

Cytologie mozkomíšního moku v diagnostice neurologických chorob

RNDr. Kateřina Klíčová

Neurologická klinika FN a LF UP Olomouc

Analýza mozkomíšního moku představuje důležitou součást diagnostiky řady chorob a je využívána napříč mnoha lékařskými obory. Změny, které probíhají v centrální nervové soustavě, se odráží ve složení mozkomíšního moku. Za účelem analýzy likvoru je využíváno široké spektrum laboratorních metod, jednou z nich je i analýza cytologická. Cytologie likvoru umožňuje v poměrně krátkém časovém úseku a s běžnými prostředky získat cenné informace o procesech odehrávajících se v centrální nervové soustavě vyšetřovaného pacienta. Kvantitativní i kvalitativní cytologie je jednoduchá a technicky nenáročná metoda, je však zapotřebí zkušeného cytologa.

Klíčová slova: mozkomíšní mok, cytologie, historie.

Cerebrospinal fluid cytology in the diagnosis of neurological diseases

Cerebrospinal fluid analysis is an important part of the diagnosis of many diseases and is used across many medical disciplines. The changes that take place in the central nervous system are reflected in the composition of the cerebrospinal fluid. A wide range of laboratory methods is used for cerebrospinal fluid analysis, one of which is cytological analysis. Cerebrospinal fluid cytology makes it possible to obtain valuable information about the processes taking place in the central nervous system of the examined patient in a relatively short period of time and with common means. Quantitative and qualitative cytology is a simple and technically undemanding method, but an experienced cytologist is needed.

Key words: cerebrospinal fluid, cytology, history.

Úvod

Analýza mozkomíšního moku má nezapomenutelnou roli v diagnostice řady poruch centrální nervové soustavy (CNS) – od zánětů, autoimunitních onemocnění, subarachnoidálního krvácení až po nádorové infiltrace CNS. Kvalitativní a kvantitativní cytologie má svá specifika, především v preanalytické fázi, tj. zejména nutnost rychlého zpracování a limitovaný objem vzorku. Avšak při dodržení postupů a v kontextu s paralelním vyšetřením může zásadním způsobem přispět ke stanovení diagnózy patologických stavů v CNS.

Mozkomíšní mok je většinou málo buněčný biologický materiál. V cytologii likvoru se

nejčastěji setkáváme s mononukleáry – lymfocyty a monocyty, které jsou přítomny až v 80 % případů. U některých diagnóz je cytologický obraz typický. Jedná se např. o purulentní (hnisavý) zánět, kde pozorujeme charakteristickou záplavu neutrofilních granulocytů. Počet buněk je při této diagnóze vysoký – jedná se o stovky, tisíce až desetitisíce polymorfonukleárů s cca 90% převahou nad mononukleáry. U hnisavých zánětů je stěžejní včasná diagnostika. Kromě výrazně zvýšených hodnot proteinorachie a nízké glykorachie dochází také k výrazným metabolicko-energetickým změnám s rozvojem anaerobního metabolismu. U serózního zá-

nětu pozorujeme v cytologickém preparátu převahu lymfocytů. U ostatních biochemických parametrů se setkáváme pouze se zvýšenou proteinorachií, hodnoty glykorachie jsou normální. Při subarachnoidálním krvácení pozorujeme erytrofágy a hemosiderofágy, přičemž hemosiderofágy jsou typické pro starší krvácení. Pozorujeme produkty rozpadu hemoglobinu – fialové hrudky hemosiderinu a žluté krystaly hematoidinu. U čerstvého krvácení pozorujeme erytrofágy. Stěžejním biochemickým vyšetřením pro analýzu krvácení je spektrofotometrie, kterou je nutné provést co nejrychleji po odběru (Zeman, 2018).



