CT, MRI.

SONO ukázalo periventrikulární kalcifikace, dilatace mozkových komor, periventrikulární cysty.

CT vyšetření – periventrikulární kalcifikace, subkortikální, kortikální, cerebelární kalcifikace. Rozšíření mozkových komor.

MRI – periventrikulární kalcifikace, postižení nucleus caudatus, pachygyrie, polymikrogyrie.

Nálezy v likvoru – pleocytosa, zvýšená hladina celkové bílkoviny, přítomnost erytrocytů, signifikantní zvýšení beta2-mikroglobulinu proti kontrolní skupině.

---

Nebyla nalezena korelace mezi výsledkem vyšetření zobrazovacími metodami a hladinou proteinů v likvoru, ale výrazná pozitivní korelace mezi hladinou beta2-mikroglobulinu a pozitivním nálezem zobrazovacími metodami. Podle této studie se zdá, že vysoké hodnoty beta2-mikroglobulinu nejsou závislé na poruše hematolikvorové bariéry, data naopak odpovídají intrathekální produkci beta2-mikroglobulinu. Hlavní podíl na zvýšení beta2-mikroglobulinu má zřejmě gliální proliferace. Beta2-mikroglobulin je přítomen na povrchu gliálních buněk, které ho in vitro produkují.

(21,22,26,39,83,85)

Antibakteriální protein izolovaný z lidské plodové vody byl shledán totožným a beta2-mikroglobulinem. Studie prokázala, že je vytvářen amniotickými buňkami, které jsou vystaveny patogenům.

Antibakteriální aktivita byla proti *L. monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Streptococcus aureus*, *Staphylococcus epidermididis*. Zvýšení hladiny beta2 –mikroglobulinu bylo zjištěno v plodové vodě, u dospělých a ve fetálním seru při vystavení těmto patogenům / plodová voda byla odebírána těhotným ženám ve třetím trimestru gravidity

(50,21,22)

Velký zájem představuje studium markerů v mozkomíšním moku při HIV–1 pozitivní infekci v asymptomatickém stadiu. Nejdříve je nalezen HIV–1 v mozku /v raných stadiích/, později se stává CNS terčem virů, a konečně vede HIV–1 infekce k AIDS demenci. Jedná se o devastující neurologickou komplikaci, která vede k poruše kognice, chování a motoriky během týdnů až měsíců. V retrospektivní studii bylo demonstrováno, že prevencí demence je podávání zidovudinu.

V této studii byly sledovány změny v mozkomíšním moku před podáním a po podávání léku. Všichni pacienti byli neurologicky asymptomatictí. Byly sledovány změny během léčby – v hladině beta2-mikroglobulinu monocytárního chemotaktického proteinu /MCP–1/ a rozpustného tumor nekrotizujícího faktoru alfa /sTNRFs/.

---

Odběry byly provedeny před léčbou, během léčby a po skončení. Podáváno bylo 3x 200 mg zidovudinu, 2x denně 150 mg lamivudinu nebo 2x denně 40 mg stavudinu a 2x denně 150 mg lamivudinu.

Hladiny beta2-mikroglobulinu v séru a likvoru výrazně klesly po 12 týdnech léčby.

Hladina beta2-mikroglobulinu korelovala s HIV-1 RNA pozitivitou a mezi hladinou beta2-mikroglobulinu a počtem buněk v likvoru, rovněž byla nalezena korelace mezi hladinou beta2-mikroglobulinu v likvoru a v séru při vstupním vyšetření, ne již v kontrolním vyšetření po 12 týdnech léčby.

Hladina MCP-1 v séru a v likvoru byla rozdílná u kontrolní skupiny, ale v průběhu léčby se výrazněji neměnila.

Koncentrace sTNRFs byla zvýšena před léčbou proti kontrolní skupině, ale hladina se nezměnila po léčbě.

V této studii tedy u neurologicky asymptomatických nemocných HIV-1 pacientů hladiny beta2-mikroglobulinu v likvoru byly výrazně zvýšené proti kontrolní skupině. V prospektivní studii pacientů se zvýšenou hladinou beta2-mikroglobulinu v likvoru bylo vyšší riziko rozvoje AIDS demence. Pokles koncentrace beta2-mikroglobulinu byl po léčbě zidovudinem nebo lamivudinem.

(23,24,40)

Další studie dokazuje význam podávání antiretrovirálních léků, inhibitorů reverzní transkriptázy.

HIV-1 se nachází v likvoru ve většině HIV pozitivních pacientů ve všech stadiích onemocnění, včetně primární infekce. Odráží aktivitu, postup infekce a intrethekální buněčně navozenou odpověď zvýšením hladiny koncentrací neopterinu a beta2-mikroglobulinu. V době, kdy se objeví porušení hematolikorové bariéry, nastává již kritický bod v rozvoji ADC /AIDS dementia complex/.

(32)

---

Studie hodnotí 8 pacientů /1 s neurologickými komplikacemi, 7 neurologicky bezpříznakových/ léčených nelfinavirem, saquinavirem a dále kombinací zidovudinem a lamivudinem, zidovudinem a didanosinem. V opakovaných lumbálních punkcích byly stanoveny hladiny beta2-mikroglobulinu a neopterinu. Tyto hladiny klesly v likvoru i v plazmě během léčby a po léčbě.

Velmi významná studie, která se zabývá ADC a jeho léčbou, proběhla v r. 2007 za účasti 13 klinik v Austrálii, Kanadě a Velké Británii.

ADC /AIDS dementia complex/ byl poprvé sledován již v počátcích vzniku HIV epidemie. Pacienti s tímto postižením trpí demencí, poruchami chování, poruchami chůze a rovnováhy. Nyní se objevuje méně v lokalitách, kde se pacienti podrobují léčbě vysoce aktivní retrovirální terapií /kombinací léků, které postihují virus v různých etapách jeho životního cyklu/. Dosud není přesně určena nejlepší kombinace léčby. Po nějakou dobu ještě potvrá její stanovení, včetně kombinace procházející přes hematoencefalickou bariéru.

ADC je postižení, které se objevuje asi u 20% pacientů před užíváním retrovirální léčby.

(31,36,37)

Zidovudin snížil tento výskyt na méně než polovinu. Nejlepším ukazatelem léčby zidovudinem, stavudinem, lamivudinem, idinavirem je stanovení hladiny beta2-mikroglobulinu a quinolinové kyseliny v likvoru.

Antiretrovirální léčba, která je úspěšná při léčbě ADC, musí splňovat požadavky antivirální aktivity, schopnosti procházet do mozku v odpovídajících koncentracích, aktivovat mikrogliaální a makrogliaální systém. Ve studii byla podávána v několika skupinách pacientům po dobu 12 týdnů různá kombinace výše uvedených léků. Sledován byl likvor a hladiny beta2-mikroglobulinu a kyseliny quinolinové, jejich hladina poklesla proti skupině HIV pozitivních neléčených pacientů.

Beta2-mikroglobulin se jeví jako důležitý ukazatel odrážející změny v mozku při postižení HIV infekcí a zároveň odrážející úspěšnost léčby.

(24,87,44,75)

---

Neuronální poškození, ztráta dendritů a mozková atrofie jsou komplikacemi HIV infekce. Aktivované mozkové makrofágy a mikroglie mohou uvolňovat quinolinovou kyselinu, neurotoxin a NMDA /N-methyl-D-aspartát/ agonistický receptor. Byla zjištěna nezávislost mezi zmenšeným objemem striata a limbického systému a kyseliny quinolinové a beta2-mikroglobulinu. Hladina beta2-mikroglobulinu a quinolinové kyseliny nezávisí na ztrátách objemu – v jakékoli oblasti.

(55,75)

Beta2-mikroglobulin je markerem mikrogliaální aktivity a nespojuje se s glutamátovými receptory, jejichž hladina je závislá na excitotoxicitě a objemových ztrátách.

(45,46,55,78)

Beta2-mikroglobulin spolu s neopterinem, receptorem pro interleukin-2 jsou důležitými markery pro stanovení buněčné imunitní odpovědi po mozkových traumatických lézích. Mechanické poškození mozku, stejně jako zánět, aktivují cytokiny.

Neopterin je produkován makrofágy po stimulaci a aktivaci gama-interferonem. Jeho zvýšená hladina svědčí o aktivaci makrofágů, nachází se v plazmě postižených pacientů.

Beta2-mikroglobulin je součástí MHC-I komplexu. Zvýšená hladina odráží aktivaci buněčného imunitního systému.



IL–2 receptory na T-lymfocytech a monocytech/makrofázích je několik glykoproteinů, zvyšujících se u pacientů s autoimunitním postižením, hematologickým postižením, během transplantací. U pacientů s izolovaným traumatickým poškozením mozku byla sledována hladina výše uvedených markerů.

Sledování probíhalo po dobu 21 dní současně v séru a likvoru.

Byla patrná rozličná kinetika neopterinu a beta2-mikroglobulinu. Neopterin i beta2-mikroglobulin stoupaly během prvního a druhého týdne, ale hladina beta2-mikroglobulinu se zvyšovala spíše v séru. Její zvýšení v likvoru na rozdíl od neopterinu nebyly tak patrné.

IL–2 receptory stoupaly v séru i likvoru.

Beta2-mikroglobulin, jako poněkud nespecifický protein, nepodává tak důležitou informaci o průběhu onemocnění po úrazech mozkových jako neopterin či receptor IL–2.

(32,34,36,37,38,43,55,60,67,70,71,77,81,87)

Další výzkumy přicházejí u pacientů se sarkoidozou. Sarkoidoza je multisystémové onemocnění, nejčastěji postihující plíce, oči a kůži. Postižení páteře je vzácnější, proto je méně známá jeho diagnóza a léčba. Nejčastější výskyt onemocnění je ve věkové skupině kolem 40 roků, asi 17% postižených jeví i příznaky postižení CNS. Provedená autopsie zjišťuje subklinické postižení CNS v 50% případů. Poškození páteře se objevuje nejčastěji po plicních příznacích. Klinicky se projevuje paraparesou, kvadruparesou, autonomní dysreflexií, radikulárními příznaky, kaudálními příznaky. Diagnóza se stanoví MRI vyšetřením, ale hlavně analýzou mozkomíšního moku. Nálezem je lymfocytární pleiocytoza, elevace hladiny celkové bílkoviny, v 75% případů je zvýšené hladiny beta2-mikroglobulinu. Hladiny ale nekorelují s hladinou v séru.

(74,79,25,51)

Diagnóza většiny degenerativních onemocnění CNS, jako Alzheimerova demence, Parkinsonova choroba, demence s Lewyho tělísky, se opírá o klinická kritéria a laboratorní vyšetření, která jsou značně limitovaná.

Výzkum ve stanovení, vyšetřování specifických proteinů, metabolitů apod. je tedy velmi důležitým úkolem.

Zejména stanovení diagnózy těchto onemocnění v počátečních stádiích je velmi složité, ale důležité.

Hladina markerů se stanovuje v séru a v likvoru. Zvláště některé proteiny, jako např. alfa 1–antitrypsin, beta2-mikroglobulin, jsou důležité při vyšetřeních např. u Alzheimerovy demence.

Zde bývá vyšetřován apolipoprotein A1, E, J, beta–trace protein kininogen.

(19,56,60,70,69,89)

Hladiny beta2-mikroglobulinu, apolipoproteinu E, apolipoproteinu J, prekursoru transferitinu, proapolipoproteinu, alfa1-antitrypsinu byly zvýšeny u pacientů s meningeomem proti pacientům s nádorem mimo CNS lokalitu.

(48)

## 17. CÍL PRÁCE

Vyšetřování beta2-mikroglobulinu v séru a likvoru v poslední době patří k základnímu vyšetření.

Přesto v podvědomí lékařské veřejnosti není odůvodnění tohoto vyšetření. Mnoho lékařů neví, proč toto vyšetření indikovat, co je vlastně beta2-mikroglobulin, k čemu slouží a podobně.

Současně panuje mezi lékaři velký rozpor. Část se domnívá, že výtěžnost vyšetření hladiny beta2-mikroglobulinu není téměř žádná, že se jedná o nespecifický protein a pouze konstatujeme – hladina vyšší či nižší. Druhá skupina je přesvědčena o důležitosti tohoto proteinu a hlavně o výtěžnosti jeho vyšetření pro diagnózu a sledování adekvátní léčby u pacienta.

Cílem této práce je podpořit druhou skupinu – ozřejmit, ať už teoreticky /v předchozí části práce důležitost tohoto proteinu, dokumentovanou z nejrůznějších publikací/, tak i prakticky /na rozsáhlém souboru pacientů/ důležitost beta2-mikroglobulinu, výtěžnost pro stanovení diagnózy, adekvátní léčby, ...

## 18. PRACOVNÍ HYPOTÉZY

### **Hypotéza A:**

Je hodnota hladiny beta2-mikroglobulinu závislá na určitém onemocnění, určité nosologické jednotce tak, že je pro určité onemocnění specifická a umožňuje případně i stanovení diagnózy?

### **Hypotéza B:**

Je u určitých skupin onemocnění zřetelně či statisticky významně vyšší hladina tohoto proteinu než u jiných skupin?

### **Hypotéza C:**

Je závislá hladina beta2-mikroglobulinu na pohlaví, a to statisticky významně ?

### **Hypotéza D:**

Je závislost mezi hladinou tohoto proteinu a věkovou hranicí? Souvisí tedy jeho hladina s propustností hematoencefalické bariéry a tím s vyzrálostí CNS a s vyzrálostí bariérového systému CNS?

### **Hypotéza E:**

Chová se beta 2-mirkoglobulin svébytně a specificky jako je tomu u jiných likvorových proteinů, jak to již bylo u těchto proteinů doloženo v literárních údajích ,a zda-li tyto změny jsou-li specifické , jsou i statisticky významné?

**Zatím prokázaný přínos vyšetřování beta2-mikroglobulinu:**

- poměrně jednoduchá metoda nepříliš finančně náročná
- rychlá orientace pro základní hodnocení /serozní onemocnění CNS, TU, bakteriální meningitidy, degenerativní onemocnění/
- dostupnost tohoto vyšetření v laboratořích
- opakovaným vyšetřením sledování úspěšnosti léčby
- jasná výpovědní hodnota bez složitého přepočítávání či dalšího statistického zpracování /bez nutnosti užívání speciálních programů/
- velký přínos pro výzkumné účely – zavádění nových léků – zejména u HIV pozitivních pacientů – sledování účinnosti léčby porovnávací studie
- spolu s dalšími proteiny /ferritin/ přínos pro diagnostiku degenerativních onemocnění

## **19. SOUBOR PACIENTŮ A METODIKA, PREANALYTICKÉ A ANALYTICKÉ VYŠETŘOVACÍ METODY**

V biochemické laboratoři Na Homolce bylo v období od r. 1999 do r. 2006 vyšetřeno 26 378 vzorků likvoru od pacientů z pracovišť v prakticky celé ČR odesílajících materiál k vyšetření na toto pracoviště

Jednalo se o nejrůznější pracovní diagnózy: meningitidy – bakteriální, virové, demyelinizační onemocnění, tumory, závratě, polyneuropatie, polyradikuloneuritidy. Jako kontrolní skupinu je možno považovat pacienty s diagnózou vertebrogenního onemocnění, u kterých byly fyziologické nálezy, což nemusí být pravidlem.

Při těchto výzkumech je velmi obtížné stanovit skupinu „zdravých“ pacientů. U zdravého člověka neprovádíme odběr mozkomíšního moku vzhledem k náročnosti tohoto vyšetření. Za skupinu fyziologických nálezů tedy považujeme skupinu pacientů, u kterých bylo provedeno vyšetření při podezření na nějaké onemocnění – to se nepotvrdilo, nález v moku byl ve fyziologickém rozmezí, či u pacientů, u kterých bylo prováděno perimyleografické vyšetření a likvor byl odeslán k vyšetření do laboratoře. Při tomto vyšetření ale musí být nález fyziologický. U některých nemocných je zvýšená hladina celkové bílkoviny, event. patologický cytologický nález – tyto vzorky už nemohou sloužit jako „normály“, ale jsou součástí podskupiny ostatní nosologické jednotky.

