

# Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego w stwardnieniu rozsianym

Anna Jurewicz

Katedra i Klinika Neurologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

## STRESZCZENIE

Nowe kryteria rozpoznawania stwardnienia rozsianego, opublikowane w 2001 roku, uwzględniają badanie płynu mózgowego. Dotychczasowe kryteria obejmują te zmiany, które są niezależne od aktywności procesu zapalnego. Obecnie prowadzi się badania w poszukiwaniu wskaźników w płynie mózgowo-rdzeniowym, które dostarczałyby informacji o aktywności procesu zapalnego i służyły do oceny efektywności leczenia. Nowe są także wskaźniki uszkodzenia bariery krew-mózg, demielinizacji, neurodegeneracji i neuroregeneracji.

**Słowa kluczowe:** stwardnienie rozsiane, płyn mózgowo-rdzeniowy, prążki oligoklonalne, indeks IgG

## Kryteria McDonald'a i badanie płynu mózgowo-rdzeniowego

Mimo że kryteria McDonald'a [1] rozpoznania stwardnienia rozsianego (SM, *sclerosis multiplex*) na podstawie badań obrazowych określono bardzo dokładnie i pozwalają one na ocenę „rozszania” procesu w czasie i przestrzeni w postaciach subklinicznych, to badanie płynu mózgowo-rdzeniowego umożliwia ocenę procesu zapalnego chociaż jego kryteria nie są tak ściśle zdefiniowane. W badaniach płynu mózgowo-rdzeniowego nie stwierdzono do tej pory zmian patognomicznych dla SM, jakkolwiek u znacznej większości chorych występuje charakterystyczny profil zmian w tym zakresie. Zgodnie z kryteriami McDonald'a bada-

nie płynu mózgowo-rdzeniowego jest konieczne, aby potwierdzić rozpoznanie SM, jeśli wystąpiły dwa rzuty choroby, objawy kliniczne pochodzą z jednego ogniska, a obraz rezonansu magnetycznego (MRI, *magnetic resonance imaging*) nie spełnia kryteriów Barkhoffa lub wystąpił tylko jeden rzut choroby i obraz MRI nie spełnia kryteriów Barkhoffa. Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego jest o tyle ważniejsze, że dostępne leczenie SM tylko spowalnia przebieg choroby i wcześniejsze wprowadzenie go (po pierwszym incydencie neurologicznym) może zapewnić dłuższy okres skąpoobjawowy — dłuższy okres lepszego komfortu życia chorych.

## Synteza IgG w obrębie OUN i prążki oligoklonalne

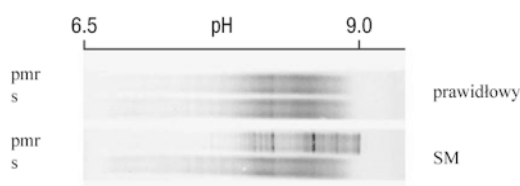
Płyn mózgowo-rdzeniowy jest wytwarzany w splotach naczyniówkowych układu komorowego mózgu, a wchłaniany głównie w obrębie kosmków pajęczynówki. Bariera krew-płyn mózgowo-rdzeniowy jest mniej szczelna niż bariera krew-mózg, co umożliwia przenikanie białek na drodze dyfuzji lub aktywnego transportu. Albumina jest białkiem płynu mózgowo-rdzeniowego wytwarzanym tylko w wątrobie. Pozwala to na wykorzystanie porównania jej stężeń w płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy jako wskaźnika szczelności/uszkodzenia bariery krew-mózg. Prawidłowe stężenie albuminy w płynie mózgowo-rdzeniowym wynosi 34 mg/dl. Wskaźnik wyrażający stosunek stężenia albuminy w płynie mózgowo-rdzeniowym do stężenia w surowicy zależy od wieku i wynosi odpowiednio: 5,0 (u osób < 15 rż.), 6,5 (u osób

