

Klinická mikrobiologie a infekční lékařství

Kelbich P, Koudelková M, Machová H, Tomaškovič M, Vachata P, Kotalíková P, Chmelíková V, Hanuljaková E. Význam urgentního vyšetření mozkomíšního moku pro včasnou diagnostiku neuroinfekcí. Klin mikrobiol inf lék 2007;13(1):9-20

TYP SDĚLENÍ: Přehledový článek

ÚPLNÝ TEXT:

Úvod

Z našeho pohledu lze současnou likvorologii rozdělit na základní vyšetření CSF, rozšířené základní vyšetření CSF a speciální vyšetření CSF. Do oblasti základní, resp. urgentní, likvorologie zahrnujeme vyšetření parametrů energetického metabolismu glukosy, vyšetření celkové bílkoviny v CSF či albuminového kvocientu, vyšetření "rychlých" markerů destrukce tkáně CNS, cytologické vyšetření CSF, spektrofotometrické vyšetření CSF a vyšetření koncentrace C-reaktivního proteinu (CRP) v krvi (tab.1, tab.2) [2, 3, 6, 11, 12, 31, 33, 34, 38, 43, 47, 62].

	normální nález		serózní neuroinfekce	purulentní neuroinfekce
Energetický metabolismus				
glukosa _{CSF}	2,20 - 4,20	mmol.l ⁻¹	N, ↓	↓↓, ↓↓↓
Qglu.	0,55 - 0,65	j	N, ↓	↓↓, ↓↓↓
laktát _{CSF}	1,20 - 2,10	mmol.l ⁻¹	N, ↑	↑↑, ↑↑↑
KEB	28,0 - 38,0	j	N, ↓, ↓↓	↓↓↓
Permeabilita hematoencefalické a hematolikvorové bariéry				
CB _{CSF}	tab.2		↑, ↑↑	↑↑, ↑↑↑
Qalb.	tab.2		↑, ↑↑	↑↑, ↑↑↑
Cytologie				
buněčnost	< 10/3		↑, ↑↑	↑↑, ↑↑↑
cytologický obraz	lymfocyty : monocyty 7 : 3		lymfocytární pleiocytosa	granulocytární pleiocytosa (neutrofilní granulocyty)
Zánětlivé markery				
CRP _s	< 5,0	mg.l ⁻¹	N, ↑	↑↑, ↑↑↑
Markery tkáňové destrukce				
LD _{CSF}	0,13 - 0,50 (< 0,25 *)	μkat.l ⁻¹	-----	-----
KTD	< 10,0	%	-----	-----
AST _{CSF}	< 0,30	μkat.l ⁻¹	-----	-----
pěnité buňky (lipofágy)	0		-----	-----
Krvácení do CNS				
spektrofotometrie CSF	neg.		-----	-----
erytrofágy, siderofágy, hematoidin	0		-----	-----

Vysvětlivky:

*/ při stanovení katalytické aktivity LD metodou IFCC

N normální nález

↑ mírně zvýšené hodnoty

↑↑ výrazně zvýšené hodnoty

↑↑↑ velmi výrazně zvýšené hodnoty

↓ mírně snížené hodnoty

↓↓ výrazně snížené hodnoty

↓↓↓ velmi výrazně snížené hodnoty

Tabulka 1: Přehled normálních hodnot parametrů urgentní likvorologie a obvyklých likvorových nálezů v akutních stádiích serózních a purulentních neuroinfekcí

Věk	Koncentrace bílkoviny v CSF [$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$]		Qalb. = $\text{CSF}/\text{S}\cdot 1000$	
	průměr	rozsah	průměr	rozsah
0 až 2 týdny	770,0	450,0 - 1 090,0	12,6	5,6 - 23,2
1 až 4 týdny	660,0	510,0 - 1 010,0	10,2	7,6 - 16,4
1 až 3 měsíce	450,0	240,0 - 650,0	5,3	2,3 - 10,6
3 až 6 měsíců	290,0	230,0 - 370,0	3,1	2,0 - 4,8
6 až 12 měsíců	270,0	170,0 - 350,0	2,5	1,4 - 4,5
1 až 10 roků	220,0	160,0 - 310,0	1,9	1,0 - 4,5
11 až 18 roků	250,0	160,0 - 400,0	2,3	1,0 - 5,0
18 až 30 roků	360,0	240,0 - 490,0	3,7	1,7 - 5,7
31 až 40 roků	360,0	240,0 - 490,0	4,0	1,8 - 6,2
41 až 50 roků	430,0	270,0 - 600,0	4,6	2,0 - 7,2
51 až 60 roků	480,0	290,0 - 670,0	5,5	2,1 - 8,9
61 až 70 roků	530,0	260,0 - 790,0	5,6	2,2 - 9,9

Tabulka 2: Normální hodnoty koncentrace bílkoviny v CSF a Qalb. v závislosti na věku [38]