**Charakteristika souboru:**

Sledované období: 1999- 2006

Počet vzorků: 26 378

Věk: 3 roky – 86 let

Lokalita: ČR

Materiál: mozkomíšní mok

**a. Stanovení diagnózy:**

Pracovní diagnóza – na žádance na základě klinických příznaků a pomocných vyšetření od doporučujícího lékaře.

**b. Potvrzení diagnózy:**

Na základě vyšetření mozkomíšního moku, imunoelktroforeza – demyelinizační onemocnění, stanovení protilátek – lymeská borelioza, morfologické vyšetření – tumory.

**c. Metodika- preanalytické a analytické vyšetření likvoru**

Mozkomíšní mok – likvor cerebrospinalní- je čirá kapalina, patří mezi transcelulární tekutiny.

Za fyziologických podmínek je bezbarvý.

Obsahuje velmi malé množství buněk, je izotonický, má nízký obsah proteinů / 2-3 řády nižší koncentrace proteinů než v seru/.

---

Funkce mozkomíšního moku:

- Mechanická ochrana mozku a míchy
- Drenážní funkce CNS / podobně jako lymfatický systém v tělesných tkáních/
- Resorpce výživy, hormonů, neurotransmiterů
- Homeostatická funkce / regulace tlaku, objemu, osmolality, pH/ zajišťující optimální prostředí pro buňky CNS

Konstantní transport látek mezi krví , mozkomíšním mokem a mozkovými buňkami je zajišťován hematoencefalickou bariérou.

Transport látek skrz tuto bariéru závisí na koncentračním gradientu, molekulární hmotnosti , elektrickém náboji, liposolubilitě, přítomnosti specifických transmiterů.

Za fyziologických podmínek je likvor bezbarvý. Může být zakalený , pokud obsahuje velké množství buněk, růžový nebo červený přítomností červených krvinek.

Pokud je přítomnost erytrocytů delší než 4 hodiny, mok se stává xantochromním. Je to způsobeno přítomností barviva z hemoglobinu vznikajícího z erytrocytů.

Polovina likvoru vzniká v plexus chorioideus, polovina je filtrována z krevní plazmy.

Mozkomíšní mok je odebírán lumbální punkcí , prováděnou atraumatickou jehlou, do sterilních zkumavek opatřených sterilní zátkou.

Vpich je prováděn v meziobratlovém prostoru ve výši L3-L5. Je vhodné na žádanku uvést lokalizaci – podle místa vpichu bývá různá koncentrace proteinů.

Likvor je odbebírán minimálně do 3 zkumavek, lépe do 5, současně se odebírá krev.

Do laboratoře jsou zasílány všechny zkumavky, je vhodné označit pořadí odběru.

---



Velmi často bývají vzorky kontaminovány při odběru krví.

Po odběru jsou centrifugovány , aby došlo k oddělení supernatantu.

Dále je prováděno základní vyšetření likvoru cytologické, biochemické, mikrobiologické.

Cytologické vyšetření bývá prováděno v komůrce podle Fuchse – Rosenthala. Počet elementů bývá uváděn ve zlomku děleném třemi – např 9/3.. je to dáno celkovým objemem komůrky , který je 3,2 krychlového milimetru .

Za fyziologický je považován počet elementů do 10/3.

Hodnocení počtu elementů u oligocelulárních vzorků likvorů je vždy nutně zatíženo chybou malých čísel.

Zásadně by mělo být prováděno zvlášť počítání jaderných elementů – mononukleárů a polynukleárů v barveném nativním preparátu , zvlášť počítání erytrocytů v preparátu nebarveném.

Vždy považujeme za nutné, aby při každém vyšetření likvoru bylo provedeno i zhotovení trvalého cytologického preparátu.

Ke zhotovení cytologických preparátů z likvoru se používá metodik centrifugačních, cytosedimentačních, metody separace elementů přes membránový filtr.

Vzorky s vyšší příměsí krve nejsou vhodné pro proteinové / proteomické analýzy/.

Pro některá vyšetření / beta – amyloid, tau –protein/, je nutné zohlednit i typ zkumavky – může docházet k adsorpci na stěnu zkumavek.

Po odběru je důležitý urychlený transport a včasné zpracování v laboratoři, aby nedošlo k rozpadu buněk a zreslení výsledků.

Po centrifugaci je provedeno zpracování – příprava fixního preparátu pro vyhodnocení

---

kvantitativní cytologie , dále základní biochemické vyšetření – glukosa, laktát, celková bílkovina, albumin, IgA, IgG, IgM, CRP , spektrofotometrie.

Pro interpretaci výsledků včasných vyšetření – celkové bílkoviny, albuminu, IgA, IgG , IgM a CRP mají větší význam poměry v likvoru a v séru, než vlastní konkrétní koncentrace.

Současně je nutné při interpretaci zohlednit chronická onemocnění pacienta/ je nutno proto uvádět, zda je pacient diabetik, léčí se pro renální selhání apod.. /

Proteomické analýzy prováděné metodou MALDI – při vysokých koncentracích krevních bílkovin dávají falešně pozitivní výsledky, proto vzorky s počtem erytrocytů nad 500 by neměly k této metoě být použity.

Při stanovení koncentrace proteinů je možno užít vzorky i po zmrazení, proteiny v moku jsou pravděpodobně stabilnější než v séru, ale přesto může dojít k poklesu koncentrací proteinů v důsledku ztráty konfirmačního epitopu.

Na koncentraci proteinů má vliv rovněž podávání některých léků .

Vzorky jsou uchovávány při běžné laboratorní teplotě 4 C, zamrazovány při teplotách – 20 C, až -80 C.

Rozmrazování hlubokozamražených vzorků by mělo probíhat na ledu, ne při vyšších teplotách

Základním biochemickým parametrem je stanovení celkové bílkoviny. Hladina celkové bílkoviny závisí na věku, na dalších onemocněních pacienta.. Dává nám odpověď

---

na funkčnost hematoencefalické bariéry. Závisí na vzestupu jednotlivých sekvencí celkové bílkoviny / albumin.. / a intrathekální synthesy imunoglobulinů IgG../.

Za normální lze považovat u dospělého člověka hladinu mezi 0,20 až 0,45 g/l, přičemž u novorozenců lze považovat za normální až hodnotu 0,90 g/l a u lidí nad 60 let věku až do 60,0g/l.

Zvýšení hladiny celkové bílkoviny je patologickým jevem a je obecně součástí likvorových syndromů proteinocytologické asociace / při současném zmnožení buněk / nebo proteinocytologické disociace / při normálním počtu elementů/.

K posouzení funkce hematolikvorové bariéry je velmi důležité stanovení hladiny albuminu a imunoglobulinů. Hematolikvorová bariéra vždy propouští určité množství proteinových frakcí, což odpovídá především jejich výchozí koncentraci v séru. Hladiny jednotlivých imunoglobulinů v likvoru mohou být zvýšeny i přítomností jejich intrathekální syntezy v CNS.

Pro výpočet stavu hematolikvorové bariéry a intrathekální syntezy imunoglobulinů je v klinické praxi používáno nejvíce znázornění dle Reibera.

Hladina glukosy v likvoru odráží hladinu sérovou . Za normálních okolností dosahuje asi 2/3 hladiny v séru.. / proto výše zmíněné porovnání sérových a likvorových hladin/, u diabetiků bývá hladina glukosy v likvoru podstatně vyšší.

Výrazně nízké hladiny glykorhachie jsou u hnisavých meningitid.

Hladina laktátu v likvoru není ovlivněná plasmatickou koncentrací laktátu. Laktát je produkován malým počtem buněk CNS při anaerobní glykolýze.

CRP – hladina může být velkým pomocníkem při diferenciální diagnostice serózní a bakteriální meningitidy.

---

K základnímu vyšetření dále patří stanovení hladiny imunoglobulinů IgA, IgG, IgM v séru i v likvoru metodou izoelektrické fokusace, která dělí bílkoviny mozkomíšního moku a séra v gradientu pH podle jejich izoelektrických bodů. Proteinové frakce nejsou tedy děleny podle migrace v elektrickém poli v průběhu času, ale podle izoelektrických bodů, jednotlivým frakcím příslušejících. Při přítomnosti intrathekální syntézy imunoglobulinů lze pak pozorovat tzv. oligoklonální proužky, které nemají sérový korelát při vyšetření séra pacienta metodou izoelektrické fokusace.

Stanovení oligoklonálního IgG izoelektrickou fokusací s následným imunoenzymatickým barvením představuje nejčastěji užívanou komplementární metodu.

Analýza jednotlivých pásů a jejich vzorce jsou důležitou metodou u onemocnění typu RSM, zánětlivých onemocnění, paraneoplastických onemocnění..

Hladina IgM odráží onemocnění autoimunní, RSM, infekční, demence apod.

Spektrofotometrické vyšetření nás informuje o přítomnosti hematogenních pigmentů v likvoru, jeho největší význam je u hemorhagických příhod. / subarachnoidální krvácení, mozkové hematomy, prokrváčené tumory.. /

I u zánětlivých afekcí nervového systému lze pozorovat změny ve spektrofotometrickém nálezu, které souvisejí s často přítomnou hemorhagickou složkou zánětu.

Spektrofotometrické vyšetření se provádí ve spektru viditelného světla. V likvoru lze rozlišit tři hematogenní pigmenty: oxyhemoglobin, bilirubin a methemoglobin.

Oxyhemoglobin proniká do likvoru z rozpadajících se erytrocytů.

Bilirubin vzniká v buňkách působením enzymu hemoxygenázy na oxyhemoglobin.

Methemoglobin vzniká z hemoglobinu oxidací dvojmocného železa na železo trojmocné.

---

Vzorky likvorů a sér byly vyšetřeny v biochemické laboratoři nemocnice Na Homolce stejnými metodami, lze je proto bez obav srovnávat.

Vždy byl požadován informovaný souhlas pacienta.

Hladina beta2-mikroglobulinu byla vyšetřována metodou imuno-turbidimetrie, tj. sledování nárůstu zákalu při vazbě protilátky na beta2-mikroglobulin. Sledování na analyzátoru SYNCHRON LX 20 firmy Beckman. Chemikálie – od firmy BIO – VENDOR ČR.

#### **d. Statistika:**

Statistické zpracování daného souboru spočívalo ve vypočítání průměrných hodnot /součtu jednotlivých hodnot dělených počtem vzorků/ a ve vypočítání směrodatné odchylky.

Směrodatná odchylka, značená řeckým písmenem  $\sigma$ , se obvykle definuje jako odmocnina z rozptylu náhodné veličiny X, tzn.

$$\sigma = \sqrt{D(X)} = \sqrt{\text{var}(X)},$$

kde  $D(X)$  označuje rozptyl náhodné veličiny X. Směrodatnou odchylku lze vypočítat pomocí střední hodnoty  $E(X)$  a případně i  $E(X^2)$ .

$$\sigma = \sqrt{E((X - E(X))^2)} = \sqrt{E(X^2) - (E(X))^2}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} = \sqrt{\left(\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i^2\right) - \bar{x}^2}$$

Směrodatná odchylka vyjadřuje, jak se hodnoty liší od průměrné hodnoty (střední hodnoty). Zhruba řečeno vypovídá o tom, jak moc se od sebe navzájem liší typické případy v souboru zkoumaných čísel. Je-li malá, jsou si prvky souboru většinou navzájem podobné, a naopak

---

velká směrodatná odchylka signalizuje velké vzájemné odlišnosti.

Pomocí pravidel  $1\sigma$  a  $2\sigma$  (viz níže) lze přibližně určit, jak daleko jsou čísla v souboru vzdálená od průměru, resp. hodnoty náhodné veličiny vzdálené od střední hodnoty. Směrodatná odchylka je nejužívanější míra variability.

### **Pravidlo $1\sigma$ a $2\sigma$**

Jedná se o empirické pravidlo, jehož platnost závisí na konkrétním případě, proto je formulováno obecně. Lze je však velmi dobře použít pro základní orientaci v rozložení hodnot souboru nebo náhodné veličiny.

V případě směrodatné odchylky, jde-li o náhodnou veličinu, pak pravděpodobnost, že se hodnota náhodné veličiny bude od střední hodnoty lišit nejvýše o jednu směrodatnou odchylku, je výrazně vyšší než 0,5 (za předpokladu normálního rozdělení je to 68%); pravděpodobnost, že se hodnota bude lišit nejvýše o dvě směrodatné odchylky, je velmi vysoká (při normálním rozdělení cca 95%).

## 20. VÝSLEDKY

Soubor sledovaných vzorků tvořilo 26 378 vzorků pacientů ve věku od 3 do 86 let, jejichž likvor byl vyšetřen v biochemické laboratoři Na Homolce v letech 1999 – 2006. V základním rozdělení pracujeme s počty vzorků, nikoliv s čísly pacientů. U pacientů byla prováděna opakovaná vyšetření, jejich počet nebyl jednotný, proto v dalším podrobnějším rozboru / věkové kategorie u jednotlivých diagnóz./ pracujeme s rodnými čísly. Nesouhlasí tedy součty jednotlivých tabulek s celkovým počtem vzorků u dané diagnózy...Dále je rozdílný počet vyšetření beta2 -mikroglobulinu v seru a v likvoru / ne vždy byl současně proveden/.

