

به نام خدا

آنالیز بیوشیمیایی مایع مغزی نخاعی، کنترل کیفی و کاربردهای بالینی آن.

جبار لطفی

دکتری تخصصی بیوشیمی بالینی

۱. اندیکاسیون های درخواست آنالیز مایع مغزی نخاعی
۲. آنالیز ترکیبات مهم مایع مغزی نخاعی (قند و پروتئین)
۳. روش های اندازه گیری پروتئین در مایع مغزی نخاعی
۴. پاتوژنز بیماریهای سیستم عصبی شایع از نگاه بیوشیمیایی
۵. کنترل کیفی مایع مغزی نخاعی

اندیکاسیونهای آنالیز مایع مغزی نخاعی

۱- مننژیت مهمترین علت درخواست

۲- خونریزی زیر عنکبوتیه

۳- بدخیمی های اولیه یا متاستاتیک

۴- بیماریهای از بین برنده میلین

تجزیه شیمیایی مایع مغزی نخاعی

گلوکز مایع مغزی نخاعی:

❖ مشتق از گلوکز خون است.

❖ سطح گلوکز ناشتای مایع مغزی نخاعی به طور طبیعی ۵۰ تا ۸۰ میلی گرم در دسی لیتر است. که معادل ۶۰ درصد مقدار پلاسمائی است برای تفسیر مناسب باید نتایج گلوکز *CSF* را با سطح پلاسمایی آن در نمونه ای که ۲ - ۴ ساعت قبل از *LP* گرفته شده، مقایسه کرد.

❖ نسبت گلوکز مایع مغزی نخاعی به پلازما از ۰.۳ تا ۰.۹ متغیر است که علت تاخیر در زمان به تعادل رسیدن گلوکز در *CSF* می باشد.

گلوکز مایع مغزی نخاعی

کاهش گلوکز مایع مغزی نخاعی (*Hypoglycorrhachia*):

گلوکز کمتر از ۴۰ میلی گرم در دسی لیتر یا نسبت گلوکز *CSF* به گلوکز سرم <0.3
مننژیت های باکتریایی، قارچی، تومورهای بدخیم

افزایش گلوکز *CSF* اهمیت بالینی ندارد:

- ۱- ناشی از بالا رفتن گلوکز خون ۲ ساعت قبل از پونکسیون کمبری است.
- ۲- پونکسیون تروماتیک

پروتئین تام مایع مغزی نخاعی

- بیشتر از ۸۰ درصد پروتئین های مایع مغزی نخاعی از پلاسمای خون مشتق می شود و غلظت آن کمتر از یک درصد سطح پروتئین های پلازما است.
- ترانسفرین و مقادیر اندکی از پروتئین های بافتهای عصبی تفاوت کیفی بین پروتئین های مایع مغزی نخاعی و پلازما است.
- شاخص مفید و غیر اختصاصی بیماریهای مننژ و سیستم عصبی مرکزی است.

➤ یادآوری این نکته مهم است که میزان پروتئین مایع مغزی نخاعی تحت تاثیر محل بدست

آوردن آن از سیستم عصبی قرار می گیرد، بطوریکه هر چه از بطن بطرف قسمت انتهایی

نخاع جریان پیدا می کند میزان پروتئین کاهش میابد.

محدوده مرجع:

✓ بزرگسالان ۱۰ تا ۴۵ میلی گرم در دسی لیتر

✓ شیرخواران تا ۱۵۰ میلی گرم در دسی لیتر

✓ شیرخواران پره ترم تا ۱۷۰ میلی گرم در دسی لیتر

پروتئین مایع مغزی نخاعی بعد از تولد تا ۶ ماهگی به سرعت کاهش یافته و در سن ۳ تا ۱۰ سالگی به حد کفه می رسد.