Mezi rozšířená základní likvorová vyšetření řadíme stanovení různých proteinových parametrů, které nejsou specifické pro centrální nervový systém, ale jejichž koncentrační změny v CSF lze zaznamenat v souvislosti s patologickými procesy probíhajícími v kompartmentu CNS následkem jejich intrathekální produkce, alterovaného přísunu do CNS či změnou rychlosti jejich biologické spotřeby v kompartmentu CNS. Jedná se o imunoglobuliny, proteiny akutní fáze, některé složky komplementu, inhibitory proteináz, destrukční markery, tumorové markery, kompresivní markery atd. [4, 6, 7, 9, 10, 12, 18, 51, 53, 54, 61]. Do oblasti speciální likvorologie pak řadíme různorodé parametry, k jejichž vyšetření přistupujeme tehdy, pokud základní a rozšířená základní likvorologie neposkytlá vyčerpávající odpovědi na otázky týkající se etiopatogeneze postižení CNS. Jedná se např. o vyšetřování specifických či specificky alterovaných proteinů CNS v CSF v souvislosti s neurodegenerativními postiženími, cévními postiženími CNS, traumaty CNS atd. [16, 19, 22, 23, 25, 29, 41, 49, 53, 67, 73, 70]. Dále sem zahrnujeme vyšetřování intrathekální oligoklonální produkce IgG především při diagnostice roztroušené sklerózy, vyšetřování neuronálních autoprotilátek při podezření na paraneoplastické postižení CNS, vyšetřování specifických protilátek proti některým patogenním agens a přímý průkaz neurotropních patogenních agens v CSF kultivací na živném médiu, metodami molekulárně-genetickými či elektronovou mikroskopií [5, 6, 7, 15, 18, 27, 32, 34, 55, 63, 65, 66]. Do této oblasti lze dále zařadit stanovení některých interleukinů v CSF, především v souvislosti s detekcí zánětlivých onemocnění CNS, cytologická vyšetření CSF s použitím speciálních barvicích technik a vyšetření buněčných populací v CSF průtokovou cytometrií [2, 11]. Současné využití poslední jmenované metody pro vyšetření CSF je limitováno jeho obvykle nízkou buněčností. S různými úspěchy je tak využívána především k detekci leukemických infiltrací mening a existují studie diferencující lymfocytární subpopulace v CSF u pacientů s roztroušenou sklerózou [24].

Urgentní vyšetření CSF

Cílem urgentního vyšetření CSF je rychlé poskytnutí důležitých informací o charakteru postižení CNS. Základním požadavkem na něj kladeným je především jeho obecná dostupnost po 24 hodin denně. Velmi významné je urgentní vyšetření CSF v diagnostice akutních postižení CNS, zejména pak neuroinfekcí a cévních mozkových příhod.

Další úvahy budou zaměřeny na podstatu diferenciální diagnostiky neuroinfekcí nástroji urgentní likvorologie.

Urgentní vyšetření CSF v diferenciální diagnostice neuroinfekcí

Cílem urgentního vyšetření CSF u pacientů se suspekci pro neuroinfekci je v první řadě vyloučení či průkaz přítomnosti neuroinfekce a dále pak určení charakteru zánětlivého procesu v CNS, jeho dynamiky a přidružených komplikací. Toto standardně provádíme vyšetřením parametrů energetického metabolismu glukosy v likvorovém kompartmentu, vyšetřením úrovně permeability hematoencefalické a hematolikvorové bariéry, cytologickým vyšetřením CSF, vyšetřením "rychlých" destrukčních markerů v CSF, spektrofotometrickým vyšetřením CSF a vyšetřením koncentrace CRP v krvi [2, 6, 11, 12, 31, 33, 38, 43, 47, 62].

Význam vyšetření parametrů energetického metabolismu glukosy v diferenciální diagnostice neuroinfekcí

Hodnocení energetických poměrů v likvorovém kompartmentu se odvíjí od stanovení koncentrací glukosy v CSF a v krvi, výpočtu glukosového kvocientu (Qglu.), stanovení koncentrace laktátu v CSF a výpočtu koeficientu energetické bilance (KEB). Podle míry posunu jejich hodnot od hodnot normálních lze pak uvažovat o charakteru probíhajícího procesu v CNS (tab.1) [31, 33].

Dvoukompartmentový model

Při vyšetřování energetických poměrů v likvorovém kompartmentu vycházíme z představy dvoukompartmentového modelu. Ten rozděluje organismus na CNS reprezentovaný CSF a periferii reprezentovanou krví. Z krve je transportován energetický substrát, čili glukosa, do CNS, potažmo do CSF, a to prostřednictvím systému hematoencefalické a hematolikvorové bariéry. Na tomto transportu se podílí transportní systém pro glukosu označovaný jako Glut1. V likvorovém kompartmentu dochází k přeměně glukosy na produkty jejího metabolismu, které jsou odváděny spolu s cirkulujícím CSF zpět do krve, případně k dalšímu zpracování přímo v CNS [1, 30, 31, 33, 38, 39, 40, 56, 58, 59, 60, 69, 78].

Energetický metabolismus glukosy v likvorovém kompartmentu a KEB

Energetický metabolismus glukosy začíná její přeměnou na pyruvát v procesu zvaném glykolysa. Je-li v prostředí přítomno dostatečné množství kyslíku, je pyruvát dále metabolisován aerobním způsobem až na finální produkty CO_2 a H_2O . Tímto způsobem se získá z 1 molekuly glukosy 38 molekul adenosintrifosfátu (ATP). Jedná se o "univerzální buněčné palivo", které uvolněním makroergické vazby fosfátu saturuje energetické potřeby většiny biochemických reakcí probíhajících v organismu [30].

Pokud ale v prostředí kyslík chybí, nebo pokud je jiným způsobem zablokována aerobní větev, pokračuje energetický metabolismus glukosy alternativní přeměnou pyruvátu na laktát v procesu označovaném jako anaerobní glykolysa. Čistým výtěžkem takového způsobu přeměny glukosy jsou 2 molekuly ATP [30].