RNDr. Kateřina Klíčová
Neurologická klinika FN a LF UP Olomouc
katerina.bucilova@fnol.cz

Cit. zkr: *Neurol. praxi.* 2023;24(3):227-230

Článek přijat redakcí: 4. 6. 2022

Článek přijat k publikaci: 11. 9. 2022

Nádorová onemocnění představují jednoznačně nejnáročnější problematiku cytologie mozkomíšního moku. Pro následnou léčbu nádorového procesu je klíčové potvrzení nádorové buněčné populace v mozkomíšním moku. Méně než 10 % primárních nádorů CNS metastazuje likvorovými cestami a způsobuje neurologické příznaky (DeAngelis, 1998). Nádorové buňky vykazují celou řadu typických morfologických znaků. K obvykle uváděným kritériím patří především polymorfie buněk, polymorfie jader, četná jádérka, velké buňky, vícejaderné elementy, značná velikost jader oproti objemu cytoplazmy, časté mitózy a bazofilie cytoplazmy. Maligní elementy se v likvoru objevují v přítomnosti metastáz do mozku či do páteřního kanálu. Méně častým nálezem jsou maligní elementy v likvoru u primárních nádorových procesů CNS. U některých karcinomů bez metastáz je také možné zachytit ojediněle nádorové buňky. Abychom zjistili, o jaký typ nádoru se jedná, musí být vzorek podroben dalšímu imunocytochemickému vyšetření za účelem specifické analýzy pro přesnější detekci. Bližší diagnostika je možná při použití specifických monoklonálních protilátek (Dušková et Sobek, 2017).

Historie objevu mozkomíšního moku

O existenci tekutiny, která obklopuje mozek, věděli lékaři již ve starověku, avšak první, kdo pravděpodobně objevil mozkomíšní mok, byl egyptský lékař Imhotep 3000 let př. n. l. V letech 460–375 př. n. l. popsal Hippokrates „vodu“ obklopující mozek. Zřejmě z důvodu specifického způsobu provádění pitvy neměli lékaři možnost zkoumat mozkomíšní mok až do 16. století. Důkazy o existenci mozkomíšního moku jsou připisovány Emanuelu Swedenborgovi (1688–1772). Své poznatky a vyjádření shrnul v rukopise, pro který však nenašel vydavatele. Rukopis byl objeven ve Stockholmu o jeden a půl století později, obsahoval komentáře k subarachnoidálnímu prostoru a arachnoidální membráně (Hajdu, 2003).

Další důležitá osoba spjatá s historií objevu mozkomíšního moku je německý profesor Heinrich Irenaeus Quincke (1842–1922), který provedl lumbální punkci u pacienta s hydrocefalem v roce 1891. Zabýval se také složením

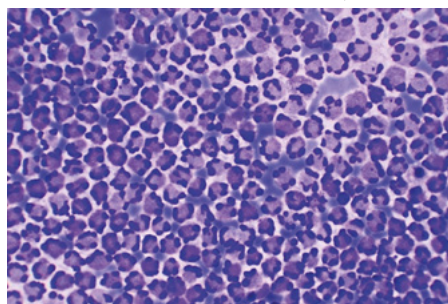
mozkomíšního moku, ve kterém stanovil počet buněk, celkovou bílkovinu a přítomnost bakterií. První úplný popis chemického složení likvoru byl poskytnut v roce 1911, což bylo asi o 20 let později od prvního Quinceho popisu, lékařem a chemikem Williamem Mestrezatem (1883–1928). První významná diagnostická hodnota biochemické analýzy likvoru byla navržena v roce 1893 Ludwigem Lichtheimem (1845–1928), který zaznamenal, že hladina glukózy je snižena u bakteriální a tuberkulózní meningitidy. Později s rozvojem mikrobiologie a zlepšováním technik barvení se diagnostika neustále vyvíjela (Cozanitis, 2012; Marsala et al., 2015; Sourkers, 2002).