افزایش پروتئین تام مایع مغزی نخاعی:

- افزایش نفوذپذیری سد خونی مغزی
- کاهش جذب توسط پرزهای عنکبوتیه
- افزایش ساخت ایمونوگلوبولین های اینتراتکال
- پونکسیون تروماتیک نخاعی
- انسداد نخاعی

کاهش پروتئین تام مایع مغزی نخاعی:

- برخی کودکان بین ۲ تا ۶ سال
- افزایش باز گردش مایع مغزی نخاعی:
 - الف) گرفتن حجم زیاد مایع مغزی نخاعی
 - ب) نشت CSF به علت تروما و یا پونکسیون کمري
 - ج) افزایش فشار داخل مغزی در نتیجه بالا رفتن میزان جذب پروتئین توسط پرزهای عنکبوتیه
 - د) هیپرتیروئیدیسم (علت ناشناخته)

روش های اندازه گیری پروتئین تام مایع مغزی نخاعی

□ روشهای کدورت سنجی:

A. سولفوسالسیلیک اسید.

B. تری کلرو استیک اسید: نتایج مثبت کاذب پروتئین در حضور متوتروکسات ساده و سریع بوده و نیاز به تجهیزات خاصی ندارد. حساس به درجه حرارت بوده و حجم بیشتری از نمونه نیاز دارند (نیم میلی لیتر).

C. بنزالکونیوم کلراید: در روش های خودکار و روش های میکرو مورد استفاده قرار می گیرد.

□ روش های رنگ سنجی:

A. روش های لوری

B. کوماسی برلیانت بلو: سریع و حساس و احتیاج به مقادیر کم نمونه دارد

C. روش تعدیل یافته بیوره

D. روشهای ایمونولوژیک: اندازه گیری پروتئینهای خاص

- فرمولی مشابه WBC اصلاح شده جهت اصلاح میزان پروتئین در

Tap تروماتیک وجود دارد .

- $$[\text{پروتئین اضافه شده} = \text{پروتئین سرم} \times \frac{\text{RBC CSF}}{\text{RBC خون}} \times (1 - \text{Hct})]$$

- **RBC خون**

- اگر تعداد RBC خون محیطی در حد طبیعی باشد به ازاء هر RBC/ mL 10000 ، 8 mg/dl پروتئین به مایع مغزی نخاعی اضافه می شود..

اندازه گیری آلبومین مایع مغزی نخاعی

✓ برای ارزیابی نفوذپذیری سد خونی مغزی
از اندکس آلبومین مایع مغزی نخاعی به آلبومین سرم استفاده می شود.

$$\frac{\text{CSF Albumin (mg/dL)}}{\text{Serum Albumin (g/dL)}} = \text{CSF serum albumin index:}$$

If < 9 = **intact BBB**

- سد خونی مغزی سالم کمتر از ۹

- ضایعات اندک ۹ تا ۱۴

- ضایعات متوسط ۱۴ تا ۳۰

- ضایعات شدید بیشتر از ۳۰

➤ افزایش اندک در شیرخواران (عدم بلوغ سد خونی مغزی)

➤ افزایش تدریجی بعد از چهل سالگی

تکنیک های الکتروفورز

❖ آزمایش الکتروفورز با وضوح بالا *High Resolution Electrophoresis*

CSF مبتلایان به *MS* اغلب نوارهای الیگو کلونال را به صورت جمعیت های مجزای *IgG* نشان می دهد.

- وجود دو تا چند نوار برای تایید تشخیص *MS* ضروری است.
- این نوارها در سایر بیماریها مانند مبتلایان به پان آنسفالیت اسکروز تحت حاد، عفونت های ویروسی *CNS*، سیفلیس عصبی، بورلیوز عصبی، مننژیت کریپتوکوکی، سندروم گلین باره، لنفوم بورکیت، بیماری بهجت، سیستی سرکوزیس و تریپانوزومیازیس گزارش شده است.

زنجیره های سبک الیگوکلونال کاپا و لامبدا در ۹۰ درصد مبتلایان به ام اس وجود دارد و گاهی اوقات این زنجیره ها در *CSF* افرادی که فاقد نوارهای اولیگوکلونال *IgG* هستند، قابل تشخیص است.