Matematickým vyjádřením popsaných biochemických procesů je koeficient energetické bilance (KEB) :

$$KEB = 38 - 18 \frac{[\text{laktát}_{CSF}]}{[\text{glukosa}_{CSF}]}$$

$[\text{glukosa}_{\text{CSF}}] = \text{koncentrace glukosy v CSF}$

$[\text{laktát}_{\text{CSF}}] = \text{koncentrace laktátu v CSF}$

Ten vyjadřuje průměrný počet molekul ATP vyprodukovaných za aktuálních energetických poměrů v likvorovém kompartmentu z 1 molekuly glukosy a lze podle něj velice spolehlivě odhadnout aktuální poměr aerobního a anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu, resp. v oblasti CNS s likvorovým kompartmentem přímo související [31, 33].

Modelové situace energetických poměrů v likvorovém kompartmentu

Další text je věnován popisu modelových případů energetických poměrů v likvorovém kompartmentu za normálního stavu a při infekčních serózních a purulentních zánětech CNS.

Energetické poměry v likvorovém kompartmentu za normálního stavu

Za fyziologických podmínek je v CSF rozpuštěno poměrně značné množství kyslíku, takže zde metabolické procesy probíhají převážně aerobním způsobem, tzn. za poměrně značné produkce energie, zejména v podobě ATP, vyjádřené hodnotami KEB od 28,0 do 38,0 (tab.1). Přirozený úbytek glukosy je průběžně eliminován jejími dostatečnými dodávkami z krve. Systém hematoencefalické a hematolikvorové bariéry je v takovém případě jen velice málo propustný pro proteiny. Pro složení CSF je pak typická poměrně vysoká koncentrace glukosy, resp. hodnota Qglu. převyšující 0,55, nízká koncentrace laktátu a velmi nízká koncentrace proteinů (tab.1 a 2) [1, 6, 18, 31, 33, 38].

Energetické poměry v likvorovém kompartmentu při serózním infekčním zánětu CNS

Řada patologických stavů v CNS se projevuje zvýšenými energetickými nároky. Ty se mohou někdy i velice významným způsobem promítnout do finálního složení CSF. Takovým typickým příkladem jsou zánětlivá onemocnění CNS, především infekční etiologie, která se obvykle projevují natolik výrazně, že jsou detekovatelná v CSF pomocí uvedených parametrů. Serózní infekční zánět, nejčastěji virové, borreliové či treponemové etiologie, je specifický proces vedoucí k eliminaci patogenního agens z organismu a vyznačuje se aktivací buněčné i humorální složky imunitního systému. Vysoké energetické nároky aktivovaného imunitního systému pak logicky vedou k intenzivnější přeměně glukosy při současně zvýšené spotřebě kyslíku [35]. Pokud se tyto děje odehrávají v likvorovém kompartmentu či v oblasti CNS s likvorovým kompartmentem související, má zvýšená spotřeba kyslíku za následek jeho úbytek z CSF a zvýšený rozsah anaerobního metabolismu. Ten však funguje z energetického hlediska značně neefektivně, což se projevuje sníženou produkcí energie vyjádřenou snížením hodnoty KEB pod 28,0 (tab.1). Systém se dostává do energetické deprese [76]. Rozvoj energetické deprese při současně zvýšených energetických nárocích zvyšuje poptávku po glukose. Dochází k hyperglykolýze a k situaci, kdy dodávky glukosy z krve do CSF nestačí pokrývat její spotřebu. Následkem je snížení koncentrace glukosy v CSF a stav nazývaný hypoglykorachie. V případě serózních neuroinfekcí tak zpravidla dochází pouze k mírnému snížení glykorachie (tab.1). Většinou se ale její absolutní hodnoty neodchylují, nebo se odchylují jen velice málo, z rozsahu hodnot normálních. Za daleko spolehlivější parametr pro detekci snížení hladiny glukosy v CSF je proto obecně považován Qglu. (tab. 1) [31, 33].

Energetické poměry v likvorovém kompartmentu při purulentním infekčním zánětu CNS

Při purulentní neuroinfekci, zpravidla bakteriální etiologie, se navíc na vysoké spotřebě kyslíku v likvorovém kompartmentu a navození anaerobního metabolismu značného rozsahu, vedle zvýšené utilizace glukosy složkami aktivovaného imunitního systému, zásadním způsobem podílí oxidační vzplanutí neutrofilních granulocytů. To se odvíjí od interakce Fc-receptorů a komplementových receptorů neutrofilních granulocytů s opsonizovanými bakteriemi. Následně