Cytologické nálezy v mozkomíšním moku

Purulentní záněty

Purulentní meningitida (PM) je akutní infekční život ohrožující onemocnění CNS. Zavedením sulfonamidů a antibiotik do léčebné praxe dramaticky poklesla smrtnost tohoto onemocnění. Přesto 15–30 % pacientů má smrtelný průběh a přibližně stejný podíl pacientů je poznamenán trvalými následky. Incidence je 2–6 případů na 100 tisíc obyvatel. Mezi příznaky purulentní meningitidy patří bolest hlavy, horečky, zvracení, meningeální příznaky a porucha vědomí. K nejčastějším původcům se řadí *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* a *Haemophilus influenzae* typ b. Charakteristický cytologický nález v likvoru svědčící pro PM zahrnuje stovky, tisíce až desetitisíce polymorfonukleárních cca 90% převahou nad mononukleáry (Obr. 1). Likvor je opalescentní, zakalený a charakteristická je vysoká proteinorachie (nad 1 g/l), nízká glykorachie (často pod 2 mmol/l) a elevace laktátu (Džupová et al., 2010; Havránek et al., 2009). Diagnostický proces u PM musí být

Obr. 1. Obraz purulentní meningitidy

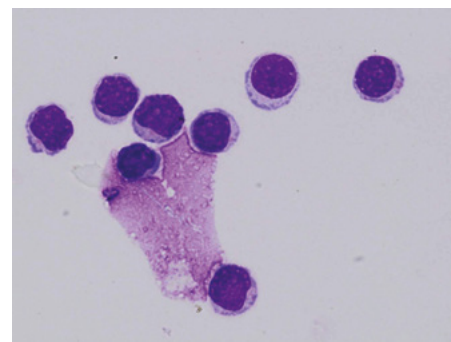


rychlý a empirická antibiotická léčba by měla být zahájena ihned při podezření na PM (Rožnovský, 2013). PM se zřídka vyskytuje také u nejmladších věkových skupin, u kterých dochází k častým komplikacím a mortalita je vysoká. V případě přežití se setkáváme s trvalým neurologickým postižením, jako je např. porucha hybnosti, hydrocefalus, psychomotorické postižení, poruchy sluchu atd. (Blechová, 2006).

Serózní záněty

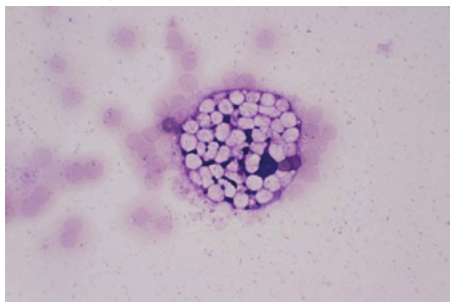
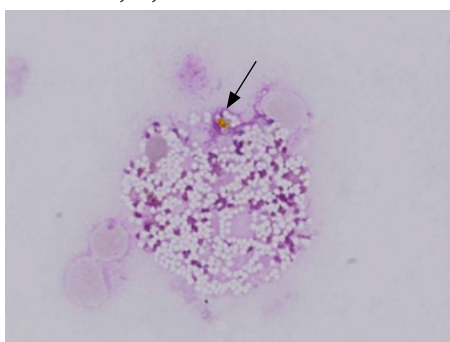
S nehnisavými neboli serózními záněty CNS se setkáváme častěji než s PM. Na rozdíl od PM nemají až na výjimky velkou úmrtnost, avšak následky mohou být také velmi závažné. Většina nehnisavých zánětů je virového původu, výjimkou však není ani bakteriální (*Borelia burgdorferi*) nebo velmi vzácné parazitární etiologie. Průběh nehnisavých neuroinfekcí nebývá tak dramatický jako u hnisavých neuroinfekcí. Při laboratorním vyšetření likvoru se setkáváme s proteinocytologickou asociací. V cytologickém preparátu pozorujeme převahu lymfocytů (Obr. 2). V základním vyšetření likvoru je většinou lehce zvýšená bílkovina, hladina glukózy je normální (Roháčková, 2006).