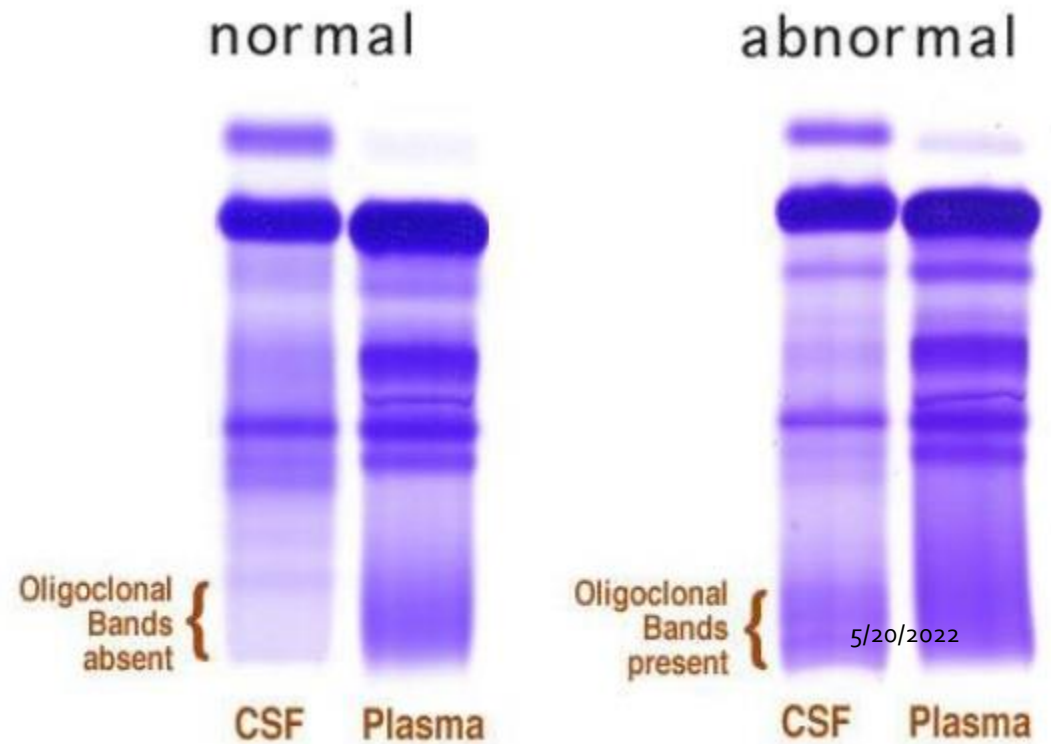
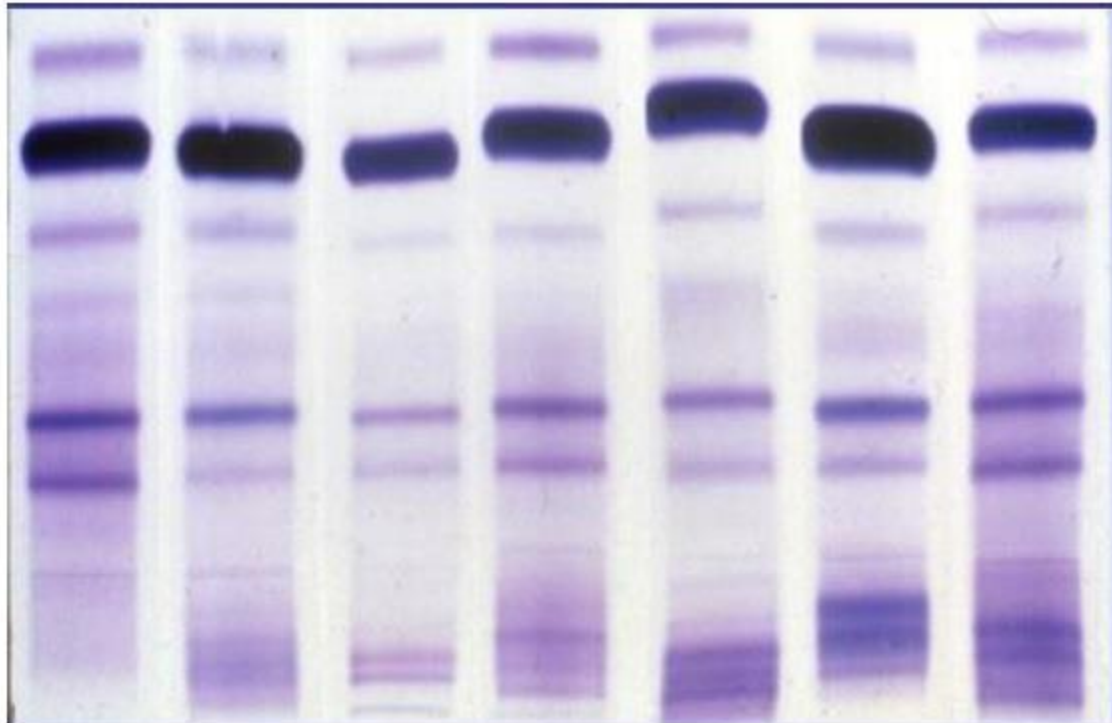
❖ الکتروفورز ایمونو فیکسسیون (*IFE*): Immunofixation