dochází k rychlé aktivaci membránového enzymu neutrofilních granulocytů NADPH-oxidázy. Tento enzym katalyzuje reakci, při níž NADPH (redukována forma nikotinamidadeninindinukleotidfosfátu) reaguje s kyslíkem za vzniku NADP^+ (oxidovaná forma nikotinamidadeninindinukleotidfosfátu) a superoxidového radikálu O_2^- , z něhož vznikají dalšími reakcemi reaktivní kyslíkové intermediáty jako singletový kyslík, peroxid vodíku a hydroxylový radikál, které jsou velmi reaktivními oxidačními činidly narušujícími strukturu biopolymerů mikroorganismů, ničícími aktivitu jejich enzymů a poškozujícími DNA. Peroxid vodíku dále reaguje, za katalytického působení enzymu myeloperoxidázy, s chloridovými anionty a vznikají baktericidní chlornanové anionty. Baktericidní látky produkované fagocyty se navíc mohou uvolňovat do okolních tkání a poškozovat je [28]. Právě tento proces je vysoce náročný na spotřebu kyslíku a vede k intenzivnímu rozvoji anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu, zpravidla vyjádřenému zápornými hodnotami KEB a v některých případech jen velice nízkými kladnými hodnotami KEB (tab.1). Nezanedbatelný vliv na rozvoj anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu mohou mít dále poruchy cévního mozkového zásobení, které často purulentní neuroinfekce doprovázejí a které vedou k ischemizaci mozkové tkáně [14, 38, 43]. Intenzivní rozvoj anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu vede k výrazné energetické depresi a k omezení fungování systémů značně závislých na dodávkách energie. Pokud např. přestane fungovat kalciová ATP-ázová pumpa povrchových buněčných membrán, dojde ke kumulaci kalcia v buňkách a k porušení intracelulární kalciové homeostázy. Přebytečné kalcium je pak vázáno na vnitrobuněčné membránové struktury, které vyřazuje z činnosti. Pokud jsou takto vyřazeny z činnosti vnitřní mitochondriální membrány, dochází k zastavení fungování respiračního řetězce lokalizovaného na těchto membránách a k dalšímu potlačení aerobního buněčného metabolismu [46, 76]. Podobně si lze představit vyřazení respiračního řetězce z činnosti následkem porušení vnitrobuněčných membránových struktur hojně produkovanými kyslíkovými radikály. Při téměř výhradním anaerobním metabolismu dochází ke značné nadprodukci laktátu a ke stavu označovanému jako hyperlaktátorachie (tab.1). Navozená hluboká energetická deprese systému likvorového kompartmentu při současném enormním nárůstu poptávky po energii vede k intenzivní spotřebě glukosy, která však nestačí být eliminována dodávkami z krve. Výsledkem je snížená koncentrace glukosy v CSF označovaná jako hypoglykorachie (tab. 1). Důležité je upozornit na nutnost hodnotit úbytek glukosy v CSF nikoliv výhradně podle hodnot samotné glykorachie, ale pokud možno podle hodnot Qglu., tzn. poměru glykorachie ku glykémii. Důvod je prostý. Koncentrace glukosy v CSF je přísně závislá na její aktuální koncentraci v krvi. V CSF odebraném lumbální punkcí je fyziologická hodnota Qglu. od 0,55 do 0,65 (tab. 1). Při hyperglykemických stavech může dojít k tomu, že díky zvýšené nabídce glukosy z krve zůstane její výsledná koncentrace v CSF, a to i při podstatném úbytku, v rozmezí nebo dokonce nad rozmezím normálních hodnot. Hodnota Qglu. je však snížena a v případě primárních purulentních neuroinfekcí dokonce snížena značně [31, 33].

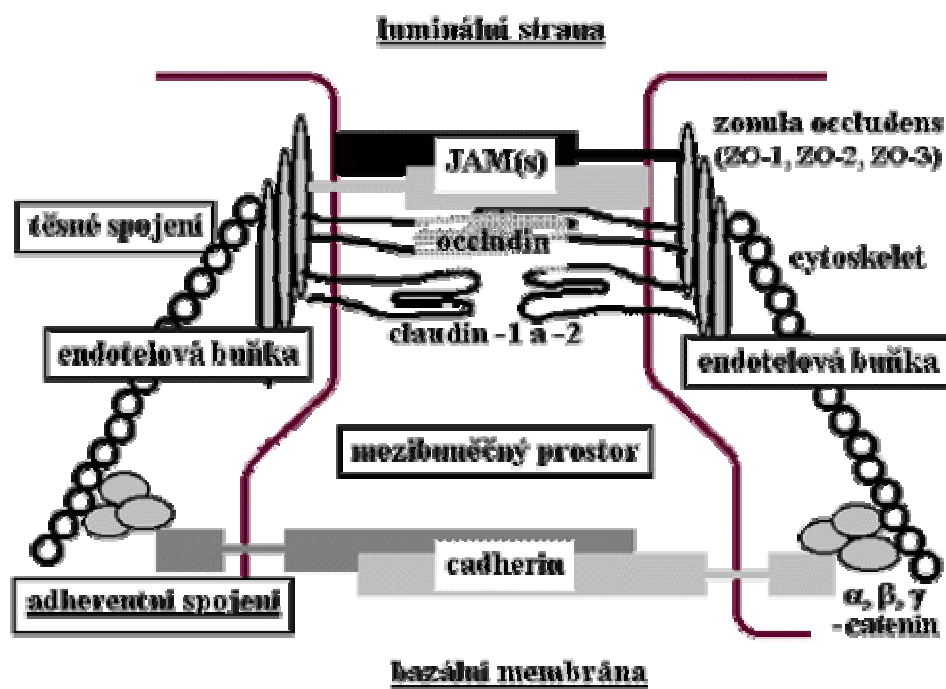
Hyperproteinorachie jako následek zvýšené permeability hematoencefalické a hematolikvorové bariéry a její význam v urgentní likvorové diagnostice neuroinfekcí

Hlavním producentem CSF jsou buňky plexus chorioideus a ependymová výstelka mozkových komor. Základem vzniku CSF je ultrafiltrace krevní plasy fenestrovanými chorioidními kapilárami. Nejprve se tvoří tekutina bohatá na proteiny v buněčném stromatu a teprve po prostupu chorioidním epitelem se ultrafiltrací jejich koncentrace snižuje [64]. Z toho vyplývá, že se na finálním složení CSF společně podílí plexus chorioideus filtrující krevní plasmu a ependymová výstelka mozkových komor tvořící morfologické a funkční rozhraní mezi extracelulární tekutinou mozku a CSF.