**Adres do korespondencji:** dr med. Anna Jurewicz  
Katedra i Klinika Neurologii Uniwersytetu Medycznego  
ul. Kopcińskiego 22, 90-153 Łódź  
e-mail: ajur@afazja.am.lodz.pl  
Polski Przegląd Neurologiczny 2005, tom 1, 3, 114-117  
Wydawca: Wydawnictwo Via Medica

między 16. a 40. rż.), 8 (u osób między 40. a 60. rż.) i 8–9 (u osób > 60. rż.) i oblicza się go według wzoru:  $(\text{Alb}_{\text{pmr}}/\text{Alb}_{\text{sur}}) \times 1000$  [2]. Niektóre choroby neurologiczne, takie jak zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, neuroborelioza i zespół Guillain-Barré, prowadzą do uszkodzenia bariery krew–płyn mózgowo-rdzeniowy. Powoduje to zwiększenie jej przepuszczalności, prowadzące do podwyższenia stężenia białek, w tym również immunoglobulin. Stężenie immunoglobulin w płynie mózgowo-rdzeniowym w warunkach prawidłowych zależy od przepuszczalności bariery krew–mózg, stężenia immunoglobulin we krwi oraz ich wchłaniania i metabolizmu w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Podwyższone stężenie immunoglobulin w płynie mózgowo-rdzeniowym może wynikać ze wzmożonej przepuszczalności bariery krew–mózg, ale także ze zwiększonego stężenia we krwi, zmniejszonego wchłaniania lub również może być spowodowane wewnątrzpłynową syntezą immunoglobulin przez komórki plazmatyczne, nieobecne w prawidłowym płynie mózgowo-rdzeniowym. W czasie procesu zapalnego w SM limfocyty B przenikają przez barierę krew–mózg, przekształcając się w obrębie OUN w komórki plazmatyczne, produkujące immunoglobuliny, co prowadzi do wewnątrzpłynowej syntezy i zwiększenia stężenia immunoglobulin w płynie mózgowo-rdzeniowym. Aby potwierdzić wewnątrzpłynową syntezę immunoglobulin, należy wykluczyć inną przyczynę ich podwyższonego stężenia. Stężenie immunoglobulin powyżej 8 mg/dl występuje u 89% pacjentów z SM, ale może mieć znaczenie tylko przy prawidłowym ich stężeniu we krwi [2]. Przy zmienionych stężeniach immunoglobulin w surowicy o wewnątrzpłynowej syntezie immunoglobulin świadczy podwyższony indeks IgG, uwzględniający pozapłynową syntezę immunoglobulin; oblicza się go według wzoru:

$$\text{Indeks IgG} = [\text{IgG}_{\text{pmr}}/\text{IgG}_{\text{s}}]/[\text{Alb}_{\text{pmr}}/\text{Alb}_{\text{sur}}]$$

Prawidłowy indeks IgG wynosi poniżej 0,72, a wartości powyżej 0,72 świadczą o wewnątrzpłynowej syntezie immunoglobulin. Wartości indeksu IgG przekraczające 0,72 występują u ponad 73% pacjentów z SM [2]. Mimo często podwyższonego indeksu IgG w tym schorzeniu, uważa się, że jest to mniej czuły wskaźnik niż występowanie prążków oligoklonalnych immunoglobulin w płynie mózgowo-rdzeniowym. Ich obecność świadczy o stymulacji niektórych limfocytów B i toczącym się procesie zapalnym, chociaż nie charakteryzują



**Rycina 1.** Rozdział białek płynu mózgowo-rdzeniowego (pmr) i surowicy (s) poprzez ogniskowanie izoelektryczne. Rozdział prawidłowy bez prążków oligoklonalnych i prążki oligoklonalne obecne w płynie mózgowo-rdzeniowym, ale nie w surowicy; synteza wewnątrzpłynowa — przewlekły proces zapalny w obrębie OUN (SM) [3]

one rodzaju samego zapalenia. Uznana najczulszą metodą oceny występowania prążków oligoklonalnych jest ogniskowanie izoelektryczne na żelu agarozowym (ryc. 1) [4]. U 98% chorych na stwardnienie rozsiane stwierdza się występowanie prążków oligoklonalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym. Jest to charakterystyczne dla danego pacjenta i nie zmienia się w czasie choroby, a także w trakcie leczenia i nie może służyć do oceny jego skuteczności. Ocenia się również produkcję specyficznych przeciwciał przeciwko odrze, różyczce i *herpes zoster* w płynie mózgowo-rdzeniowym, określając indeks przeciwciał przeciwko danemu patogenowi (IgG płynu mózgowo-rdzeniowego/IgG surowicy). Indeks powyżej 1,5 świadczy o wewnątrzpłynowej syntezie przeciwciał przeciwko danemu patogenowi. W SM obserwuje się wewnątrzpłynową syntezę przeciwciał przeciwko różyczce, odrze i *herpes zoster* u 94% chorych. U chorych na SM stwierdza się również wewnątrzpłynową syntezę IgA i IgM, choć są to dość rzadkie przypadki. Natomiast dominująca synteza IgA lub IgM w płynie mózgowo-rdzeniowym powinna budzić wątpliwości co do rozpoznania stwardnienia rozsianego.