حساس تر از ژل آگارز است و نیازی به تغلیظ *CSF* نیست. نسبت به *IEF* و ایمونوبلات *IgG* باند کمتری را نشان میدهد.

❖ ایزو الکتريک فوکوسینگ (*IEF*): Isoelectric focusing

حساس ترین روش برای شناسایی نوارهای الیگو کلونال است. در موارد *MS* قطعی حساسیت بسیار بالا. روش انتخابی برای یافتن کیفی باندهای *IgG* الیگوکلونال.

باند‌های اولیگوکلونال IgG



ترانسفرین مایع مغزی نخاعی

✓ واریانتهی از **ترانسفرین** در مایع مغزی نخاعی و مایع پری لنف گوش داخلی که در اثر آنزیم نور آمینیداز سیستم عصبی بر روی بتا ترانسفرین سرم حاصل می شود.

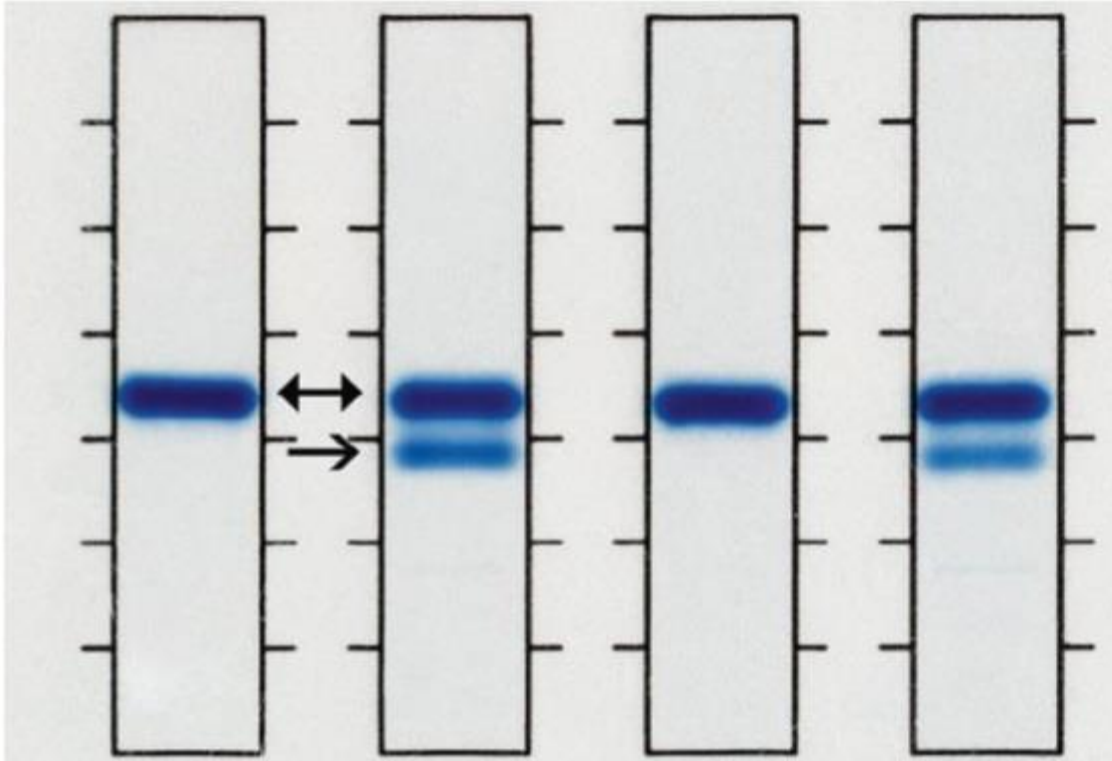
✓ این ترانسفرین را آسیالو ترانسفرین و یا بتا ۲ ترانسفرین می گویند.