Obr. 2. Obraz serózního zánětu



Subarachnoidální krvácení

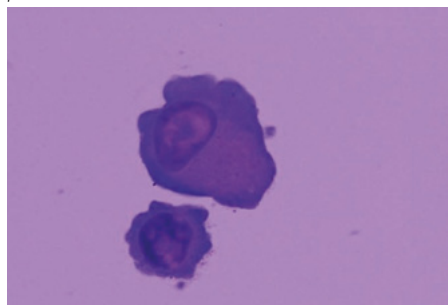
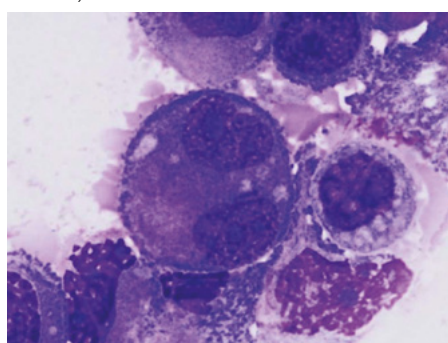
Subarachnoidální krvácení (SAK) je život ohrožující stav, jehož nejčastější příčinou je ruptura aneurysmatu. S traumatickým SAK se setkáváme při kontuzi mozku. K častým příznakům patří náhle vzniklá bolest hlavy a porucha vědomí. V analýze mozkomíšního moku je důležité odlišit SAK od arteficiální příměsi erytrocytů. Důležité je také spektrofotometrické vyšetření, které musí být provedeno co nejrychleji po odběru. V praxi je doporučeno, aby byl vzorek doručen do laboratoře tak rychle, jak je to možné, a měl by

Obr. 3. Erytrofág – čerstvé krvácení**Obr. 4.** Hemosiderofág – starší krvácení (šipkou označen žlutý krystal hematooidinu)**Obr. 5.** Buňka tvaru pečetního prstenu – může dosahovat velikosti až 100 µm, bazofilní lem, světlá cytoplazma a periferně uložené jádro

být zcentrifugován maximálně do hodiny po odběru. Po 4–6 hod. po průniku krve do subarachnoidálního prostoru dochází k aktivaci monocytů a následné fagocytóze erytrocytů. Nález erytrofágů v cytologickém preparátu svědčí pro recentní SAK (Obr. 3). Následně makrofágy degradují hemoglobin na hemosiderin, který je přítomen od 4.–5. dne od počátku SAK a může být přítomen i po několika týdnech. Hematogenní pigment hematooidin může být přítomen od 14. dne a tvoří typické žluté krystaly (Obr. 4) (Kalina, 2011; Brož et al., 2013).

LITERATURA

1. Blechová Z. Hnisavé meningitidy nejmladších věkových skupin. *Neurol. praxi.* 2006;3:131–133.
2. Brož P, Ženková J, Řezáčová K. Vyšetření mozkomíšního moku v diagnostice subarachnoidálního krvácení. *Klin Biochem Metab.* 2013;21(42):220–225.
3. Cozanitis DA. Heinrich Irenaeus Quincke (1842–1922): The Nobel Prize but for the problem of age. *Presse Med.* 2012;42(Pt 1):464–470.

Obr. 6. Nádorové buňky (diagnóza – karcinom prsu)**Obr. 7.** Nádorové buňky (diagnóza – karcinom žaludku)

Cytologie v diagnostice roztroušené sklerózy

U pacientů s roztroušenou sklerózou (RS) bývá přítomna lehká lymfocytárně-monocytární pleocytóza $6-10 \times 10^6/l$. V cytologickém preparátu nacházíme kromě klidových forem lymfocytů a monocytů také tyto elementy se známkami aktivace, plazmatické buňky a velmi vzácně buňky tvaru pečetního prstenu (Obr. 5). Plazmatické buňky jsou posledním stupněm vývoje B-lymfocytů produkujícím protilátky. V období ataky se můžeme setkat v menší míře i s neutrofilními a eozinofilními granulocyty. Diagnózu demyelinizace však nevylučuje ani normální cytologický obraz (Sobek, 2017; Sládková et Mareš, 2015).

Ve výzkumu Zemana et al. (2001) byly zjištěny také další statisticky významné nálezy v cytologii u různých podskupin RS. Jednalo se například o vyšší prevalenci lipofágů a lymfocytů a nižší prevalenci pleocytózy v CSF u těžce postižených pacientů. U léčených pacientů

byl nalezen nižší počet buněk, nižší prevalence pleocytózy v CSF, nižší poměr lymfocytů/monocytů. U pacientů RS s onemocněním delšího trvání byla vyšší prevalence zralých plazmatických buněk a lipofágů (Zeman et al., 2001).