Hematoencefalická bariéra

Nejdůležitějšími morfologickými i funkčními součástmi hematoencefalické bariéry jsou endotelové buňky mozkových kapilár, pericyty, astroglie a bazální membrány zúčastněných

buněčných komponent [45, 77]. V dalším textu se zaměříme na endotel mozkových kapilár (obr. 1). Ten je tvořen samotnými endotelovými buňkami a mezibuněčnými prostory. Mezibuněčné prostory jsou vyplněny adhezivními výběžky transmembránových proteinů a lze je rozdělit na části adherentní a části těsných spojů. Adherentní části jsou tvořeny extracelulárními výběžky proteinu cadherinu, zakotveného intracelulárně a prostřednictvím intracelulárních proteinových struktur α , β a γ -cateninů komunikujícího s cytoskeletem endotelií. Samotné těsné spoje jsou tvořeny extracelulárními smyčkami transmembránových proteinů JAM(s) (Junction Adhesion Molecules), occludinu a claudinu. Ty zajišťují spojení endotelových buněk, zvyšují rezistenci hematoencefalické bariéry vůči difuzi rozpustných látek, přispívají ke kontrole její permeability a tím se významně podílejí na zajišťování homeostázy CNS. Tyto proteiny intracelulárně interagují s proteinovými strukturami zonula occludens-1, -2 a -3 a jejich prostřednictvím dále s cytoskeletem endotelií. Popsaná konstrukce zajišťuje integritu hematoencefalické bariéry. Zároveň promítá extracelulární vlivy do změn uspořádání cytoskeletu endotelií vyjádřených změnami permeability hematoencefalické a v širších souvislostech též bariéry hematolymphatické. Těmito vlivy mohou být např. interleukin 1 (IL-1), interferon γ (IFN γ), tumor nekrotizující faktor α (TNF α), transformující růstový faktor β (TGF β), protilátky proti JAM(s), matrixové metaloproteinázy a bakteriální proteinázy [21]. Lze však uvažovat i o dalších vlivech působících na změnu permeability cévního endotelu obecně, samozřejmě endotel mozkových kapilár nevyjímaje. Vedle již uvedených jsou jimi hypoxie, kyslíkové radikály, lipopolysacharidy, trombin, histamin, bradykinin, leukotrien 4 , vaskulární endoteliální růstový faktor a aktivací faktor trombocytů zvyšující jeho permeabilitu a prostaglandiny, které naopak permeabilitu cévního endotelu snižují [35]. V tomto ohledu můžeme hyperproteinurii chápat jako výsledek snahy organismu dostat ve správný okamžik na správné místo vše, co jest pro plnohodnotný průběh zánětlivého procesu a pro udržení homeostázy při infekci CNS patogenními agens nutné. Samozřejmě vedle zvýšeného přísunu příslušných imunokompetentních buněk do likvorového kompartmentu, resp. kompartmentu CNS, též zvýšení přítomnosti imunoglobulinů, komplementu, inhibitorů proteináz a také albuminu s vysokou absorpční kapacitou pro kyslíkové radikály ohrožující buňky CNS [8, 13, 20, 26, 44, 48, 75].



Obrázek 1: Mezibuněčný prostor s adherentním a těsným spojením mezi endotelovými buňkami hematoencefalické bariéry

Hematolikvorová bariéra

Hematolikvorová bariéra představuje širší pojem v porovnání s bariérou hematoencefalickou. Je tvořena vším, co tvoří předěl mezi krví a CSF. Tzn. stěnami kapilár a výstelkou chorioidálního plexu, dále samotnou hematoencefalickou bariérou, ependymovou výstelkou mozkových komor a tkání CNS mezi endotelem mozkových kapilár a ependymem komorového systému mozku [45, 64].

Vyšetření permeability hematoencefalické a hematolikvorové bariéry

Zjištění míry permeability hematoencefalické a hematolikvorové bariéry je velice důležitou součástí urgentního vyšetření CSF. Jak již bylo zmíněno, řada patologických procesů probíhajících systémově i v CNS je doprovázena její zvýšenou úrovní. Ta se projevuje především množstvím proteinů v CSF. Právě výsledek vyšetření koncentrace celkové bílkoviny v CSF bývá orientační a zároveň nezbytnou informací o míře permeability hematoencefalické a hematolikvorové bariéry. Jelikož se na složení proteinů v CSF podílí významným způsobem vedle proteinů plasmatického původu též proteiny intrathekálně produkované, je přesnějším parametrem pro hodnocení míry permeability hematoencefalické a hematolikvorové bariéry albuminový kvocient, tzn. poměr koncentrací albuminu v CSF $[alb_{CSF}]$ a v krvi $[alb_S]$:

$$Q_{Alb} = 1000 \frac{[alb_{CSF}]}{[alb_S]}$$

Albumin je totiž protein výhradně syntetizovaný v játrech a tudíž jeho přítomnost v CSF je v plném rozsahu původu krevního [6, 7, 38].

Při interpretaci výsledků vyšetření proteinorachie je dále důležité pamatovat na změny permeability hematoencefalické a hematolikvorové bariéry s ohledem na věk (tab. 2) [7, 18, 38].

Při neuroinfekcích je nápadné zvýšení permeability hematoencefalické a hematolikvorové bariéry zpravidla poměrně spolehlivým projevem avizujícím patologické změny v CNS. Jedná se však o parametr nespecifický. Jak vyplývá z předchozího textu, je změna permeability hematoencefalické a hematolikvorové bariéry chápána jako snaha organismu poskytnout kompartmentu CNS látky s neuroprotektivním účinkem. V případě neuroinfekcí se jedná o látky umožňující efektivní a plnohodnotný průběh zánětlivého procesu s cílem ochránit CNS před působením patogenních agens a zajistit jeho homeostázu [8, 13, 20, 26, 44, 48, 75]. V rámci diferenciální diagnostiky neuroinfekcí ale nelze podle hodnot proteinorachie bezpečně rozlišit serózní a purulentní zánětlivý proces i když pouze mírně zvýšené koncentrace proteinů v CSF bývají registrovány spíše v souvislosti s neuroinfekcemi serózními a koncentrace vysoké s primárními neuroinfekcemi purulentními (tab. 1). V praxi se ale lze setkat též s velmi vysokými koncentracemi proteinů v případech serózních neuroinfekcí. Naproti tomu nízké koncentrace proteinů u primárních purulentních neuroinfekcí bývají vzácností [6, 7, 18, 38].