### Badanie osadu płynu mózgowo-rdzeniowego

W osadzie płynu mózgowo-rdzeniowego u chorych na SM stwierdza się prawidłową lub nieznacznie podwyższoną pleocytozę (< 30 komórek/ $\mu$ l). Komórki obecne w płynie mózgowo-rdzeniowym u pacjentów z SM to przede wszystkim limfocyty T, pobudzone limfocyty B i komórki plazmatyczne. Komórki plazmatyczne stwierdza się w płynie mózgowo-rdzeniowym 79% chorych na stwardnienie rozsiane.

### Wskaźniki aktywności procesu zapalnego w płynie mózgowo-rdzeniowym

Wyniki powyższych badań są powszechnie uznane w diagnostyce SM, mimo że ich charakter

**Tabela 1. Procesy zachodzące w OUN w przebiegu stwardnienia rozsianego i ocena ich aktywności na podstawie badania płynu mózgowo-rdzeniowego**

Proces zachodzący w OUN	Wskaźniki mierzone w płynie mózgowo-rdzeniowym
Zapalenie	Chemokiny, cytokiny, receptory dla cytokin, molekuly adhezyjne, immunoglobuliny, składniki komplementu, limfocyty T i B, plazmocyty
Uszkodzenie bariery krew-płyn mózgowo-rdzeniowy	Metaloproteazy i ich inhibitory
Demielinizacja	MBP, PLP, MOG, MAG
Neurodegeneracja	Białko <i>tau</i> , białko 14-3-3, neurofilamenty, enolaza specyficzna dla neuronów
Glioza	GFAP, S-100
Neuroregeneracja	CNTF, BDNF, NT3, N-CAM

OUN — ośrodkowy układ nerwowy; MBP (*myelin basic protein*) — podstawowe białko mielin; PLP (*proteolipid protein*) — białko proteolipidowe; MOG (*myelin oligodendrocyte glycoprotein*) — mielinowa glikoproteina oligodentocytów; MAG (*myelin-associated glycoprotein*) — glikoproteina związana z mieliną; GFAP (*glial fibrillary acidic protein*) — glejowe włóknienkowe białko kwaśne; CNTF (*ciliary neurotrophic factor*) — rzęskowy czynnik neurotroficzny; BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) — czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego; NT3 (*neurotensin 3*) — neurotensyna 3; N-CAM (*neural cell adhesion molecule*) — cząsteczka przylegania międzykomórkowego typu neuronalnego

jest niezmienny i na ich podstawie nie można oceniać aktywności procesu ani stopnia uszkodzenia OUN. W tym celu próbuje się wprowadzać zarówno badania stężenia różnych wskaźników zapalenia w płynie mózgowo-rdzeniowym (tab. 1), jak i uszkodzenia komórek OUN. Do oceny aktywności procesu zapalnego wykorzystuje się ocenę stężeń cytokin prozapalnych i ich receptorów (takich jak: IL-2, IL-12, IL-6, receptory dla IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), cytokin hamujących proces zapalny (IL-10, TGF- $\beta$ ), a także ocenę stężeń molekuł adhezyjnych (ICAM-1, VCAM-1) i metaloproteaz (MMP-9). Ostatnio opisano występowanie oligoklonalnych przeciwciał klasy IgM rozpoznających antygeny lipidowe, co ma wskazywać na zwiększone ryzyko wystąpienia rzutu choroby oraz na jej cięższy przebieg [5]. Natomiast u osób po pierwszym izolowanym incydencie neurologicznym (CIS, *clinically isolated syndrome*) występowanie przeciwciał przeciwko MBP i MOG w płynie mózgowo-rdzeniowym wiązało się z 95-procentowym prawdopodobieństwem wystąpienia drugiego rzutu choroby [6]. Wskaźnikiem demielinizacji jest obecność MBP i jego fragmentów w płynie mózgowo-rdzeniowym, mimo że nie jest to charakterystyczne dla SM. Również niejednoznaczne są wyniki dotyczące przeciwciał przeciwko innemu składnikowi mielin OUN — Nogo A [7]. Stężenie MBP jest podwyższone szczególnie w okresie rzutu choroby i utrzymuje się przez około 6 tygodni od jego wystąpienia. Mimo to do tej pory nie udało się opracować ilościowych testów do oceny stężenia MBP w płynie mózgowo-rdzeniowym [8].