✓ شارژ کمتری نسبت به ترانسفرین پلاسما داشته و کمتر از آن به سمت کاتد حرکت می کند.

✓ مایع مغزی نخاعی حاوی هردو ایزوفرم بتا یک و بتا ۲ ترانسفرین است

➤ بررسی وجود آسیالو ترانسفرین در درناژ ترشحات بینی نشانه شکستگی جمجمه یا صدمات وارد شده به سر در اثر تروما (رینوره و اتوره).

ترانسفرین مایع مغزی نخاعی



Glymphatic Clearance Pathway

مواد توکسیک تجمع یافته از انتقالات الکتریکی و شیمیایی در مغز جلوگیری نموده و سبب صدمات جبران ناپذیری در مغز می گردند.

در حقیقت پاتولوژی آلزایمر، پارکینسون و سایر بیماریهای نورودژنراتیو در سنین پیری ناشی از این تجمعات پروتئینی است.

بیماری آلزایمر:

ایزوپروستان $F2$

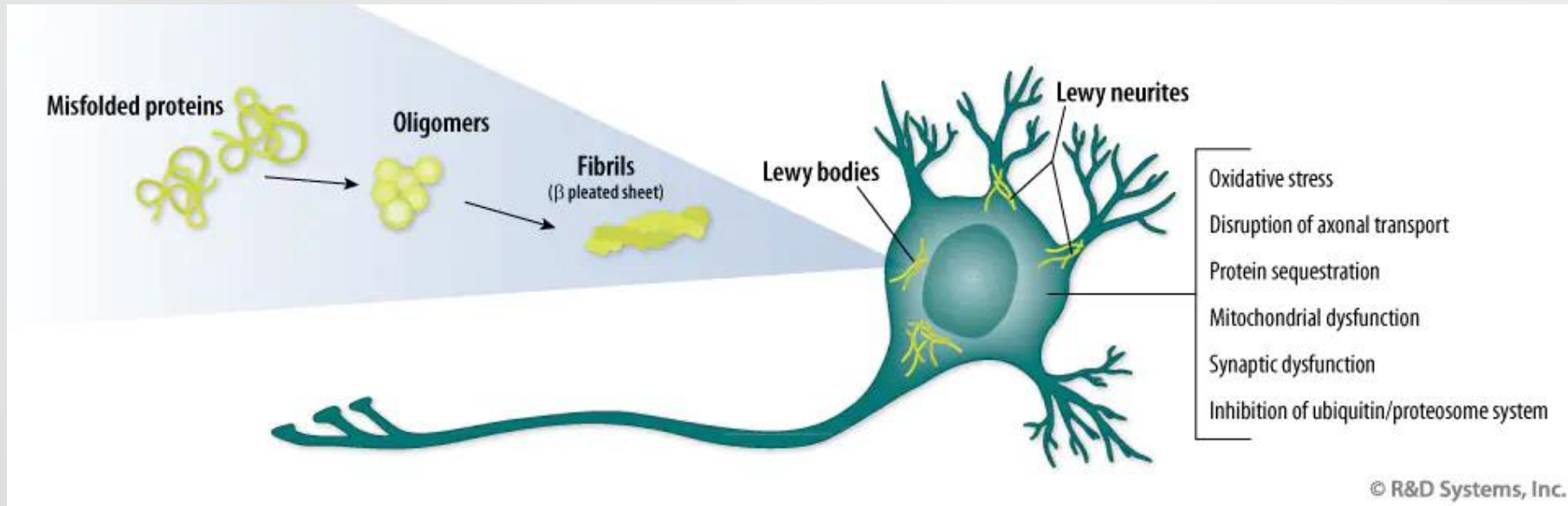
- شبیه پروستاگلاندین ها هستند که از پروکسیداسیون اسیدهای چرب ضروری بدون اثر مستقیم سیکلو اکسیژناز تولید می شوند.
- نشانگر استرس اکسیداتیو هستند.