Lze však také často pozorovat hyperproteinorachii ještě *před* infikováním samotného kompartmentu CNS. Tento děj je možné vysvětlit průnikem patogenních agens s afinitou k CNS do organismu, kde jsou rozpoznány a kde je proti nim aktivován imunitní systém. Dochází k produkci prozánětlivých působků, které obecně zvyšují permeabilitu cévního endotelu, a to včetně endotelu mozkových kapilár jako významné součásti hematoencefalické a hematolikvorové bariéry [21, 35, 77].

Význam cytologického vyšetření CSF v likvorové diagnostice neuroinfekcí

Při cytologickém vyšetření je pozornost zaměřena na buněčnost a buněčnou skladbu CSF [2, 11, 12].

Buněčnost CSF je zjišťována odečtem počtu erytrocytů v nativním CSF a leukocytů v CSF obarveném fuchsinem ve Fuchsově-Rosenthalově komůrce. Klasicky je vyjadřována počtem příslušných elementů na 3,2 μ l CSF. Novější doporučení upřednostňuje přepočet počtu buněk na 1 μ l. Z důvodu zachování celistvosti elementů se však kloníme ke klasickému vyjádření počtu elementů/3. Diferenciaci elementů provádíme na úrovni rozlišení leukocytů a erytrocytů. Leckde prováděnou diferenciaci na mononukleáry a polymorfonukleáry nelze doporučit s ohledem na riziko získání chybných výsledků. Buněčnou skladbu CSF je možné vyšetřit až odečtením trvalého cytologického preparátu připraveného citlivou cytosedimentační metodou či méně citlivou cytocentrifugací a obarveného základním barvením dle Maye-Grünwalda, případně některou z řady speciálních barvicích technik [2, 11, 12].

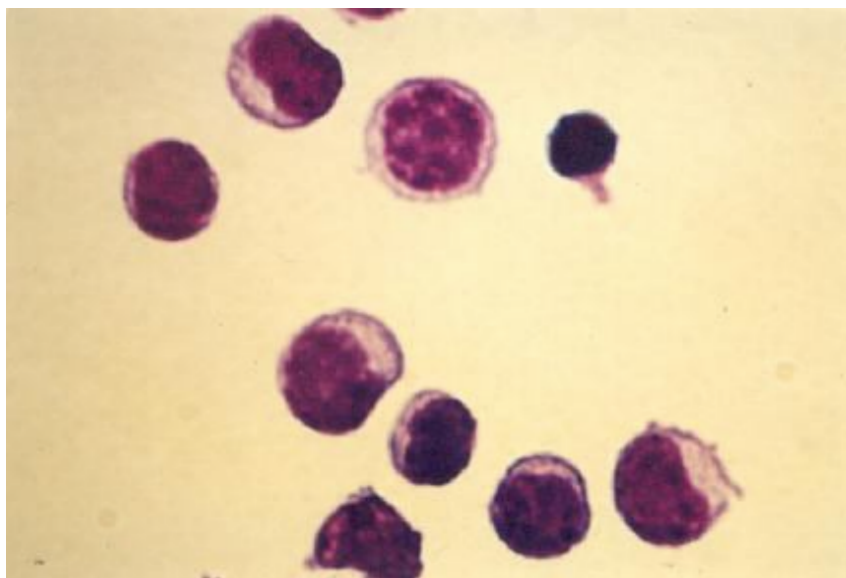
Hodnocení cytologických nálezů v CSF s ohledem na diferenciální diagnostiku neuroinfekcí

Normální cytologický obraz CSF, vyjma CSF novorozenců, je představován buněčností do 10/3 leukocytů s přibližným poměrem lymfocytárních k monocytárním elementům 7 : 3 a s tolerancí do 10 % aktivovaných lymfocytů. Přítomnost dalších elementů je fyziologicky nepřipustná (tab. 1) [2, 3, 11].

Zvýšená buněčnost CSF je označována jako pleiocytosa a normální buněčnost, ovšem s patologickou skladbou buněk, jako patologická oligocytosa s přívlastkem odpovídajícím dominující buněčné linii. Výjimkou jsou nádorové infiltrace mening kdy je tumorosní pleiocytosa, resp. oligocytosa, popisována i při zcela minoritním zastoupení nádorových elementů v CSF [2, 3, 11].