Soubor byl podle diagnóz /nejdříve pracovních a posléze potvrzených/ rozdělen do skupin:

demyelinizační onemocnění – RSM

neuroboreliosa

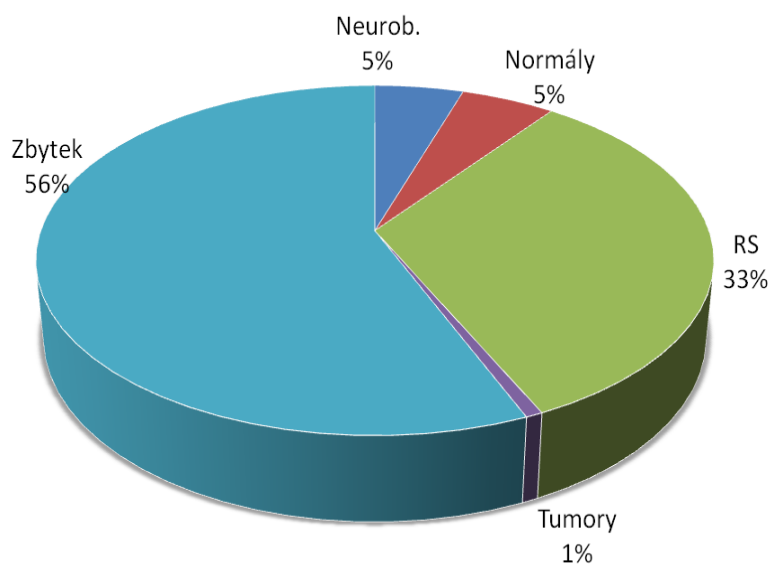
tumory

ostatní

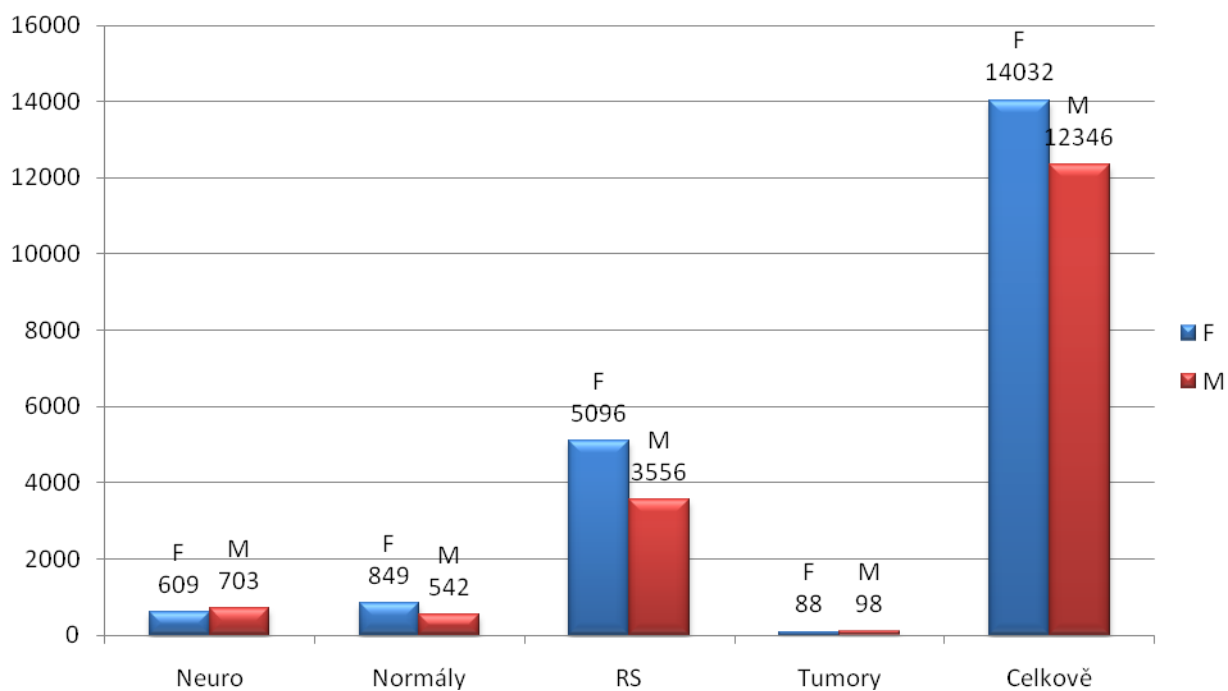
Ve vyšetřovaných skupinách byla vypočítána průměrná hodnota hladiny beta2-mikroglobulinu, směrodatná odchylka. Dále byly porovnány výsledky dle věkových skupin a mezi muži a ženami.

Procentuelní zastoupení jednotlivých skupin ukazuje graf č. 1, rozdělení podle pohlaví – viz graf č. 2:

Graf č. 1 - Procentuelní zastoupení jednotlivých skupin



Graf č. 2 - rozdělení podle pohlaví

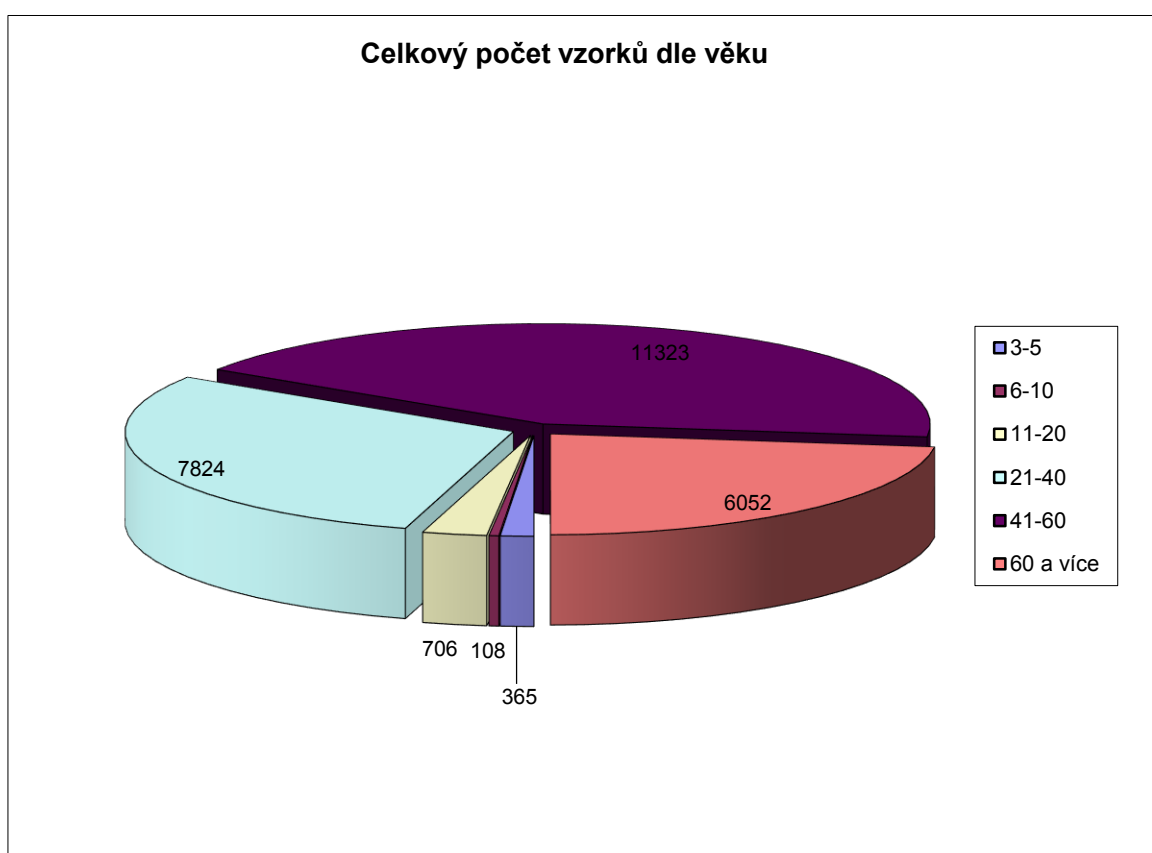


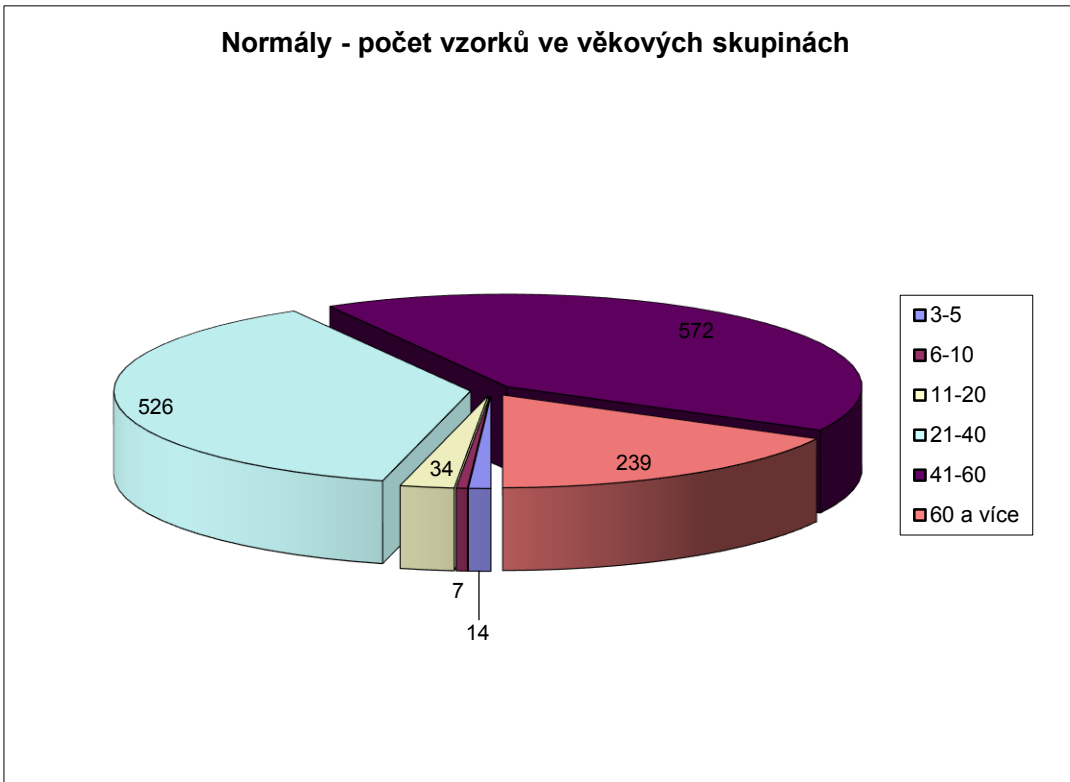
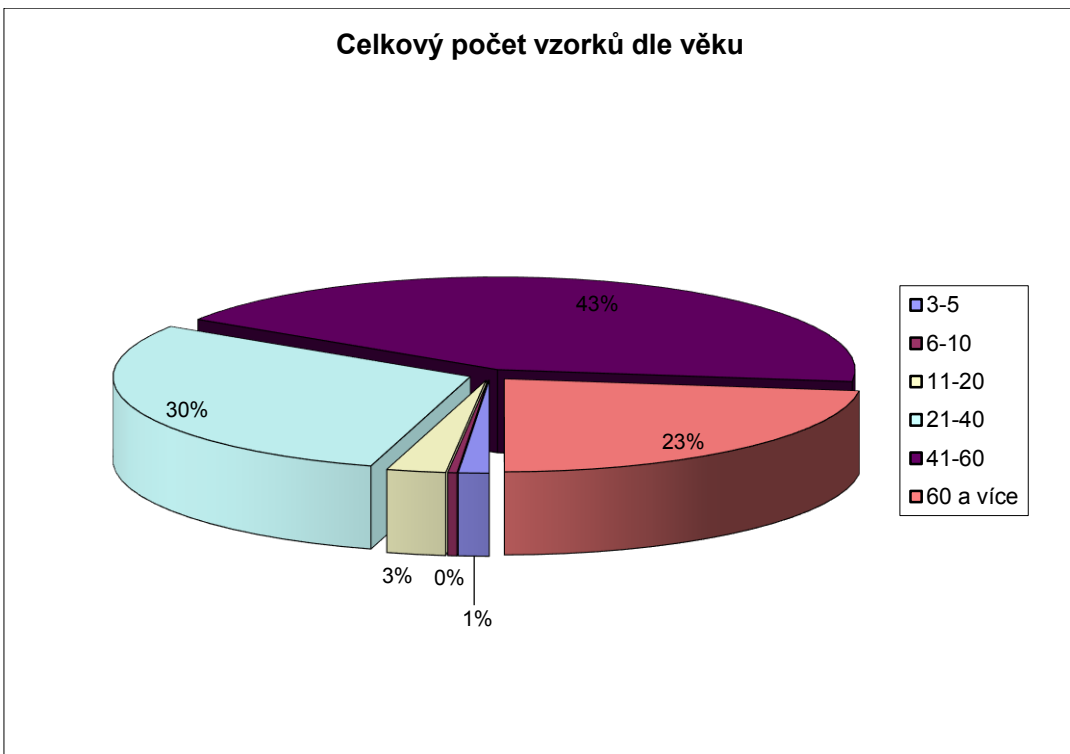


Graf č. 3 ukazuje počet vzorků rozdělených podle stanovených věkových skupin. Ve věkovém rozmezí 0-3 roky nebylo vyšetřeno statisticky významné množství vzorků /pro naše potřeby minimálně 10 vzorků/.

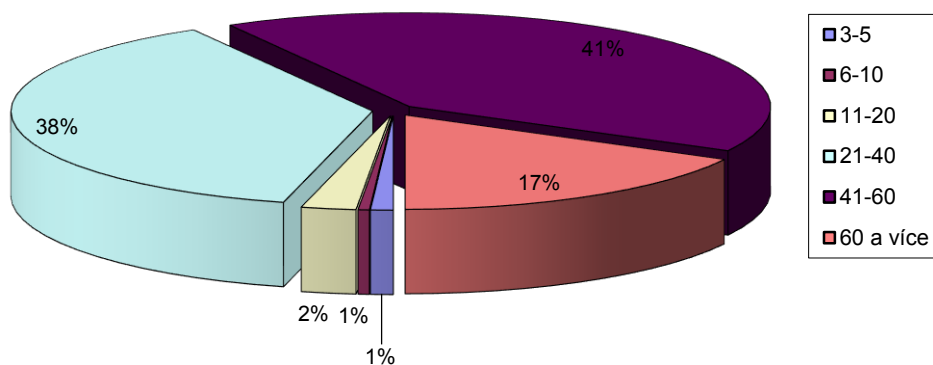
Dále následuje rozdělení podle věkových skupin v jednotlivých skupinách.

Graf č. 3 - počet vzorků v jednotlivých skupinách dle věku

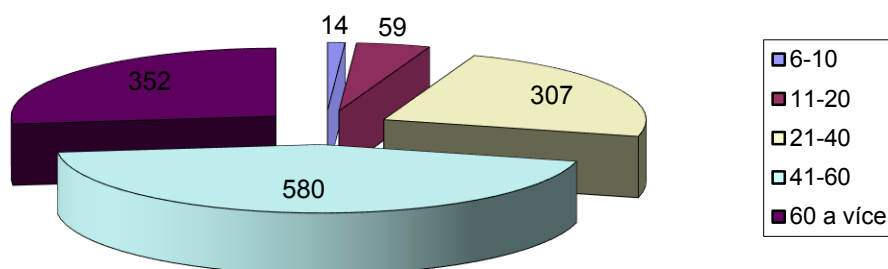




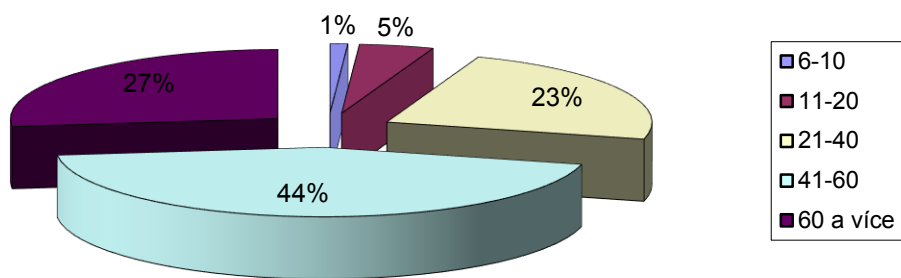
**Normály - počet vzorků ve věkových skupinách**



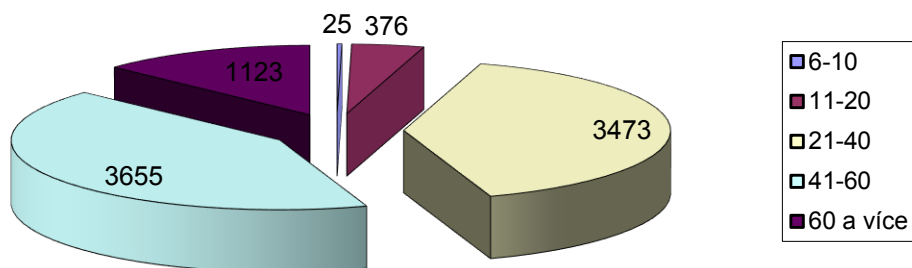
**Neuroborelióza - počet vzorků ve věkových skupinách**