در مایع مغزی نخاعی بیماران مبتلا به آلزایمر:

- i. ایزوپروستان $F2$ افزایش
- ii. پروتئین های تائو تام و فسفریله افزایش

بیماری پارکینسون

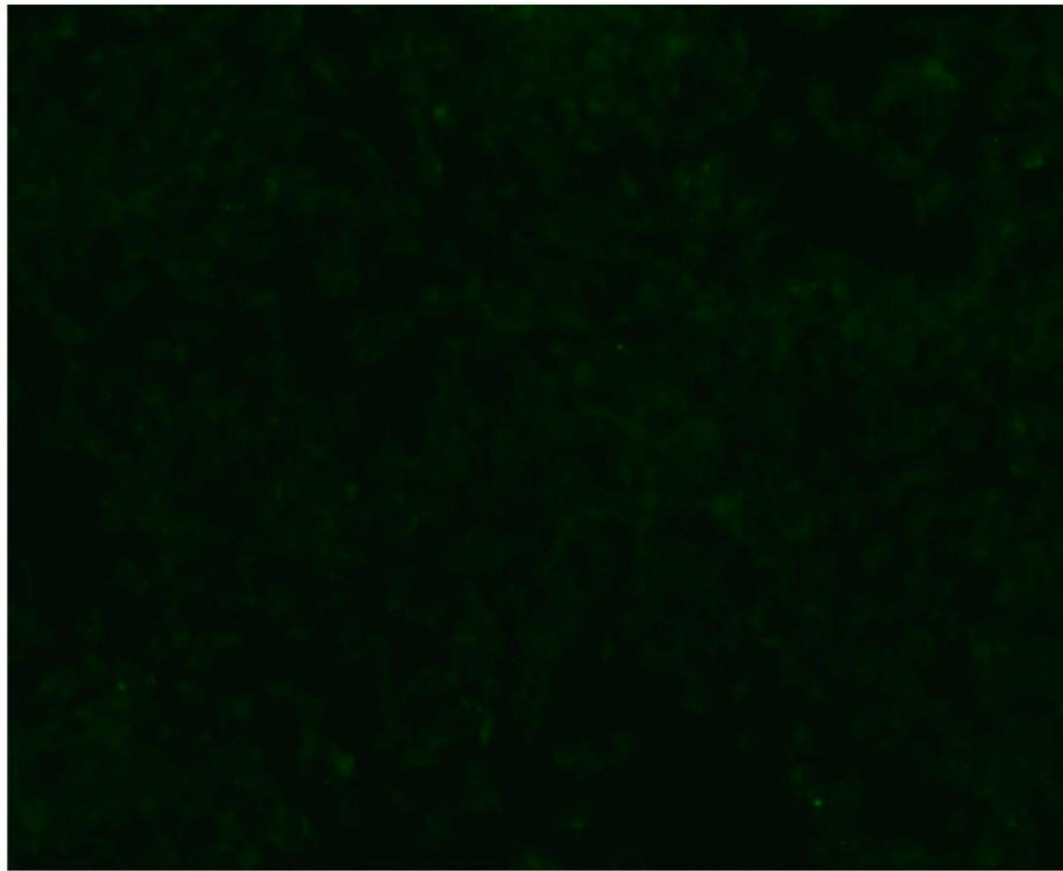
- دومین اختلال نورودژنراتیو شایع پس از بیماری آلزایمر است.
- نشانه های پارکینسون در سطح سلولی شامل از بین رفتن انتخابی نورون های دوپامینرژیک و وجود Lewy Body حاوی Alpha synuclein می باشد.
- Lewy Body تجمعات آلفا سینوکلئین در بافت مغزی است.
- در بیماری پارکینسون و بیماریهای وابسته به آن مقدار آلفا سینوکلئین در مایع مغزی نخاعی کاهش می یابد.