Cytologické nálezy v CSF při serózních neuroinfekcích

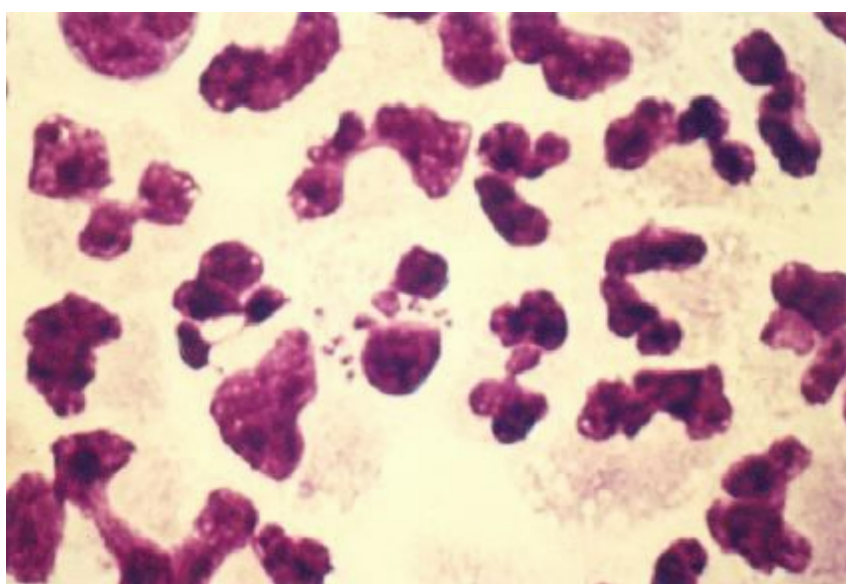
Ve velice včasném stadiu serózní neuroinfekce odpovídá cytologický obraz CSF granulocytární pleiocytose s převažujícím výskytem neutrofilních granulocytů při buněčnosti stovek až tisíců elementů/3 (tab. 1). Záhy získávají dominující zastoupení lymfocytární elementy v různém stupni aktivace a výsledným cytologickým obrazem CSF je lymfocytární pleiocytosa (obr. 2). S prodlužující se dobou trvání aktivního zánětlivého procesu lze pozorovat zvyšující se výskyt plasmocytů. Příznivou známkou při monitorování průběhu onemocnění, obvykle korelující s celkovým zlepšením zdravotního stavu pacienta, bývá zvyšující se četnost monocytárně-makrofagických elementů na úkor elementů lymfocytárních. Často se objevují makrofagické elementy s fagocytovanými lymfocyty, tzv. lymfofágy, signalizující nástup pozánětlivé úklidové reakce. Postupně přechází cytologický obraz CSF ve smíšenou lymfocytárně-monocytární až monocytární pleiocytosu. Dále se snižuje buněčnost CSF až k monocytární oligocytose. Vyléčení pacienta nakonec odpovídá normalizace cytologického obrazu [2, 3, 6, 11, 38].



Obrázek 2: Lymfocytární pleiocytosa s klidovými lymfocyty a s jedním lymfocytárním elementem s patrnými známkami aktivace (buňka uprostřed nahoře) v cytologickém obraze CSF pacienta v akutním stadiu serózní neuroinfekce

Cytologické nálezy v CSF při purulentních neuroinfekcích

Typickým cytologickým obrazem CSF pacientů v akutním stadiu primární purulentní neuroinfekce je granulocytární pleiocytosa, obvykle s nálezem tisíců až desetitisíců elementů/3 ve Fuchsově-Rosenthalově komůrce a s naprostou převahou neutrofilních granulocytů (tab. 1). Ve velice včasném stadiu onemocnění bývají přítomny nezralé formy buněk, především neutrofilní tyče. S postupujícím onemocněním nezralých buněk ubývá a cytologický obraz CSF je tvořen téměř výhradně zralými segmentovanými neutrofilními granulocyty (obr. 3). Příznivým úkazem z hlediska vývoje onemocnění je snižování buněčnosti CSF a především zvyšování četnosti monocytárně-makrofagických elementů na úkor neutrofilních granulocytů a výskyt tzv. leukofágů signalizujících probíhající pozánětlivou úklidovou reakci. Posléze přechází monocytární pleiocytosa v monocytární oligocytosu a úplnému vyléčení pacienta odpovídá normalizace cytologického obrazu CSF [2, 3, 6, 11, 38].



Obrázek 3: Granulocytární pleiocytosa s přítomností neutrofilních tyčí, segmentovaných neutrofilních granulocytů a s patrnou fagocytosou patogenních agens (*Neisseria meningitidis*)

(uprostřed obrázku) v cytologickém obraze CSF pacienta v akutním stadiu primární purulentní neuroinfekce

Detekce komplikací doprovázejících neuroinfekce nástroji urgentní likvorologie

V některých případech mohou být infekční poškození CNS doprovázena patologickými procesy, které celkový průběh onemocnění komplikují a jeho prognózu zhoršují. Jedná se především o destrukci tkáně CNS a krvácení do CNS. Pro některé neuroinfekce vyvolané konkrétními patogenními agens jsou dokonce tyto doprovodné jevy charakteristické a jejich včasné odhalení nástroji urgentní likvorologie může velmi usnadnit a urychlit určení etiopatogenetického agens [68].

Detekce destrukce tkáně nástroji urgentní likvorologie

Existuje řada likvorových markerů, kterými lze postihnout již proběhlou nebo probíhající destrukci tkáně CNS. Jsou jimi především apolipoproteiny A-I, A-II a B, neuron specifická enoláza, protein S100 a t-protein [6, 7, 16, 18, 38, 52]. Jejich stanovení je však většinou technicky a finančně poměrně náročné, a tak se provádí pouze v některých laboratořích.

V rámci urgentní likvorologie ale využíváme pro určení destrukce tkáně CNS parametrů sice méně specifických, zato však obecně dostupných. Jsou jimi katalytické aktivity enzymů laktátdehydrogenázy (LD) a aspartátaminotransferázy (AST) v CSF a detekce lipofágů, resp. pěníných buněk, v cytologickém obraze CSF [2, 11, 33, 43, 47].