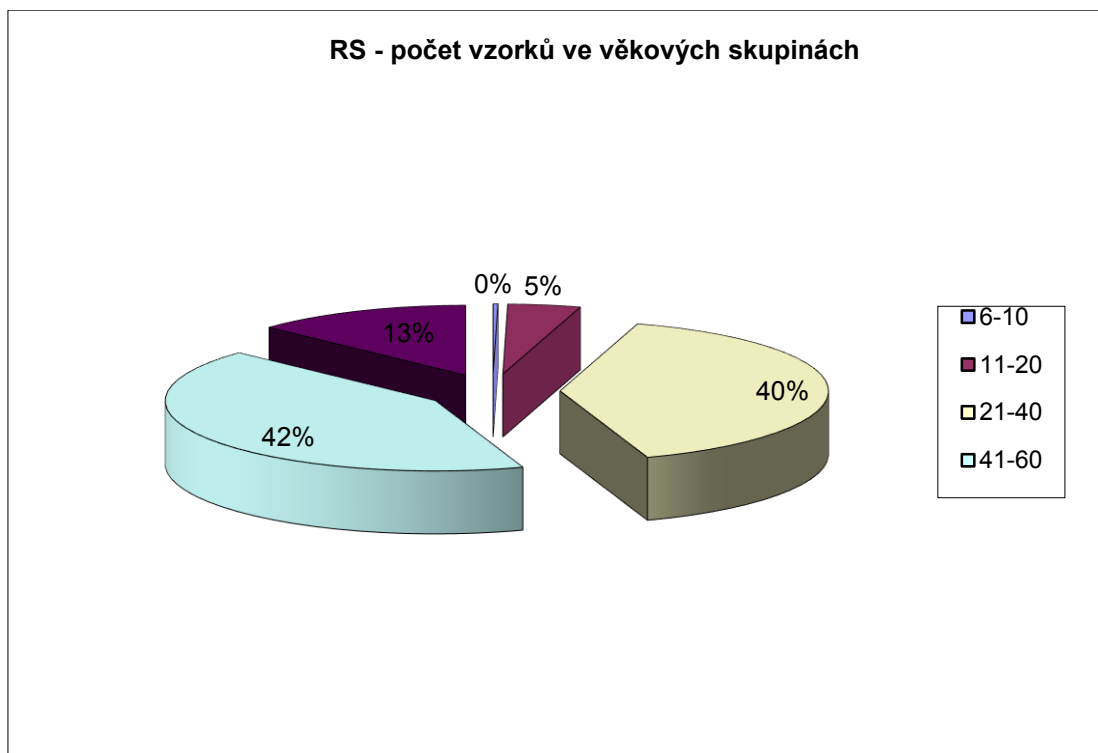


**Neuroborelióza - počet vzorků ve věkových skupinách**



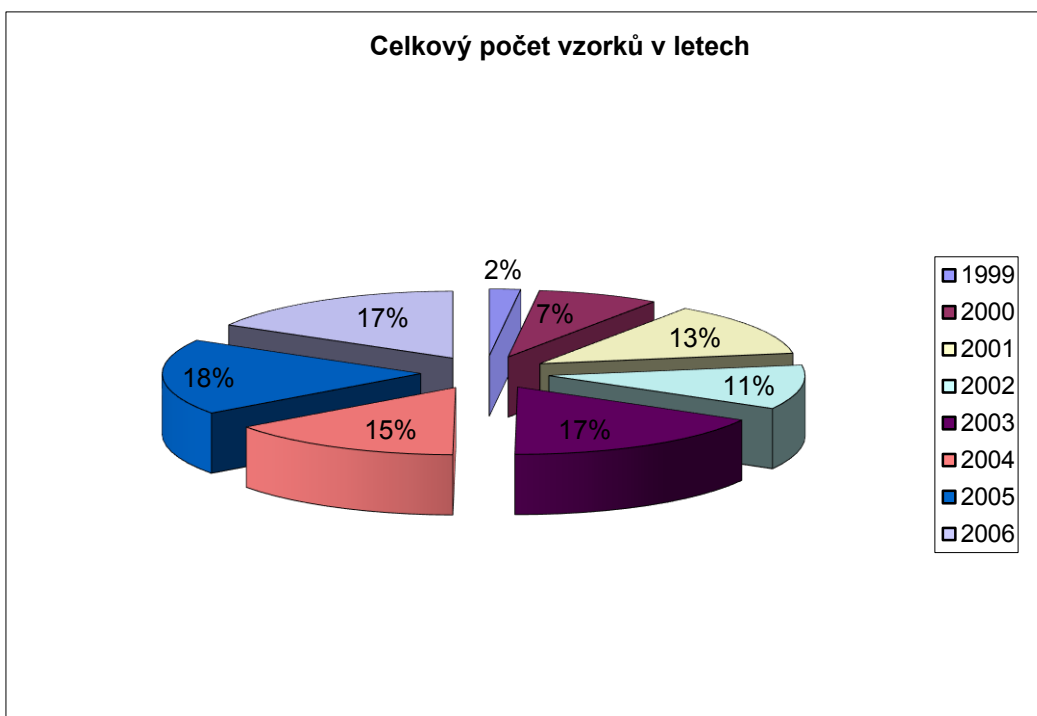
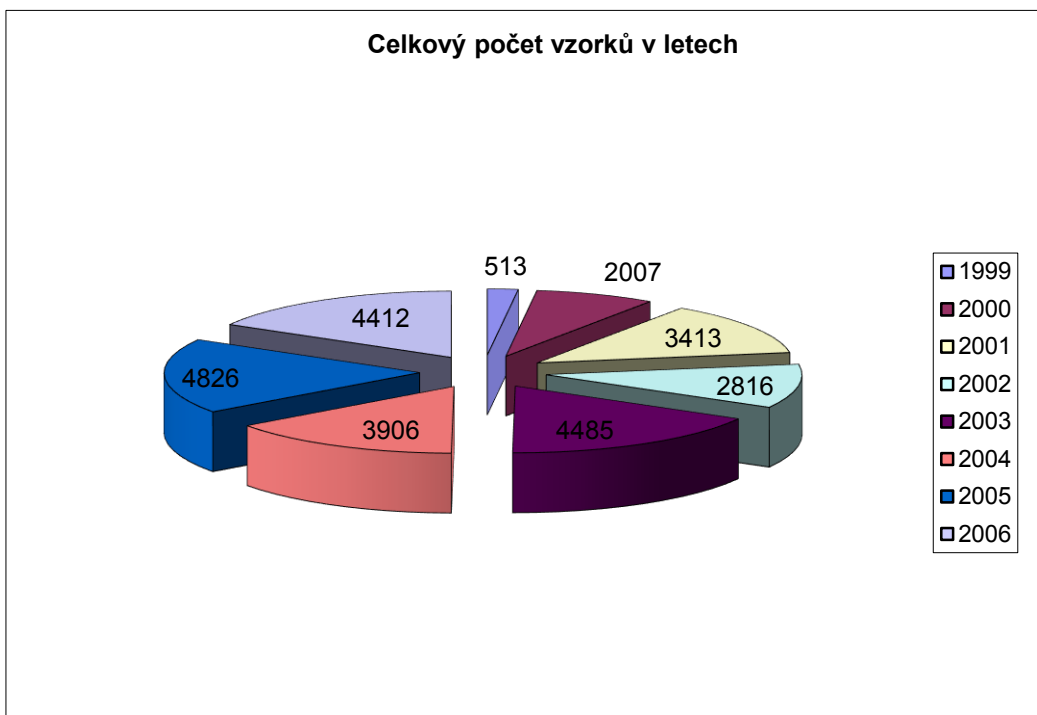
**RS - počet vzorků ve věkových skupinách**

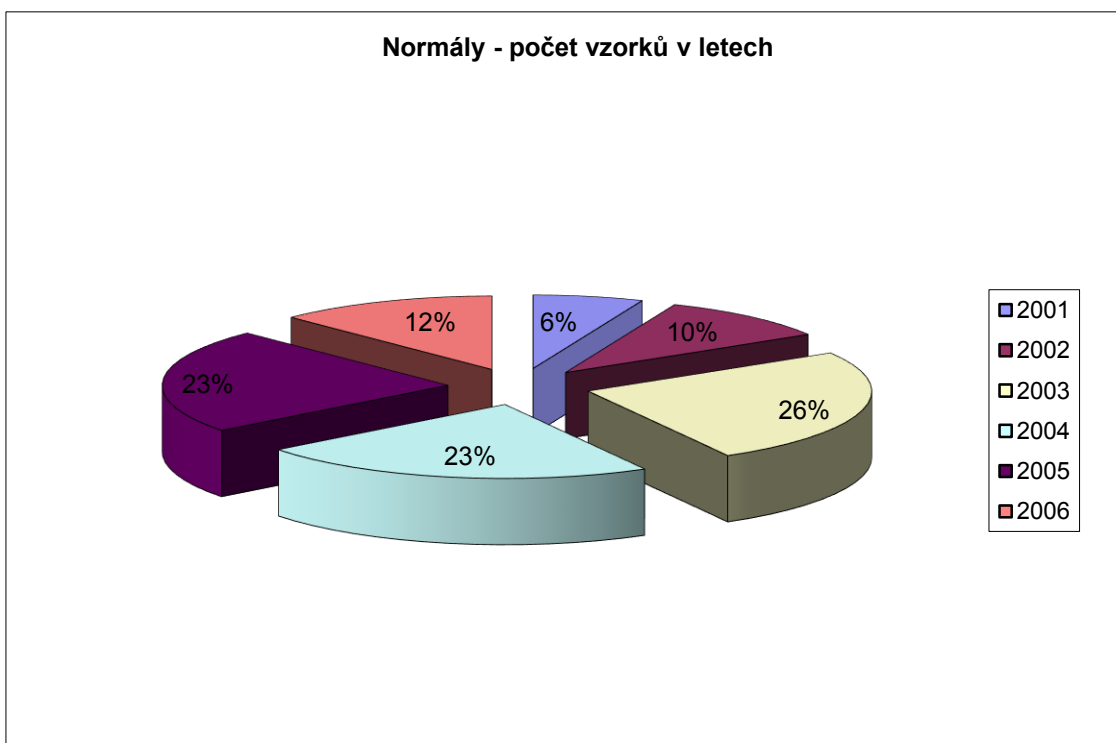
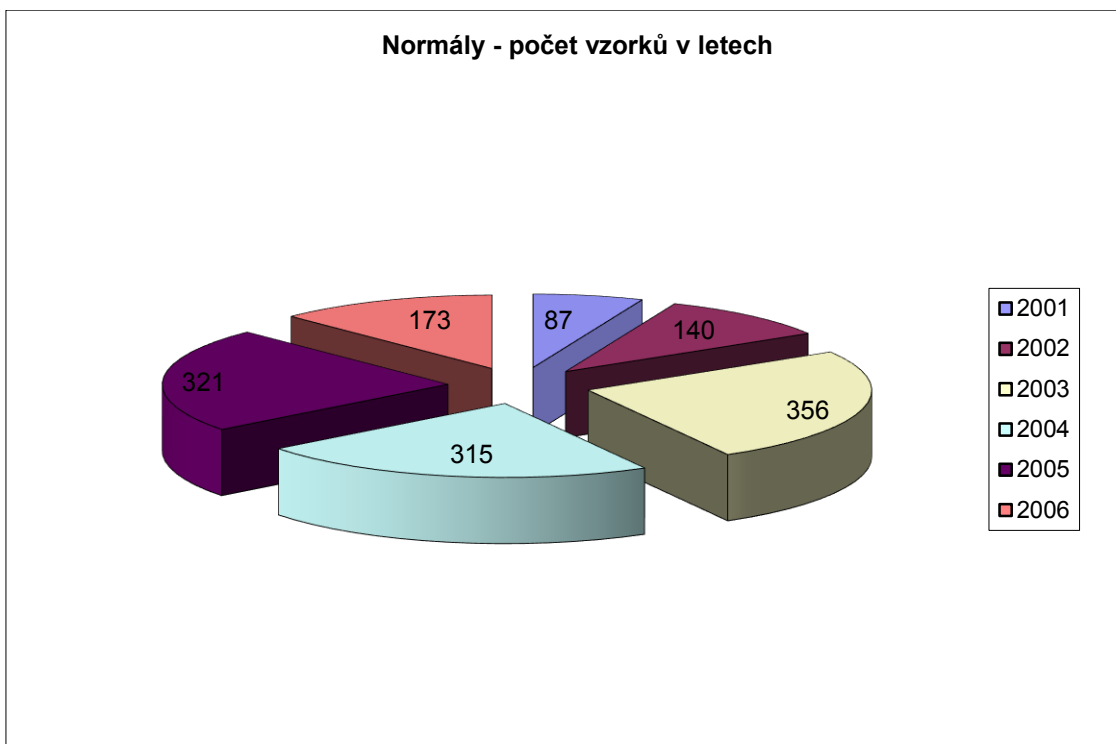


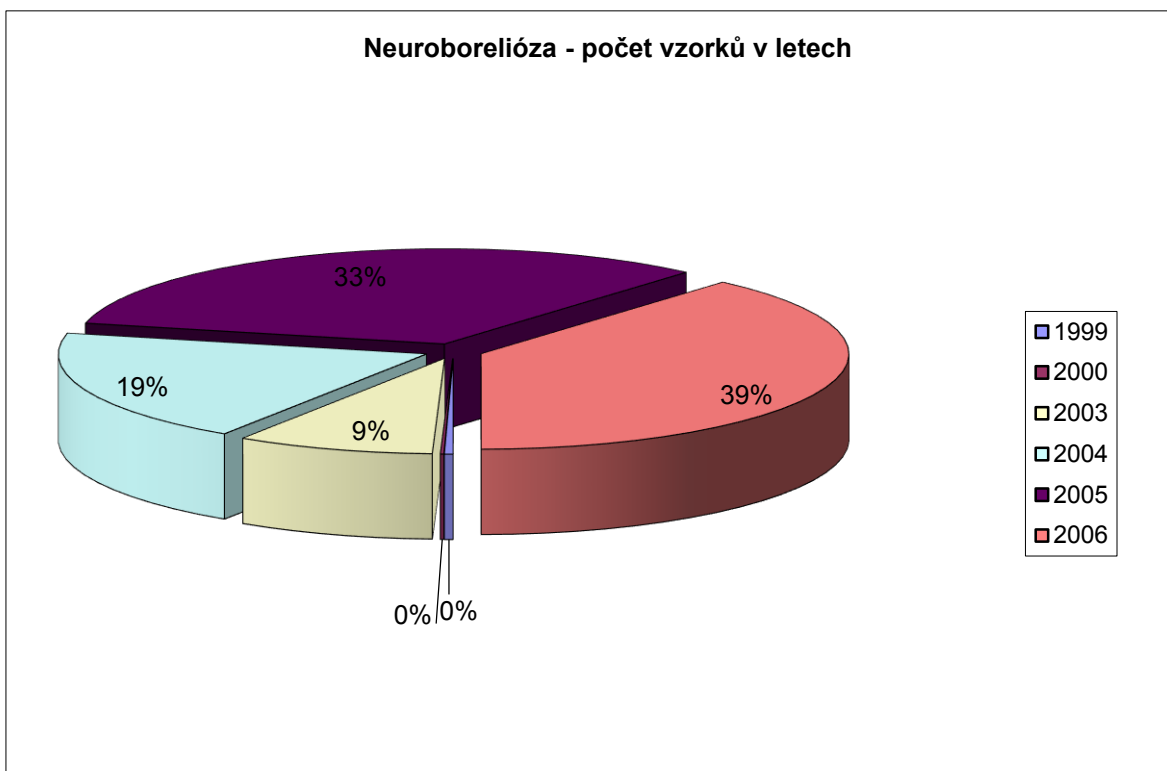
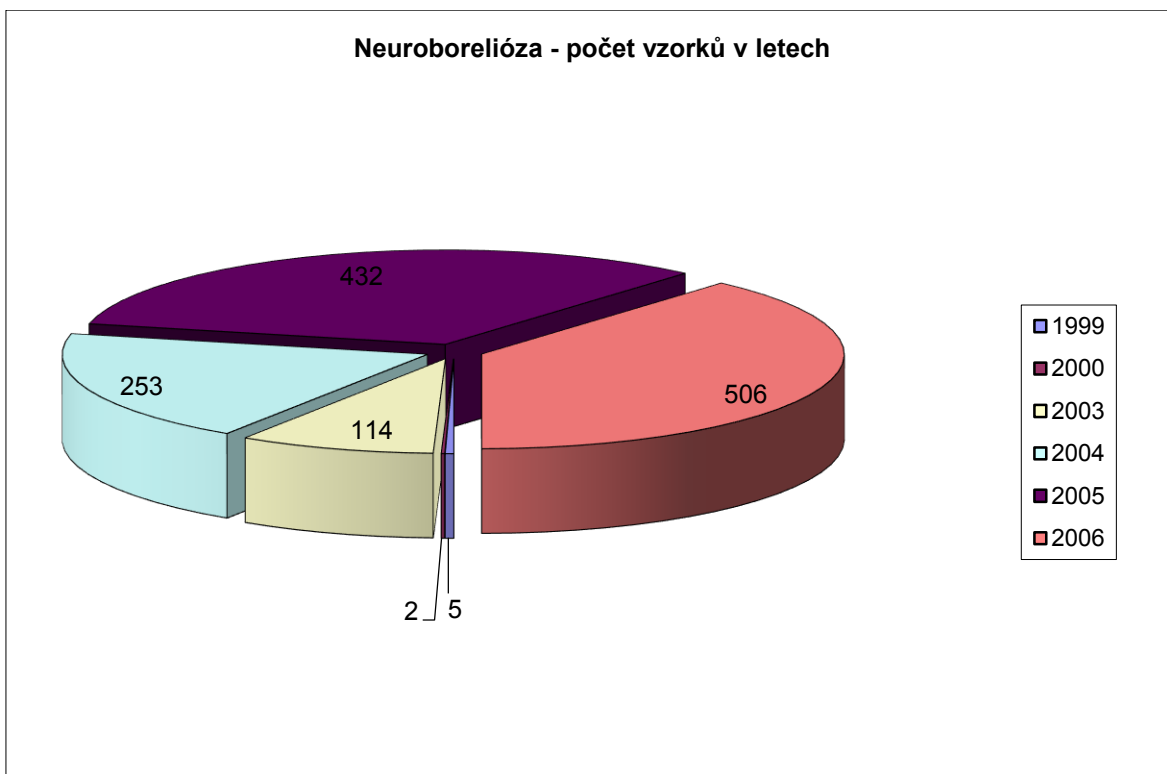