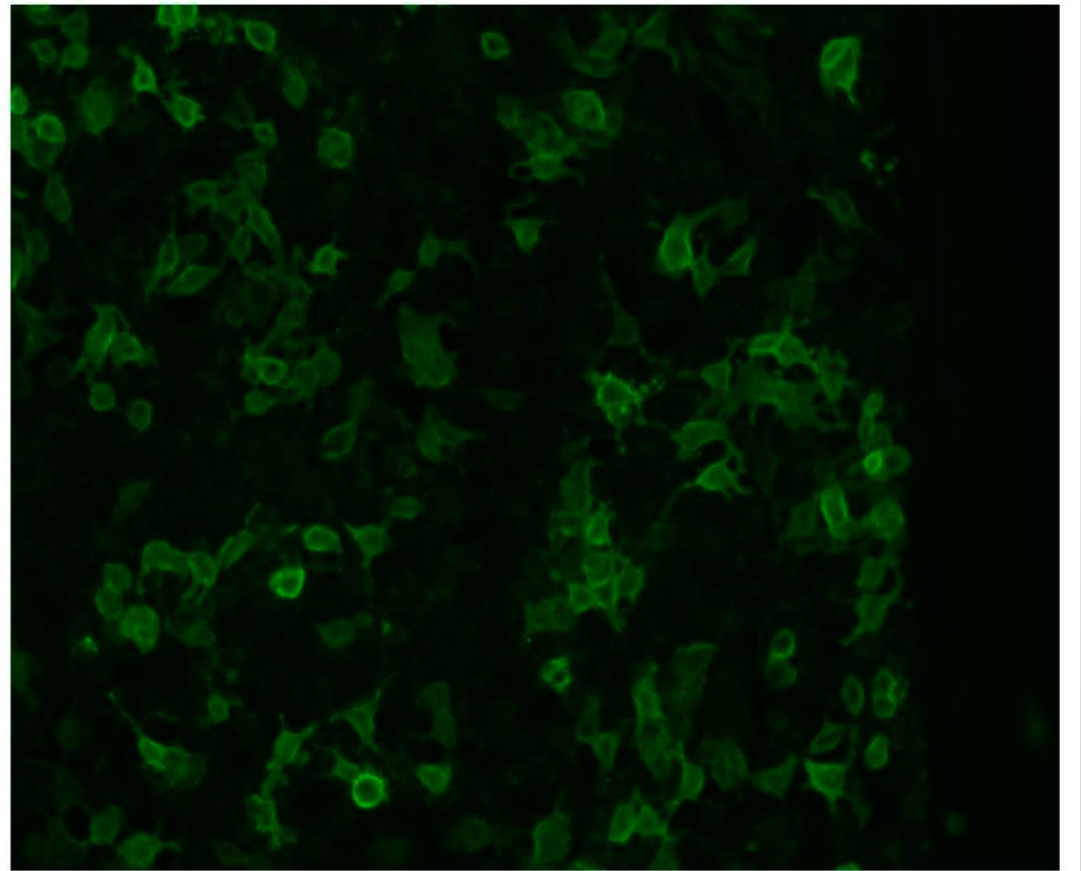
Lee, V.M-Y. and J.Q. Trojanowski (2006) Neuron 52:33.

(NMO) نورومیلیت اپتیکا

- *Devick Syndrome* یک اختلال خود ایمنی که شباهت زیادی با ام اس دارد.
- در این بیماری آنتی بادی بر علیه پروتئین های کانال های ناقل آب آکوپورین ۴ ایجاد می شود
- *AQP-4 Ab*
- آنتی بادی ضد آکوپورین ۴ در مایع مغزی نخاعی در هنگام عود بیماری افزایش پیدا می کند.
- مشخص شده که در بیماران سرونگاتیو ای که علائم بالینی مشکوک به نورومیلیت اپتیکا ولی آزمایش *NMO Ab* سرمی آنها منفی است، اندازه گیری آنتی بادی ضد آکوپورین ۴ مایع مغزی نخاعی آنها ممکن است مثبت باشد که کمک شایانی به تشخیص این بیماری می نماید.
- اندازه گیری آنتی بادی ضد آکوپورین ۴ سرمی دارای ویژگی ۱۰۰ درصد می باشد.



a.



b.

Int. J. Mol. Sci. 2016, 17(3), 273; <https://doi.org/10.3390/ijms17030273>

کنترل کیفی



□ کنترل و چک نمودن تکنیک های اندازه گیری

□ کنترل معرفها

□ کنترل سانتیفریوژ

□ استفاده از کنترل *CSF* به صورت لیوفیلیزه یا محلول بوده و در سه سطح وجود

دارد. حاوی اکثر پارامترهای روتین و تخصصی است.

با تشکر از توجه شما