Cytologie v diagnostice nádorů

Kvalitativní cytologie likvoru přispívá k časné diagnóze a následné léčbě nádorové infiltrace CNS. I přes rychlý rozvoj zobrazovacích metod má stanovení přítomnosti nádorových buněk v mozkomíšním moku svůj význam. Klasická morfologie bývá doplněna metodami imunohistochemie s použitím monoklonálních protilátek proti nádorovým antigenům, popř. metodami molekulární genetiky. Vzhledem k původu jsou cytologické nálezy s nádorovými buňkami rozdělovány na primární a metastazující nádory a dále nádorové metastazující buňky na metastázy solidních tumorů a metastázy hematologických onemocnění. Schopnost nádorových buněk separovat se a migrovat do likvoru závisí na stupni malignity, na přítomnosti limitujících faktorů v transportních cestách a na lokálních podmínkách (Štourač et al., 2009). Důležitá cytologická kritéria maligních buněk jsou abnormální velikost s polymorfními jádry, viditelná jadérka, atypická mitóza, vysoký poměr jádro – cytoplazma, intenzivně bazofilní cytoplazma (Obr. 6, 7) (Torzewski et Lackner, 2016).

Závěr

Cytologie mozkomíšního moku má svou nezastupitelnou roli v diagnostice některých onemocnění. Cytologická analýza likvoru představuje zlatý standard každé likvorové laboratoře. Spolehlivá likvorová diagnostika však není postavena pouze na určení hodnot jednoho či více laboratorních parametrů, ale úspěšně ji lze provádět pouze na základě znalosti podstaty procesů odehrávajících se za příslušných okolností v CNS (Dušková et Sobek, 2018).

logické, klinické a laboratorní charakteristiky purulentní meningitidy u dospělých pacientů. *Klin Mikrobiol Inf Lek.* 2010;16(2):61–67.

8. Hajdu SI. A note from history: Discovery of the cerebrospinal fluid. *Ann Clin Lab Sci.* 2003;33(3):334–336.

9. Havránek J, Schejbalová M, Dedek V, et al. Purulentní meningitidy v dětském věku. *Pediatr. praxi.* 2009;10(1):20–24.

10. Kalina M. Příčiny, klinický obraz a diferenciální diagnos-

tika spontánního intracerebrálního krvácení. *Neurol praxi.* 2011;12(2):80-83.

11. Marsala SZ, Gioulis M, Pistacchi M. Cerebrospinal fluid and lumbar puncture: the story of a necessary procedure in the history of medicine. *Neurol Sci.* 2015;36(6):1011-1015.

12. Roháčková H. Hnisavé a nehnisavé záněty centrální nervové soustavy. *Neurol. praxi.* 2006;3:128-130.

13. Rožnovský L. Neuroinfekce v intenzivní péči. *Neurol. praxi.* 2013;14(5):252-256.

14. Sládková V, Mareš J. ZAM zdravotnictví a medicína (online), 2015. <https://zdravi.euro.cz>.

15. Sobek O. Doporučené postupy, indikace a možnosti likvorové diagnostiky u roztroušené sklerózy a optické neuromyelitidy. *Multiple Sclerosis News.* 2017;3(1):6-11.

16. Sourkars TL. William Mestrezat (1883–1928): Oenologist, physician, neurochemist. *J Med Biogr.* 2002;10(3):141-145.

17. Štourač P, Bednářová J, Čermáková Z. Význam cytologie mozkomíšního moku v diagnostice nádorových onemoc-

nění nervového systému. *Neurol praxi.* 2009;10(5):294-296.

18. Torzewski M, Lackner K. Cerebrospinal fluid cytology: a highly diagnostic method for the detection of diseases of the central nervous system. *Laboratoriums Medizin.* 2016;40(3):1-7.

19. Zeman D, Adam P, Kalistová H, et al. Cerebrospinal fluid cytologic findings in multiple sclerosis. A comparison between patient subgroups. *Acta Cytologica.* 2001;45(1):51-59.

20. Zeman D. Praktický průvodce laboratorním vyšetřením likvoru. Univerzita Palackého v Olomouci, 2018.