Graf č. 4 ukazuje rozdělení vzorků podle roků odběru celkově a v jednotlivých skupinách.

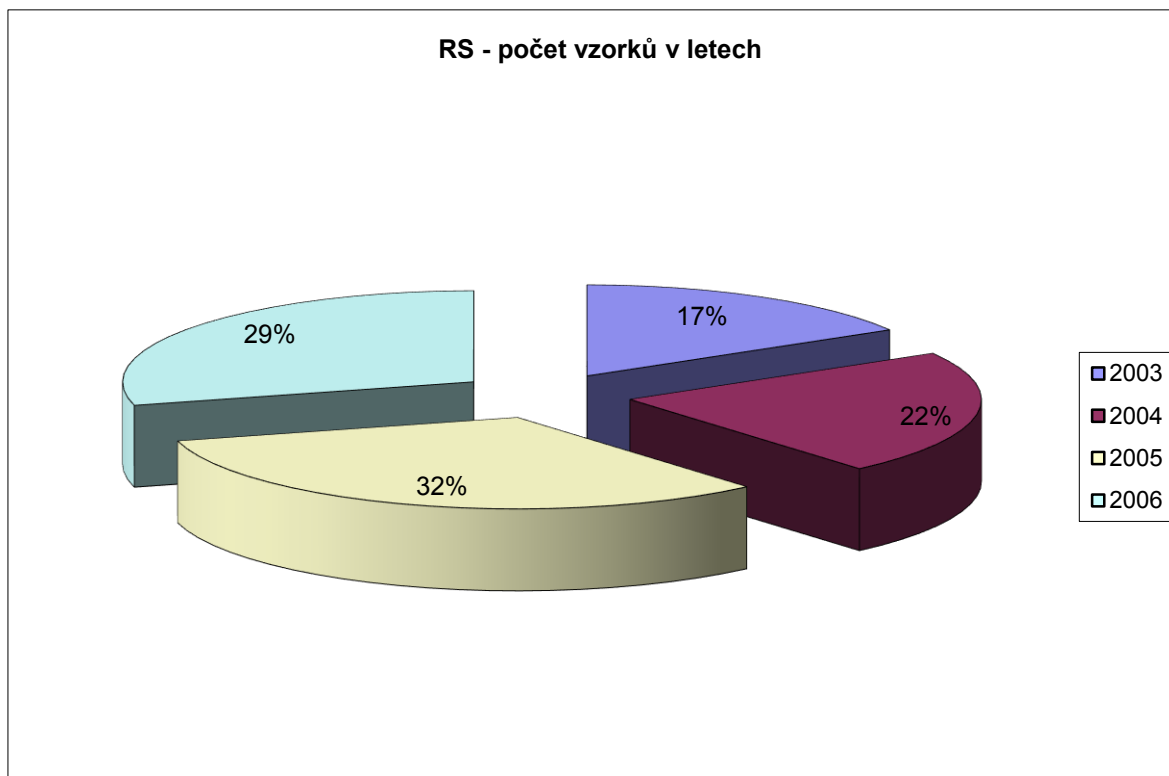
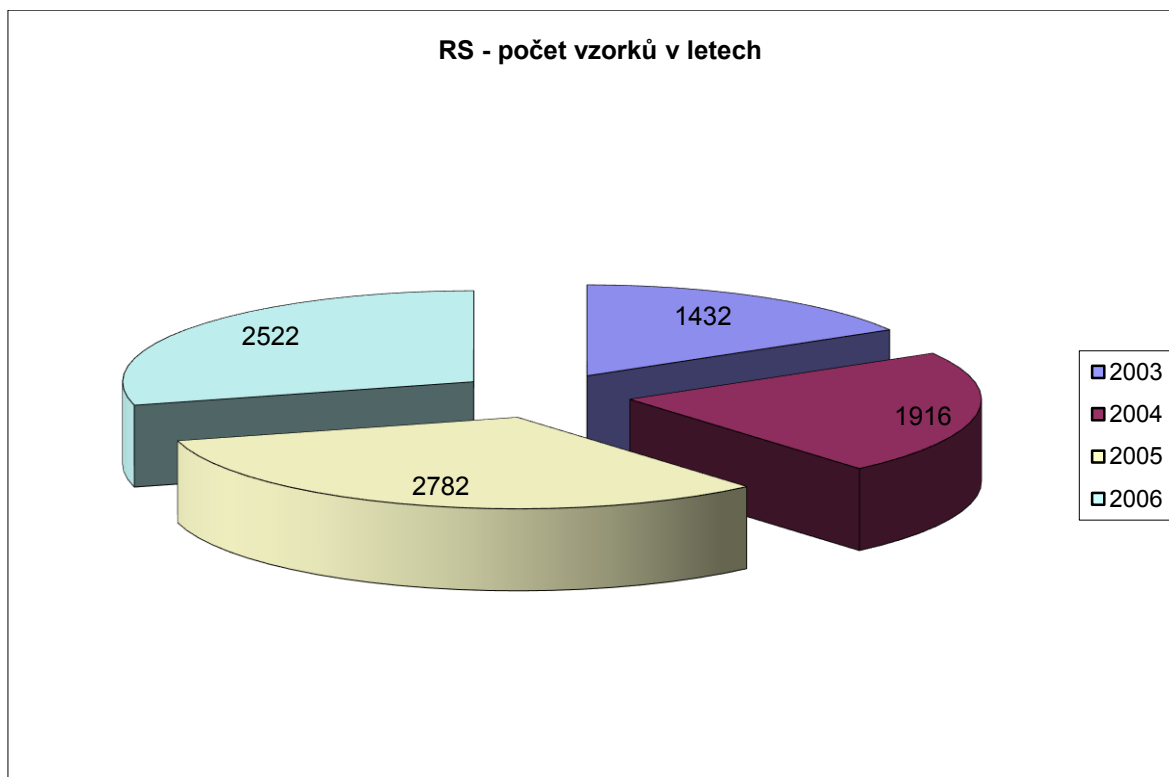
Graf č. 4 – počet odběrů dle roků





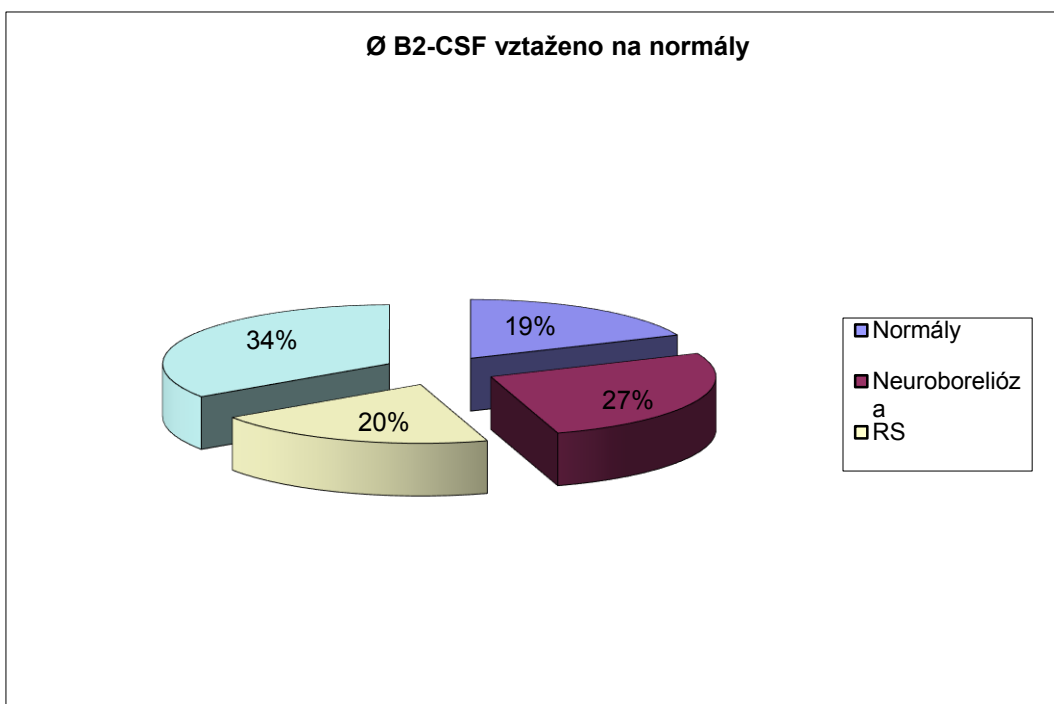
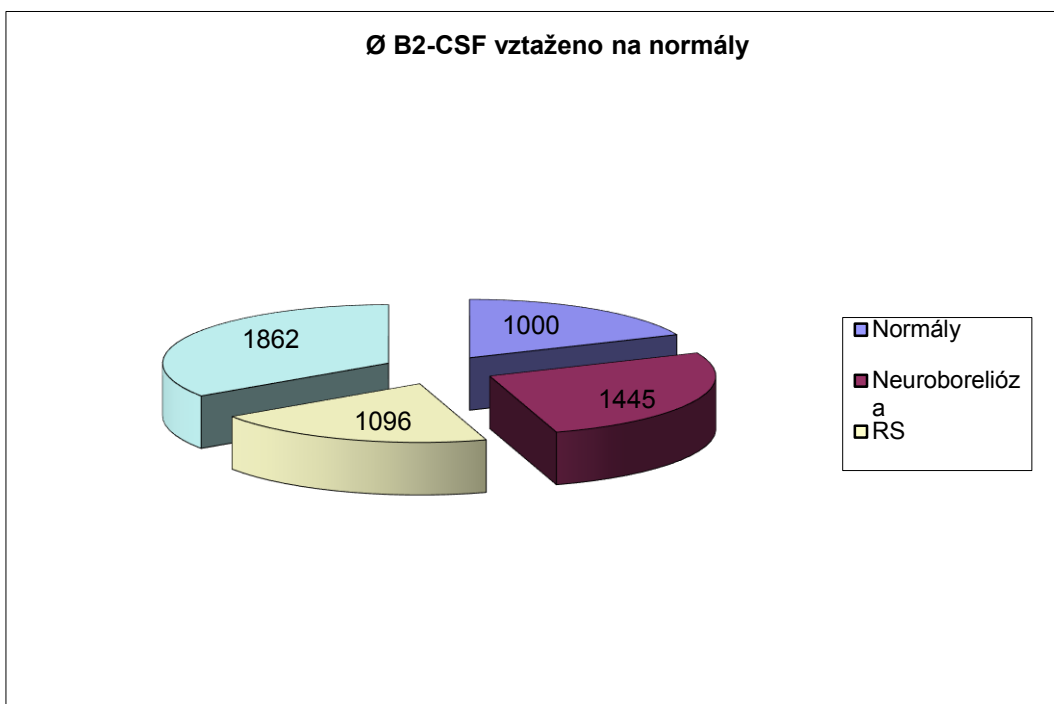