### Wskaźniki uszkodzenia komórek OUN i procesów naprawczych

Jako wskaźniki demielinizacji wykorzystywana jest również obecność przeciwciał rozpoznających antygeny mielinowe, takich jak MOG, PLP i MBP (tab. 1). Do oceny procesów remielinizacji wykorzystuje się ocenę stężeń czynników wzrostowych: CNTF, BDNF, NT-3, NGF. Stwierdzono podwyższone stężenia N-CAM i CNTF w płynie mózgowo-rdzeniowym u chorych na SM po wystąpieniu rzutu choroby, ale nie udowodniono bezpośredniego związku zwiększonych stężeń tych molekuł z procesami naprawczymi w OUN [9]. Wskaźnikami aktywności/uszkodzenia astrocytów są białka GFAP i S-100b. Opisano zależność między stopniem niesprawności w skali *Expanded Disability Status Score* (EDSS) a stężeniem białka GFAP w płynie mózgowo-rdzeniowym [10]. W ostatnich latach zwrócono uwagę na uszkodzenie aksonów, które prawdopodobnie odpowiada za stopień niesprawności chorych na SM. Wskaźnikami neurodegeneracji mogą być enolaza specyficzna dla neuronów, białka neurofilamentów, białko *tau* i białko 14-3-3 [11]. Stwierdzono związek podwyższonego stężenia białka *tau* w płynie mózgowo-rdzeniowym chorych na SM z występowaniem wzmacniających się zmian w badaniu MRI, co przemawia za możliwością wykorzystania tego białka jako wskaźnika uszkodzenia aksonalnego.

### Inne choroby demielinizacyjne

W innej chorobie demielinizacyjnej — ostrym rozsianym zapaleniu mózgu i rdzenia (ADEM, *acute*

*disseminated encephalomyelitis*) oraz w chorobie Marburga stwierdza się podwyższone stężenia białka w płynie mózgowo-rdzeniowym oraz wzmożoną pleocytozę, natomiast rzadko stwierdza się obecność prążków oligoklonalnych. W chorobie Devic'e'a u 30% chorych przejściowo występują prążki oligoklonalne (w SM — niezależnie od czasu choroby oraz rzutu). Ostatnio opisano charakterystyczne dla choroby Devic'e'a przeciwciała przeciwko białku kanału wodnego *aquaporin-4*.

Mimo licznych badań nadal nie ma ogólnie uznanych wskaźników, które mogłyby służyć do rozpoznania choroby i monitorowania nasilenia procesów zapalnych i degeneracyjnych.

## PIŚMIENNICTWO

1. McDonald W.I., Compston A., Gilles E. i wsp. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis. *Ann. Neurol.* 2001; 50: 121–127.
2. Tourtellotte W.W., Tumani H. Multiple Sclerosis cerebrospinal fluid. W: Raine C.S., McFarland H.F., Tourtellotte W.W. (red.). *Multiple sclerosis: clinical and pathogenesis basis*. Champan and Hall Medical 1997; 57–81.
3. Andersson M., Alvarez-Cermeno J., Bernardi G. i wsp. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1994; 57: 897–902.
4. Freedman M.S., Thompson E.J., Deisenhammer F. i wsp. Recommended standard of cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* 2005; 62: 865–870.
5. Villar L.M., Sadaba M.C., Roldan E. i wsp. Intrathecal synthesis of oligoclonal IgM against myelin lipids predicts an aggressive disease course in MS. *J. Clin. Invest.* 2005; 115: 187–194.
6. Berger T., Rubner P., Schautzer F. i wsp. Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. *NEJM* 2003; 349: 139–145.
7. Reindl M., Khantane S., Ehling R. i wsp. Serum and cerebrospinal fluid antibodies to Nogo-A in patients with multiple sclerosis and acute neurological disorders. *J. Neuroimmunol.* 2003; 145: 139–147.
8. Whitaker J.N. Myelin basic protein in cerebrospinal fluid and other body fluids. *Mult. Scler.* 1998; 4: 16–21.
9. Massaro A.R. Are there indicators of remyelination in blood or CSF of multiple sclerosis patients? *Mult. Scler.* 1998; 4: 228–231.
10. Petzold A., Eikelenboom M.J., Gveric D. i wsp. Markers for different glial cell responses in multiple sclerosis: clinical and pathological correlation. *Brain* 2002; 125: 1462–1473.
11. Brettschneider J., Arda S., Bitsch A. i wsp. Tau protein level in cerebrospinal fluid is increased in patients with early multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 2005; 11: 261–265.