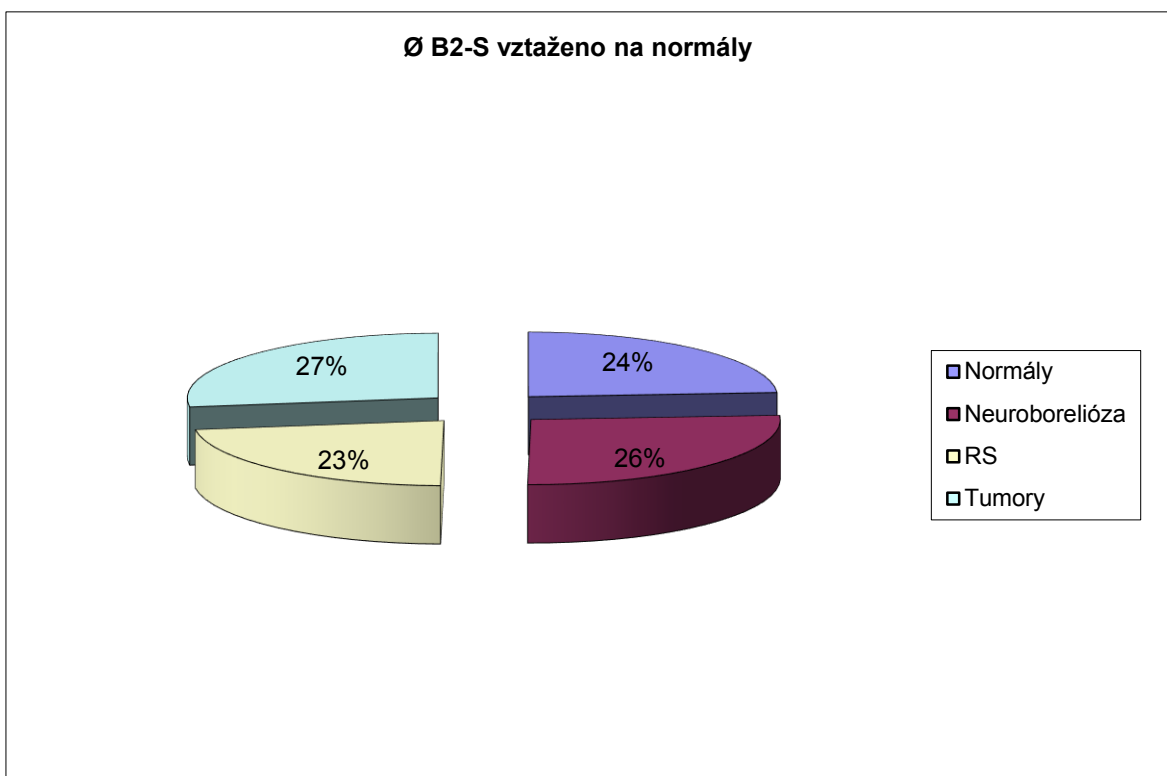
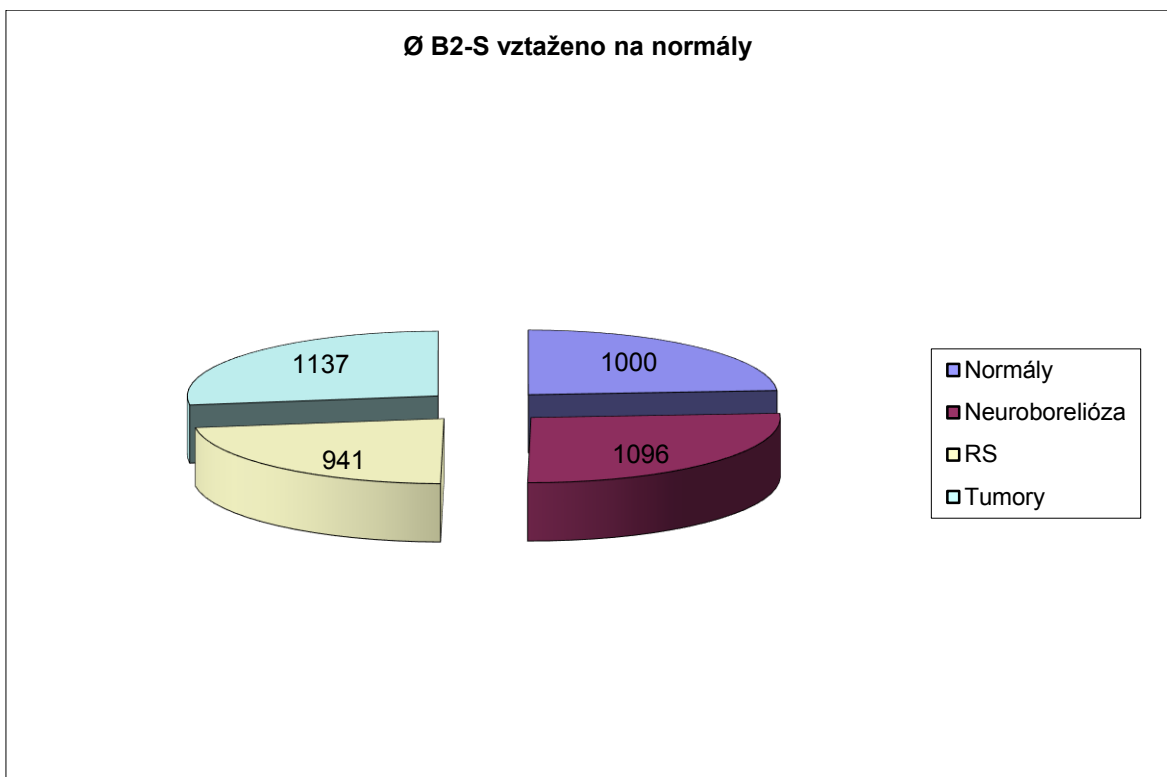




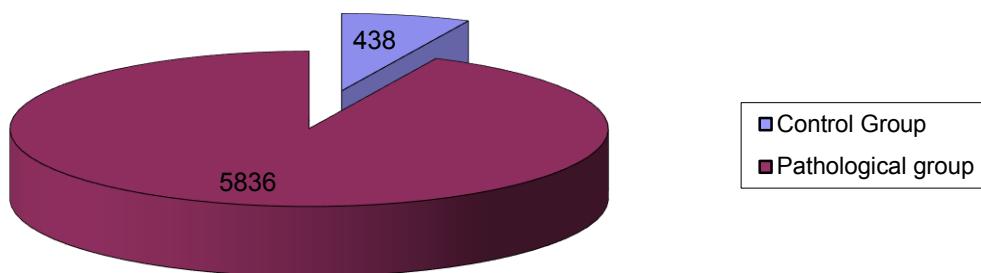
Graf č. 5 ukazuje průměrné hodnoty beta2-mikroglobulinu v likvoru a v séru porovnané k průměrným fyziologickým hodnotám /normály/.

Graf č. 5 - průměrné hodnoty beta2-mikroglobulinu v likvoru a v séru

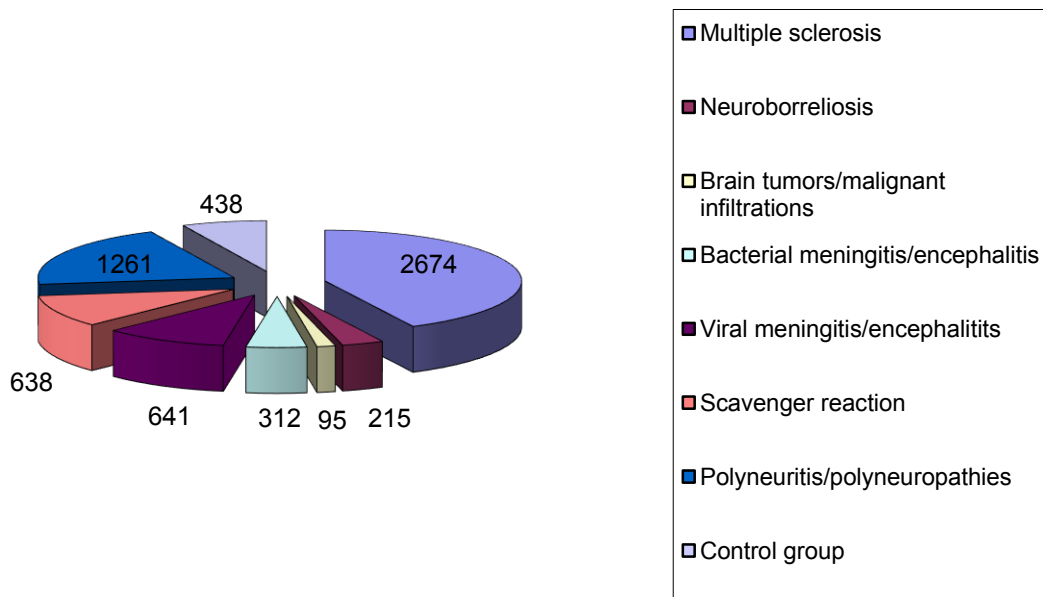




**Beta 2-mikroglobulin-comparison between the control group and the pathological group.**



**Beta2-mikroglobulin in cerebrospinal fluid with diagnostic subgroups.**



## Biologické chování beta 2 mikroglobulinu v likvoru u klinicky definovaných nosologických jednotek

## a. Tabulka I:

Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky beta2-mikroglobulinu v likvoru a v séru u podskupin v jednotlivých věkových kategoriích.

$\bar{x}$  = aritmetický průměr hodnot       $\sigma$  = směrodatná odchylka      počet měření

<b>0 - 2 roky</b>	$\bar{x}$ B2-CSF	$\bar{x}$ B2-S	$\sigma$ B2-CSF	$\sigma$ B2-S	B2-CSF	B2-S
Normály	---	---	---	---	---	---
Neuroborelióza	---	---	---	---	---	---
RS	---	---	---	---	---	---
Tumory	---	---	---	---	---	---

$\bar{x}$  = aritmetický průměr hodnot       $\sigma$  = směrodatná odchylka      počet měření

<b>3 - 5 let</b>	$\bar{x}$ B2-CSF	$\bar{x}$ B2-S	$\sigma$ B2-CSF	$\sigma$ B2-S	B2-CSF	B2-S
Normály	1,900	5,500	1,332	---	8	1
Neuroborelióza	---	---	---	---	---	---
RS	---	---	---	---	---	---
Tumory	---	---	---	---	---	---

$\bar{x}$  = aritmetický průměr hodnot       $\sigma$  = směrodatná odchylka      počet měření

<b>6 - 10 let</b>	$\bar{x}$ B2-CSF	$\bar{x}$ B2-S	$\sigma$ B2-CSF	$\sigma$ B2-S	B2-CSF	B2-S
Normály	0,500	2,100	0,566	---	2	1
Neuroborelióza	4,300	3,670	---	---	1	1
RS	4,300	3,670	---	---	1	1
Tumory	---	---	---	---	---	---

$\bar{x}$  = aritmetický průměr hodnot       $\sigma$  = směrodatná odchylka      počet měření

<b>11 - 20 let</b>	$\bar{x}$ B2-CSF	$\bar{x}$ B2-S	$\sigma$ B2-CSF	$\sigma$ B2-S	B2-CSF	B2-S
Normály	1,605	1,987	0,591	0,808	22	21
Neuroborelióza	2,688	2,383	1,686	1,497	8	7
RS	1,790	2,099	0,851	0,867	88	81
Tumory	---	---	---	---	---	---

Biologické chování beta 2 mikroglobulinu v likvoru u klinicky definovaných nosologických jednotek

$\bar{x}$  = aritmetický průměr hodnot       $\sigma$  = směrodatná odchylka      počet měření

21 - 40 let	$\bar{x}$ B2-CSF	$\bar{x}$ B2-S	$\sigma$ B2-CSF	$\sigma$ B2-S	B2-CSF	B2-S
Normály	1,771	2,309	5,571	8,144	352	312
Neuroborelióza	1,778	1,868	0,842	0,656	131	123
RS	1,714	1,973	0,808	0,893	1 208	1 165
Tumory	2,681	1,453	3,328	0,938	21	6

$\bar{x}$  = aritmetický průměr hodnot       $\sigma$  = směrodatná odchylka      počet měření

41 - 60 let	$\bar{x}$ B2-CSF	$\bar{x}$ B2-S	$\sigma$ B2-CSF	$\sigma$ B2-S	B2-CSF	B2-S
Normály	1,606	2,083	0,713	0,879	378	319
Neuroborelióza	2,734	2,669	8,306	7,812	240	232
RS	1,907	2,102	0,939	0,964	1 272	1 223
Tumory	3,222	2,201	2,229	1,428	39	16

$\bar{x}$  = aritmetický průměr hodnot       $\sigma$  = směrodatná odchylka      počet měření

60 a více let	$\bar{x}$ B2-CSF	$\bar{x}$ B2-S	$\sigma$ B2-CSF	$\sigma$ B2-S	B2-CSF	B2-S
Normály	1,897	2,701	0,841	1,474	160	116
Neuroborelióza	2,656	2,690	1,661	1,277	171	168
RS	2,298	2,669	1,003	1,118	443	436
Tumory	3,437	3,255	2,849	2,416	43	19

**20.1. Demyelinizační onemocnění - roztroušená skleróza:**

Skupina obsahuje celkem 8652 vyšetřených vzorků v daném sledovaném období.

Diagnóza potvrzena klinikou, imuno elektroforesou.

Věková hranice je: 6 let – 86 roků.

Průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu v mozkomíšním moku: **1,885**, směrodatná odchylka **0,917**.

Průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu v séru: **2,136**, směrodatná odchylka **0,986**.

Závislost na pohlaví se nezdá být přesvědčivá.

Závislost na věku: Ve věkové skupině 3 – 6 let je průměrná hodnota beta2 - mikroglobulinu vyšší než je průměrná hodnota celé skupiny. Ve skupině více než 60 let je rovněž vyšší.

**20.2. Neuroboreliosa:**

Skupina obsahuje celkem 1312 vyšetřovaných vzorků ve sledovaném období.

Diagnóza je potvrzena stanovením hladiny protilátek proti boreliose a při sporném nálezu vyš. Western Blot.

Věková hranice je: 6 let -86 let.

Průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu v mozkomíšním moku: **2,485**, směrodatná odchylka **5,580**.

Průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu v séru: **2,488**, směrodatná odchylka **5,226**.

Závislost na pohlaví není přesvědčivá. Výrazná je vyšší hodnota směrodatné odchylky u neuroboreliosisy u žen - 8,553 oproti směrodatné odchylce u mužů – 1,453. Znamená to větší rozptyl hodnot beta2-mikroglobulinu u žen než u mužů.

Závislost na věku: Výrazně vyšší průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu ve věkové skupině 6-10 let oproti dalším věkovým skupinám.

### **20.3. Tumory:**

Skupina obsahuje celkem 186 vyšetřovaných vzorků ve sledovaném období.

Diagnóza potvrzena cytologicky /zachyceny nádorové buňky/, a morfologickým vyšetřením.

Jednalo se o primární mozkové tumory a dále o metastatická postižení CNS.

Věková hranice je: 21-86 let.

Průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu v mozkomíšním moku: **3,202**, směrodatná odchylka **2,715**.

Průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu v séru: **2,580**, směrodatná odchylka **1,967**.

Závislost na pohlaví: u žen ve vyšetřované skupině je nižší průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu než u mužů.

Závislost na věku: Nižší průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu v nižších věkových skupinách.

### **20.4. Normální nálezy:**

U normálních – fyziologických nálezů – průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu v mozkomíšním moku: **1,720**, směrodatná odchylka **3,490**.

Průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu v séru: **2,269**, směrodatná odchylka **5,245**.



## 21. DISKUZE A ZÁVĚR

Beta 2 mikroglobulin je nízkomolekulární protein, tvořený 99 aminokyselinami, který je syntetizován všemi živými jadernými buňkami, nenachází se pouze na erythrocytech. Ve volné formě se objevuje v extracelulární tekutině a ve všech tělních tekutinách, proto může být poměrně snadno vyšetřována jeho hladina v těchto tekutinách.

Tvorba beta 2-mikroglobulinu a jeho uvolňování do tělesných tekutin je u zdravých lidí konstantní.

Zvýšení hladiny v séru je např. u nádorů /mnohočetný myelom, non Hodginský lymfom, Hodginova choroba/ zánětů, imunologických onemocnění, selhávání ledvin.

Zvýšení hladiny beta 2-mikroglobulinu v likvoru odpovídá lokální produkci, je připisováno aktivaci imunitního systému produkcí anomálními buňkami a uvolňování při tkáňové destrukci .

Beta 2 mikroglobulin a význam jeho stanovení v likvoru lze uvážit jednak jeho biologickou úlohou, jednak podrobným statistickým vyhodnocením. Je součástí MHC třídy I, z čehož vychází jeho význam u dějů zánětlivých, nádorových a imunologicky podmíněných.

U virových a bakteriálních neuroinfekcí lze zjištěné zvýšení jeho hladin vysvětlit vysokou prezentací HLA na membránách imunokompetentních buněk. Sledování koncentrací zde umožňuje i sledování úspěšnosti terapie u těchto pacientů.

Je doložitelný vzestup koncentrací v likvoru u maligních meningeálních infiltrací, zejména u hematologických pacientů s leukémiemi a lymfomy. Na povrchu těchto buněk dochází k výrazné expresi HLA.

U lézí ischemických je zvýšení podmíněno zcela obecně přítomností tkáňové destrukce, která zejména u mozkových ischemií může být rozsáhlá, a jedná se zde tedy o zvýšení nespecifické, podmíněné značným rozsahem tkáňové destrukce, protože HLA I antigeny jsou exprimovány na membránách všech buněk, tedy i mozkových a nikoli pouze buněk imunokompetentních.

Významnou roli hraje pak stanovení beta 2 –mikroglobulinu v diferenciální diagnostice procesů nehnisavých a hnisavých, kde právě u procesů bakteriálních i parazitárních je zvýšení koncentrace zvláště výrazné.

Zvýšení koncentrace beta 2 –mikroglobulinu u HIV encefalopatií bylo i v minulosti opakovaně prokázáno, kde je i považováno za nedílnou součást choroby, ale blíže však nebylo toto nikdy uspokojivě vysvětleno.

U primárních tumorů CNS chybí soubor vhodný ke statistickému zpracování, neboť zde hlavní úlohu v diagnostice a v diferenciální diagnostice hrají zobrazovací metodiky, např. MRI, ne tedy vyšetření likvoru, které je v mnoha případech kontraindikováno.

Sledování tumorů i v takto velkém a rozsáhlém souboru naráží na velké problémy týkající se toho, že nebylo možno vždy rozlišit tumor neuroektodermu, karcinomy a hemoblastozy.

V každém případě hemoblastozy nevyplavující lymfomy jsou v tomto souboru bohatě zastoupeny, ale jejich detailní deskripce vyžádala by si jistě další úvahy včetně další práce.

U demence Alzheimerova typu lze stejně jako u mozkových ischemií očekávat přítomnost destruktivní léze CNS.

### Tabulka I:

Průměrné hodnoty beta2-mikroglobulinu v likvoru /CSF beta 2/ a v séru /S beta 2/ ve skupině fyziologických nálezů /Na/ a patologických nálezů /pb/, dále ve skupinách roděných podle cytologických nálezů /LO lymfocytární oligocytoza, LP lymfocytární pleiocytoza, MO monocytární oligocytoza, MP monocytární pleiocytoza, GO granulocytární oligocytoza/.

Hodnota Q je podíl hodnoty beta2-mikroglobulinu v likvoru a v séru – v jednotlivých skupinách.

Quantity	CSF beta2	S beta2	Q
Na	1,720	2,269	0,758
pb	2,203	2,186	1,008
LO, LP	2,227	2,125	1,048
MO, MP	1,954	2,352	0,831
GO, GP	3,816	2,795	1,366
TO, TP	3,202	2,580	1,241

### Tabulka II:

Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky beta2-mikroglobulinu v likvoru a v séru u jednotlivých podskupin.

$\bar{\sigma}$  = aritmetický průměr hodnot

$\sigma$  = směrodatná odchylka

počet měření

	$\bar{\sigma}$ B2-CSF	$\bar{\sigma}$ B2-S	$\sigma$ B2-CSF	$\sigma$ B2-S	B2-CSF	B2-S
Normály	1,720	2,269	3,490	5,245	922	770
Neurobor.	2,485	2,488	5,580	5,226	551	531
RS	1,885	2,136	0,917	0,986	3 012	2 906
Tumory	3,202	2,580	2,715	1,967	103	41

**Tabulka III:**

Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky beta2-mikroglobulinu a likvoru a v séru u mužů a žen.

$\bar{x}$  = aritmetický průměr hodnot       $\sigma$  = směrodatná odchylka      počet měření

<b>ŽENY</b>	$\bar{x}$ B2-CSF	$\bar{x}$ B2-S	$\sigma$ B2-CSF	$\sigma$ B2-S	B2-CSF	B2-S
Normály	1,509	2,325	0,709	6,447	580	501
Neuroborelióza	2,681	2,803	8,553	7,998	226	221
RS	1,828	2,131	0,903	0,988	1 676	1 630
Tumory	3,073	1,998	2,436	0,809	50	22

$\bar{x}$  = aritmetický průměr hodnot       $\sigma$  = směrodatná odchylka      počet měření

<b>MUŽI</b>	$\bar{x}$ B2-CSF	$\bar{x}$ B2-S	$\sigma$ B2-CSF	$\sigma$ B2-S	B2-CSF	B2-S
Normály	2,074	2,165	5,654	1,210	341	269
Neuroborelióza	2,348	2,263	1,453	1,125	325	310
RS	1,955	2,143	0,931	0,984	1 336	1 276
Tumory	3,323	3,254	2,996	2,675	53	19

Ve sledovaném souboru bylo možno statistickým šetřením definovat normální nálezy, dále hodnoty, které jsou obvyklé u jednotlivých skupin neurologicky nemocných pacientů, např. u demyelinizačních onemocnění, u neuroboreliózy, u hnisavých zánětů a maligních infiltrací.

Rozdíly v uvedených jednotlivých skupinách byly prokazatelně statisticky významné.

Samotné sledování bylo výrazně narušeno primárně vysokými hodnotami beta 2- mikroglobulinu v krvi, zejména u onemocnění ledvin, a tak tito pacienti byli ze statistických vyhodnocení vyloučeni.

Ve všech uvedených skupinách byly zjištěny statisticky významné rozdíly ve srovnání s kontrolní skupinou složenou z pacientů bez zánětlivého či strukturálního postižení CNS.

Stanovení v likvoru bylo technicky snadné i proto, že bylo lze použít běžnou sérovou kalibraci analyzátoru, protože není přítomen řádový rozdíl mezi koncentrací v krvi a v likvoru.

Jak je patrné z výsledků, průměrné hodnoty beta2-mikroglobulinu v mozkomíšním moku jsou značně rozdílné v jednotlivých skupinách.

Zcela jednoznačně nejvyšších hodnot /a řádově signifikantně vyšších/ dosahují u pacientů s nádory. Dále jsou vyšší u pacientů s prokázanou neuroboreliozou.

U pacientů s demyelinizačním onemocněním se blíží k normě.

Hodnoty beta2-mikroglobulinu v séru jsou poměrně vyrovnané u jednotlivých skupin onemocnění.

Nabízí se tedy závěr: Pokud zjistíme hodnoty beta2-mikroglobulinu v mozkomíšním moku takto výrazně zvýšené i pokud se v daném preparátu nezachytí nádorová buňka, je vysoce pravděpodobné tumorozní onemocnění.

Hodnoty beta2-mikroglobulinu jsou velmi blízké hodnotám normálu u roztroušené sklerózy. Pokud ve vzorku nezachytíme typické plazmocyty, bývá zpravidla cytologický nálezn rovněž normální nebo velmi blízký normě. Souvisí tedy i tento nálezn s hladinou beta2-mikroglobulinu?

---

Závisí hladina tohoto proteinu na stadiu /klinickém stavu/ choroby? Z této práce není možná odpověď na tuto otázku.

Dále - bylo by možno podobně jako je tomu v zahraniční literatuře /viz výše/ u HIV pozitivních pacientů monitorovat úspěšnost léčby i u tohoto onemocnění? /např. po aplikaci betaferonu, apod./

Průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu je u fyziologických nálezů nižší u žen než u mužů /1,509 x 2,074/. Současně je podstatně vyšší směrodatná odchylka u mužů než u žen /5,654 x 0,709/. Vyšší směrodatná odchylka je dále patrná u neuroboreliozy u žen /8,553 x 1,453/ při téměř vyrovnaných průměrných hodnotách. Nabízí se tedy otázka, zda jsou hodnoty beta2-mikroglobulinu v těchto skupinách závislé na pohlaví.

Z výše uvedeného vyplývá důležitost a výpovědní hodnota vyšetřování beta2-mikroglobulinu v mozkomíšním moku.

Zcela jistě se nabízí další výzkum a zpracování dalších sporných otázek v této oblasti.

Domnívám se, že velikost souboru dává vysokou výpovědní hodnotu. Proto stanovení průměrných hodnot v jednotlivých skupinách má velkou důležitost. Všechna vyšetření byla provedena na jednom klinickém pracovišti, což utvrzuje jejich hodnotu.

Je třeba říci, že sběr tak rozsáhlého materiálu byl umožněn poskytnutím více grantů a zvláště stěžejní byl grant tříletý. Poděkování náleží grantovým agenturám. Vytvoření a poskytnutí tohoto značně velkého a statisticky významného souboru bylo hodnoceno jako grant skupiny A, tedy nejvyšší ohodnocení, a bylo navrženo na cenu ministra.

Vyšetření daného proteinu by tedy mělo patřit mezi základní vyšetření likvoru, mělo by se provádět rutinně při základním vyšetření likvoru.

Při tak náročném vyšetření, jakým nepochybně odběr mozkomíšního moku pro pacienta je, by mělo být provedeno co možná největší množství vyšetření k ozřejmění diagnózy .

Hladina tohoto proteinu by měla vést ke směřování dalších vyšetření ke stanovení konečné diagnózy.

Ve prospěch, kromě jiného, hovoří nenáročnost a nenákladnost vyšetření, ať na množství odebraného likvoru – není třeba navýšení odběru, tak na množství chemikálií a přístrojového vybavení /v současné době naprostá většina vyšetření je prováděna na specializovaných pracovištích, kam je likvor odesílán, a kde se provádí komplexně celá škála vyšetření/.

Celkové shrnutí výzkumu ukazuje graf č. 5, kdy jsou průměrné hodnoty beta2-mikroglobulinu v likvoru a v séru v jednotlivých skupinách vztažené ke skupině fyziologických nálezů.

Závislost hodnoty beta2-mikroglobulinu na pohlaví nelze spolehlivě prokázat. Patrný je rozdíl průměrné hodnoty u fyziologických nálezů. Výrazně nižší hodnoty proteinu jsou u dětí, ale množství vyšetřovaných vzorků není vysoké. Nabízí se tedy další předmět výzkumu – vyšetření a další zpracování vzorků u dětské populace. Ve vyšších věkových skupinách je vyšší průměrná hodnota beta2-mikroglobulinu u tumorů nad 40 let a u demylinizace nad 60 let.

Je tedy závislost hladiny beta2-mikroglobulinu na vyzrálosti /event. nevyzrálosti/ hematolikvorové bariéry?

Dále se nabízí otázka závislosti hladiny beta2-mikroglobulinu na etnické skupině, na zeměpisné šířce, atd.

Je možné zabývat se dalšími nosologickými jednotkami a nálezy v likvoru při těchto diagnózách /např. závrativé stavy, vertebrogenní syndromy, u kterých není fyziologický

---

nález v likvoru, polyneuropatie, dědičná degenerativní onemocnění CNS, .../.

I nadále je tedy otevřená další výzkumná práce ohledně stanovování a sledování hladiny tohoto proteinu.

Poděkování patří těmto osobám:

Doc. MUDr. P. Adam, CSc

MUDr. O. Sobek, CSc

PhDr. Vl. Matoušek

Mgr. J. Matoušková

Bc. L. Ryzák

Ing. T. Balvín

Ing. L. Vondra

Mgr. D. Vondra

---



## Literatura:

1. Adam P., Kratochvíla J., Táborský L., Průcha M., Sobek O., Zeman D.  
Cerebrospinal fluid cytology.  
Medica News Publishers, Prague **2003**
  2. Adam P., Táborský L., Sobek O. et al.  
Cerebrospinal fluid .  
Advances in Clinical Chemistry, vol.36, **2001**: 1-62
  3. Adam P., Sobek O., Scott C.S.  
Analysis of cerebrospinal fluid cell populations with monoclonal antibodies.  
Folia Microbiologica 52 **2007**: 529-534
  4. Adam P., Sobek O., Hybel'ová M., Doležil D., Kasík J., Hajduková L., Adam D., Svatoňová J.  
Eosinophilic Meningitis -an Immunophenotyping Recording of a Very Rare Clinical Entity – *Brief Report*  
Folia Microbiologica 54 **2009**: 257-260
  5. Adam P., Sobek O., Táborský L., Průcha M., Žáček P.  
Cerebrospinal fluid cytology  
Rivista di Laboratorio 3, **2002**: 46-51
  6. Adam P., Sobek O., Táborský L., Hildebrand T., Kelbich P., Průcha M., Hyánek J.  
Cerebrospinal fluid  
Adv. Clin. Chem. 36 **2001**: 1-62
  7. Adam P., Sobek O., Táborský L., Hildebrand T., Průcha M., Hyánek J., Žáček P., Veselá B.  
Complete proteinogram of cerebrospinal fluid and its contribution to the diagnostics of inflammatory and autoimmune diseases of the central nervous system  
1st Fac. Med. Charles Univ. Quarterly J. (Sborník lékařský) 104 **2003**: 1-12
-

8. Adam P., Sobek O., Táborský L., Tutterivá O., Žáček P.  
Clinical Syndromes of Cerebrospinal Fluid Proteinogram  
Klinická biochemie a metabolismus 11(32) **2003**:221-222
  9. Adam P., Sobek O., Táborský L., Hildebrand T., Tutterová O., Žáček P.  
CSF and serum orosomucoid in patiens with MS : a comparison amnog particular  
subgroups of MS patients ica Chimica Clin Acta 334 **2003**:107-110
  10. Adam P., Sobek O., Táborský L.,Klebich P.,  
Cytology of cerebrospinal fluid  
Medica News Publishers,Prague **2003 c**
  11. Adam P., Tichý J.,Nekola P., et al.  
Biological role of apolipoprotein A II in cerebrospinal fluid  
Eur.J.Neurol. **1998**:219
  12. Adam P.  
Likvorologie.  
In: Duniewicz M., Adam P. Neuroinfekce.  
Maxdorf, Praha **1999**: 21-81
  13. Adam P.  
A proposal for the classification of CSF cytological findings  
Clin. Biochem.4 **1995**: 37-38
  14. Adam P., Cheníčková M.  
Nové aspekty sledování proteinových frakcí likvoru.  
FONS **1984**: 117
  15. Adam P., Kocinová F., Matoušková A.  
Jednoduchá metoda přípravy cytologických preparátů z mozkomíšního moku.  
Prakt. Lék., 71 **1991**: 258-259
  16. Adam P.  
Lipofagocytární aktivita makrofágů.  
Čs.Neurol. Neurochir., 56/89, **1993**: 170-171
-

17. Adam P., Nekola P., Havrdová E., Preiningerová J., Tyl D., Cheníčková M., Tauberová A., Zeman D., Sobek O.  
Importance of evaluation of CSF .IgM for clinical practice  
*Clin.Biochem.Metab.* 5**1997**:40-44
  
  18. Adachi N.  
Beta – 2 – microglobulin levels in the cerebrospinal fluid: their value as a disease marker. A review of the recent literature.  
*Eur. Neurol.* 31 **1991**: 181-185
  
  19. Andersson M., Alvarez -Cermeño J., Bernardi G., Cogato I., Fredman P, Frederiksen J. ,et al.  
Cerebrospinal fluid in the diagnosis of MS: a consensus report  
*J Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 57**1994**: 897-902
  
  20. Andreasen N., Minthon L., Davidsson P., Vanmechelen E., Vanderstichele H., Winblad K., Blennow K.  
Evaluation of CSF – tau and CSF – abeta42 as diagnostic markers for Alzheimer disease in clinical practise.  
*Arch. Neurol.* 58 **2001**: 373-379
  
  21. Alarcon A., Garcia-Alix A., Cabanas F., Hernanz A., Pascual-Salcedo D        Martin-Ancel A., Cabrera M., Tagarro A., Quero J  
Beta-2 microglobulin concentrations in cerebrospinal fluid correlate with neuroimaging findings in newborns with symptomatic congenital cytomegalovirus infection .  
*Eur. J Pediatr* 165, **2006**: 636-645
  
  22. Amiel-Tison C., Grenier A.  
Neurological assessment during the first year of life.  
Oxford University Press, New York **1986**
  
  23. An S.F., Scaravilli F.  
Early HIV-1 infection of the central nervous systém.  
*Arch. Anat. Cytol. Pathol.* 45, **1997**: 94-105
  
  24. Abdulle S., Hagberg L., Svennerholm B., Fuchs D., Gisslen M.  
Continuing intrathecal immunoactivation despite two years of effective antiretroviral therapy against HIV –1 infection.  
*AIDS* 16, **2002**: 2145-2149
-

25. Aszkanazy BA  
Sarkoidosis of the central nervous system.  
J Neuropathol Exp Neurol. 11 **1992**: 392-400
  
  26. Baquero-Artigao F., Mendez A., del castillo F., Velazquez R.  
Cerebrospinal fluid beta 2- microglobulin values in perinatally acquired cytomegalovirus infection.  
Pediatr Infect Dis J 23, **2004**: 891-892
  
  27. Becker J.W. Reeke G.N.Jr.  
Three dimensional structure of beta 2 – microglobulin  
Proceedings of the National Academy of Sciences the USA 82 **1985**:4225-4229
  
  28. Bednářová J  
Cerebrospinal fluid profile in neuroborreliosis and its diagnostic significance  
Folia Microbiologica 51 **2006**: 599-491
  
  29. Bednářová J., Štourač P.  
Intrathecal synthesis of specific anti-Borrelia IgG antibodies and its role in diagnostics of neuroborreliosis  
Klin.Biochem.Metabol. 8 **2000**:219-223
  
  30. Bednářová J., Štourač P., Adam P.  
The diagnostic relevance of immunological variables in neuroborreliosis and multiple sclerosis  
Acta Neurol.Scand.12 **2005**:97-102
  
  31. Brew BJ, Halman M., Catalan J., Sacktor N., Price RW, Brown S.  
Atkinson H., Clifford DB, Simpson D., Torres G., Hall C., Power CH, Marder K., McArthur JC, Symonds W., Romero C.  
Factors in AIDS Dementia Complex Trial Design: results and Lessons from Abacavir Trial.  
Plos Clinical Trials 13, **2007**: 0001-0010
  
  32. Brew BJ, Pemberton L., Blennow K., Wallin A., Hagberg L.  
Cerebrospinal fluid amyloid beta 42 and tau levels correlate with AIDS dementia complex.  
Neurology 65, **2005**: 1490-1492
-

33. Brian M.Nolen,Lidiya S.Orlichenko,Adele Marrangoni,Liudomila Velikokhatnaya,Denise Prosser,et al.  
An Extensive Targeted Proteomic Analysis of Disease-Related Protein Biomarkers in Urine from Healthy Donors  
Plos One **2013**:Volume 8,Issue 5,e63368
34. Csuka E., Hans VH, Amman E., et al.  
Cell activation and inflammatory response following traumatic axonal injury in the rat.  
Neuroreport 11, **2000**: 2587-2590
35. Csuka E., Morganti-Kossmann MC, Lenzlinger PM, et al.  
IL – 10 levels in cerebrospinal fluid and serum of patients with severe traumatic brain injury:relationship to IL-6, TNF-alfa,TGF- beta1 and blood - brain barrier function.  
J. Neuroimmunol. 101, **1999**: 211-221
36. Cysique LA, Brew JB, Halman M., Catalan J., Sacktor N., Price RW, Brown S., Atkinson JH, et al.  
Undetectable Cerebrospinal Fluid HIV RNA and Beta – 2 Microglobulin Do Not Indicate Inactive AIDS  
Dementia Complex in Highly Active Antiretroviral Therapy – Treated Patients.  
J Acquir Immune Defic Syndr 39, **2005**: 426-429
37. Enting RH, Prins JM, Jurriaans S., Brinkman K., Portegies P., Lemge JMP  
Concentrations of Human Immunodeficiency Virus Type 1 / HIV –1/ RNA in Cerebrospinal Fluid after Antiretroviral Treatment Initiated during Primary HIV –1 Infection.  
HIV/AIDS 32, **2001**: 1095-1099
38. Enting RH, Foudraine NA, Lange JMA, Jurriaans S., Tom van der Poll, Weverling GJ, Portegies P.  
Cerebrospinal fluid beta 2-microglobulin, monocyte chemoattractant protein-1, and soluble tumour necrosis factor alpha receptors before and after treatment with lamivudine plus zidovudine or stavudine.  
J of Neuroimmunology 102, **2000**: 216-221
39. García-Alix A., Martín Ancel A., Ramos MT, Salas S., Pellicer A., Cabanas F., et al.  
Cerebrospinal fluid beta2-microglobulin in neonates with central nervous system infections.  
Eur Jpediatr 154, **1995**: 309-313
-

40. Gisslen M., Rosengren L., Hagberg L., Deeks SG, Price RW  
Cerebrospinal fluid sings of neuronal damage after antiretroviral treatment interruption in HIV-1 infection.  
AIDS Res Ther 2, **2005**: 6
41. Grey HM, Kubo RT, Colon SM, Poulik MD, Cresswell P., Springer T., Turner M., Strominger JL  
The small subunit of HLA – antigens is beta 2-microglobulin.  
J Exp Med 138, **1973**: 1608-1612
42. Guder W.G., Hofmann W.  
Clinical role of urinary low molecular weight proteins: their diagnostic and prognostic implications  
Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation 68 **2008**: 95-984
43. Hansson SF, Puchdes M., Blennow K., Sjogren M., Davidsson P.  
Validation of a prefractionation method followed by two-dimensional electrophoresis – Applied to cerebrospinal fluid proteins from frontotemporal dementia patients.  
Proteome Science 2, **2004**: 1-11
44. Heyes MP, Ellis RJ, Ryan L., Childers ME, Grant I., Wolfson T., Archibald T., Jernigan TL, and HNRC Group  
Elevated cerebrospinal fluid quinolinic acid levels are associated with region – specific cerebral volume loss in HIV infection.  
Brain 124, **2001**: 1033-1042
45. Holmin S., Soderlund J., Hansbrough JF, et al.  
Intracerebral inflammation after human brain contusions.  
Neurosurgery 42, 1998: 291-298
46. Hoyt DB, Ozkan AN, Hansbrough JF, et al.  
Head injury: an immunologic deficit in T – cell activation.  
J Trauma 30, **1990**: 759-766
47. Hybel'ová M., Svatoňová J., Sobek O., Adam P., Doležil D.  
Cerebrospinal fluid and serum prealbumin /transthyretin/ in patients with multiple sclerosis /MS/: comparison of particular subgroups of MS patients  
Folia Microbiologica 54, **2009**: 173-176
-

48. Jae Ho Kim,Sang Kwang Lee,Yong Cheol Yoo,Nam Hyun Park,et al.  
Proteome analysis of human cerebrospinal fluid as a diagnostic biomarker in patients with meningeoma  
Med Sci Monit,**2012**:450-460
49. Jaster JH, Dohan FC, Bertorini TE, et al.  
Solitary spinal cord sarcoidosis without other manifestations of systemic sarcoidosis.  
Clin Imaging 21, **1997**: 17-22
50. Jin-Young Kim,Seong-Cheol Park,Jong-Kook Lee,Sang Joon Choi,Kyung-Soo Hahm,Yoonkyung Park  
Novel Antibacterial Activity of Beta-2Microglobulin in Human Amniotic Fluid  
Plos One **2012**:Volume 7,Issue 11,e47642
51. Kawai M., Hirohata S.  
Cerebrospinal fluid beta 2-microglobulin in neuro-Behcet's syndrome.  
J of neurological Sciences 179, **2000**: 132-139
52. Kleine T.O.,Damm T.,Althaus H  
Quantification of beta 2-trace protein and detection of transferrin isoforms in mixtures of cerebrospinal fluid and blood serum as models of rhinorrhea and otorrhea diagnosis  
FreseniusJ.Anat.Chem. 366 ,**2000**:382-386
53. Leary S.M.,McLean B:N:, Thompson E.J.  
Local synthesis of IgA in the cerebrospinal fluid of patients with neurological diseases  
J. Neurol. 8 **2000**:609-615
54. Lemancewicz D., Bolkun L., Jablonska E., et al.  
The role of interleukin 17-A and interleukin-17 E in multiple myeloma patients  
Medical Science Monitor 18 **2012**:BR 54-BR 59
55. Lenzlinger PM, Hans VJH, Joller-Jemelka HI., Trentz O., Morganti-Kossmann MC, Kossmann T.  
Markers for Cell-Mediated Immune Response Are Elevated in Cerebrospinal Fluid and serum After Severe Traumatic Brain Injury in Humans.  
Journal of Neurotrauma, Vol.18,Number 5,**2001**:479 -486
-

56. Lindstrom AM, Hesse C., Rosengren L., Frenzman P., Davidsson P., Blennow K.  
Normal levels of clusterin in cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease, and no change after acute ischemic stroke.  
J Alzheimer's Dis. 3, **2001**: 435-442
57. Lodin Z.  
Inflammatory and autoimmune diseases of the nervous system: possibilities of laboratory diagnostic methods in cerebrospinal fluid  
Folia Microbiol. 48 **2003**:839-847
58. Lu X., Gibbs J.S., Hickmann H.D. et al.  
Endogenous viral antigen processing generates peptide-specific MHC class I cell-surface clusters  
Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 109 **2012**:15 407-15 412
59. Mangione P., Esposito G., Relini A., et al.  
Structure, folding dynamics and amyloidogenesis of D76N beta 2-microglobulin: roles of shear flow, hydrophobic surfaces and alpha-crystallin  
The Journal of Biological Chemistry 288 **2013**: 30917-30930
60. Martinez M., Frank A., Hernanz A.  
Relationship of interleukin 1-beta and beta 2-microglobulin with neuropeptides in cerebrospinal fluid of patients with dementia of the Alzheimer type.  
J Neuroimmunol. 48, **1993**: 235-240
61. Meluzínová E., Adam P., Bojar M.  
Findings in cerebrospinal fluid in patients with neuroborreliosis  
Clin. Biochem. Metab. **1997**: 12-14
62. Mulder C., Scheltens P., Schutgens R.B.H., et al  
Biochemical diagnosis of Alzheimer's disease  
Clinical Chemistry 46 **2000**: A 22 in 52<sup>nd</sup> AACC Annual meeting
63. Neiryck N., Sunny Eloit, Griet Glorieux, Daniela V. Barreto et al.  
Estimated Glomerular Filtration Rate Is a Poor Predictor of the Concentration of Middle Molecular Weight Uremic Solutes in Chronic Kidney Disease  
Plos one **2012**: Volume 7, Issue 8, e44201
-



64. Nolen B.M., Orlichenko L.S., marragoni A. et al.  
An extensive targeted proteomic analysis of disease-related protein biomarkers in urine from healthy donors  
Plos ONE , vol 8,no.5, Article ID e63368 **2013**
65. Nyamweya S., Townend J., Zaman A. ,et al.  
Are plasma biomarkers of imune activation predicitive of HIV progression: a lngitudinal comparison and analyses in HIV-1 and HIV-2 infections?  
PloS ONE , vol. 7 ,no 9 **2012**
66. Olsen N.J., Li Q.Z.,Quan J., Wang I.,Muttwaly A.,Karp D.R.  
Autoantibody profiling to follow evolution of lupus syndromes  
Arthritis research and therapy 14 **2012**: R174
67. Ott M., Demisch L., Engelhardt W., et al.  
Interleukin –2,souluble interleukin 2-receptor,neopterin, L-tryptophan and beta 2 – microglobulin levels in CSF and serum of patines with relapsing-remitting or chornic – progressive multiple sclerosis.  
J. Neurol. 241, **1993**: 108-114
68. Preiningerová J., Adam P.  
Evaluation of macrophagic elements in CSF cytology  
Clin. Biochem.Metabol. 4 **1995**: 34-35
69. Puchades M., Hansson SF, Nilsson CL, Andreassen N., Blennow K., Davidsson P.  
Proteomic studie of potential cerebrospinal fluid protein markers for Alzheimer’s disease.  
Molecular Brain Research 118, **2003**: 141-144
70. Racek P., Zeman D.  
Vyšetření mozkomíšního moku.  
Laboratorní diagnostika **2000**: 363-389
71. Reiber H.  
The discrimination between different blood-CSF barrier dysfunction and inflammatory reactions of the CNS by a recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid.  
J.Neurol 224, **1980**: 89-99
-

72. Reiber H., Thompson E.J., Grimsley G., Bernardi G., Adam P., Fredman P. et al.  
Quality Assurance for Cerebrospinal Fluid Protein Analysis: International Consensus by an Internet -Based Group Discussion  
Clin.Chem.Lab. Med. 41,**2003**:331-337
73. Sickmann A., Dormeyer W., Wortelkamp S., Woitalla D., Kuhn W., Meyer HE  
Towards a high resolution separation of human cerebrospinal fluid.  
J of Chromatography B 771, **2002**: 167-196
74. Saleh S., Saw Ch., Marzouk K., Sharma O.  
Sarcoidosis of the Spinal Cord: Literature Review and report of Eight Cases.  
J of the national med Association 98, **2006**: 965-975
75. Schwarcz AM, Kohler C.  
Differential vulnerability of central neurons of the rat to quinolinic acid.  
Neurosci Lett 38, **1983**: 85-90
76. Sobek O., Adam P., Koudelková M., Štourač P., Mareš J  
Algoritmus vyšetření likvoru v návaznosti na doporučení Sekce neuroimunologie a likvorologie České neurologické společnosti JEP  
Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie vol.75,**2012**:159-163
77. Sonnerborg AB, Von Stedingk LV, Hansson LO, et al.  
Elevated neopterin and beta 2-microglobulin levels in blood and cerebrospinal fluid occur early in HIV-1 infection.  
AIDS 3, **1989**: 277-283
78. Starmans JJ, Vos J., Van der Helm HJ  
The beta 2-microglobulin content of the cerebrospinal fluid in neurological disease.  
J. Neurol Sci 33, **1977**: 45-49
79. Svatoňová J.  
Critical evaluation of the biological role of IgM in cerebrospinal fluid in inflammatory and other diseases of nervous system  
Folia microbiologica 51, **2006**:489-491
80. Svatoňová J., Bořecká K., Adam P., Lánská V.  
Beta 2-Microglobulin as a diagnostic marker in cerebrospinal fluid: A follow up study  
Disease Markers **2014**,6 pages
-

81. Štourač P., Ambler Z.  
Vyšetření mozkomíšního moku.  
In: Ambler Z., Bednařík J., Růžička E. a kol.  
Klinická neurologie  
Triton **2004**: 647-678
82. Štourač P.  
Oligoclonal IgG synthesis in autoimmune neurological paraneoplastic syndromes  
Clin.Biochem.Metabol. 8(29) **2000**:224-228
83. Tagarro A., Garcia–Alix A., Alarcón A., Hernanz A., Quero J.  
Congenital syphilis: beta 2 – microglobulin in cerebrospinal fluid and diagnosis of neurosyphilis in an affected newborn.  
J Perinat. Med. 33, **2005**: 79-82
84. Takahashi S., Oki J., Miyamoto A., Moriyama T., Asana A., Inyaku F., Okuno A.  
Beta – 2 microglobulin and ferritin in cerebrospinal fluid for evaluation of patients with meningitis of different etiologies.  
Brain and development 21, **1999**: 192-199
85. Tenhunen R., Iivanainen M., Kovanen J.  
Cerebrospinal fluid beta 2-microglobulin in neurological disorders.  
Acta Neurol.Scand 58, **1978**: 366-373
86. Vincente V., González M., López Borrasca A.  
Cerebrospinal fluid levels beta 2 microglobulin and ferritin in lymphoproliferative disorders.  
Acta PaediatrScand 71, **1982**: 325-326
87. Yilmaz A., Fuchs D., Hagberg L., Nillroth U., Stahle L., Svensson JO, Gisslén M.  
Cerebrospinal fluid HIV-I RNA, intrathecal immunoactivation, and drug concentrations after treatment with a combination of saquinavir, nelfinavir, and two nucleoside analogues : the M61022 study.  
BMC Infectious Diseases 6, **2006**: 1-8
88. Zeman D., Adam P., Kalistová H., Sobek O., Anděl J., Anděl M.  
Cerebrospinal fluid cytological findings in multiple sclerosis : a comparison between patient subgroups  
Acta Cytol. 45 **2001**: 51-59
-

89. Zhang J., Goodlett DR, Montine TJ  
Proteomic biomarker discovery in cerebrospinal fluid for neurodegenerative diseases.  
J of Alzheimer's Disease 8, **2005**: 377-389