Aktivita LD v CSF

LD je cytoplasmatický enzym katalyzující reakci anaerobní glykolýzy, kterou je reverzibilní přeměna pyruvátu na laktát [30]. I za fyziologického stavu se v CSF nachází malé množství tohoto enzymu vyjádřeného hodnotami katalytické aktivity do $0,50 \mu\text{kat.l}^{-1}$ (v případě metody IFCC cca do $0,25 \mu\text{kat.l}^{-1}$) (tab. 1). Ta odpovídá přestupu malého množství LD z krve do CSF a také jejímu uvolnění z odumírajících buněk nervové tkáně, zejména buněk gliových, jejichž enzymatická hotovost se dostává do extracelulárního prostředí a následně do CSF [47]. Někdy i značně zvýšenou přítomnost LD v CSF lze postihnout buď v souvislosti s rozvojem anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu nebo v souvislosti s jejím uvolněním při rozpadu buněk CNS, případně následkem kombinace obou těchto procesů. Pro hrubou diferenciaci příčin zvýšené katalytické aktivity LD v CSF používáme empiricky odvozený koeficient tkáňové destrukce (KTD) :

$$KTD = 100 - 50 \frac{[\text{laktát}_{\text{CSF}}]}{2,1 \cdot LD_{\text{CSF}}}$$

resp. pro stanovení LD metodou IFCC:

$$KTD = 100 - 25 \frac{[\text{laktát}_{\text{CSF}}]}{2,1 \cdot LD_{\text{CSF}}}$$

LD_{CSF} = katalytická aktivita LD v CSF

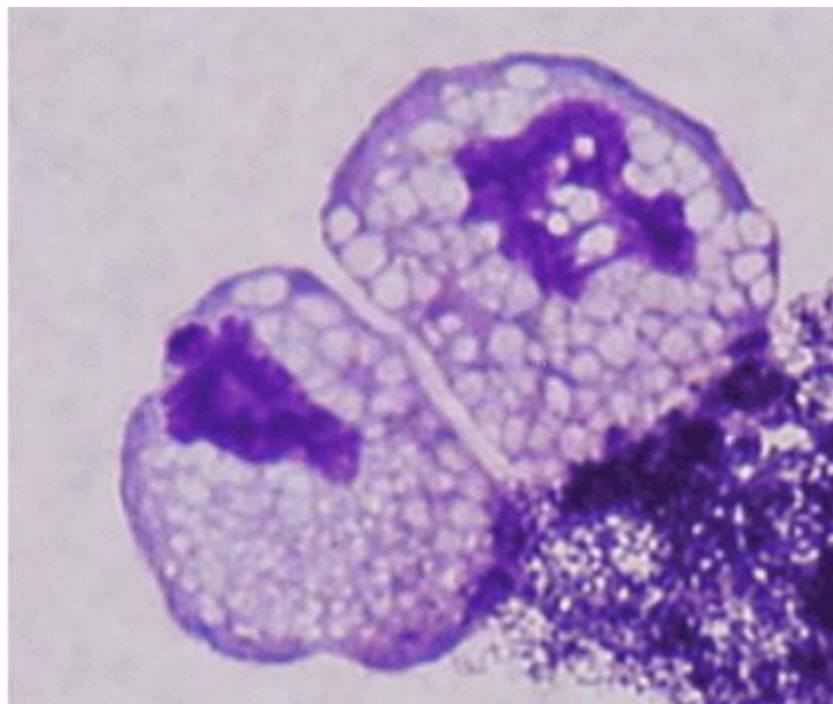
Ten vyjadřuje procentuální zastoupení "destrukční" LD v CSF a rozmezí jeho normálních hodnot je do 10,0% (tab.1) [33].

Aktivita AST v CSF

Aktivita AST je lokalizována z cca 30 % v cytoplasmě a z cca 70 % v mitochondriích téměř všech buněk. Je obsažena též v erythrocytech. V CSF zdravých jedinců se běžně vyskytuje cytoplasmatický isoenzym AST, výskyt mitochondriálního isoenzymu AST je patologickým nálezem svědčícím pro strukturální poškození CNS. Za normální považujeme hodnoty katalytické aktivity AST v CSF do $0,30 \mu\text{kat.l}^{-1}$. Hodnoty vyšší bývají známkou destrukce tkáně, resp. zvýšeného buněčného rozpadu, v oblasti CNS související s likvorovým kompartmentem [33, 42, 43, 47].

Cytologické markery destrukce tkáně CNS

Analýza enzymů "vylitých" z buněk do extracelulárního prostředí CNS, potažmo do CSF, může odhalit aktuálně probíhající destrukci tkáně CNS. Naproti tomu nález pěnitých buněk v cytologickém obraze CSF (obr.4) v základním barvení dle Maye-Grünwalda, případně lipofágů při použití speciálního barvení na lipidy olejovou červení či Sudanovou černí, bývá známkou již proběhlé destrukce tkáně CNS [2, 11].



Obrázek 4: Pěnité buňky v cytologickém obraze CSF pacienta s proběhlou destrukcí tkáně CNS

Detekce krvácení do likvorových cest nástroji urgentní likvorologie

Někdy bývají neuroinfekce doprovázeny krvácením do likvorových cest. V rámci urgentního vyšetření CSF lze tento stav spolehlivě postihnout jednak spektrofotometrickým vyšetřením CSF a především pak cytologickým vyšetřením CSF [2, 6, 11, 38, 50, 68, 71].

Detekce krvácení do likvorových cest spektrofotometrickým vyšetřením CSF

Zbarvení CSF je podmíněno především obsahem krve. Pro čerstvé krvácení je typická přítomnost oxyhemoglobinu, pro krvácení starší přítomnost bilirubinu [38, 50, 71].

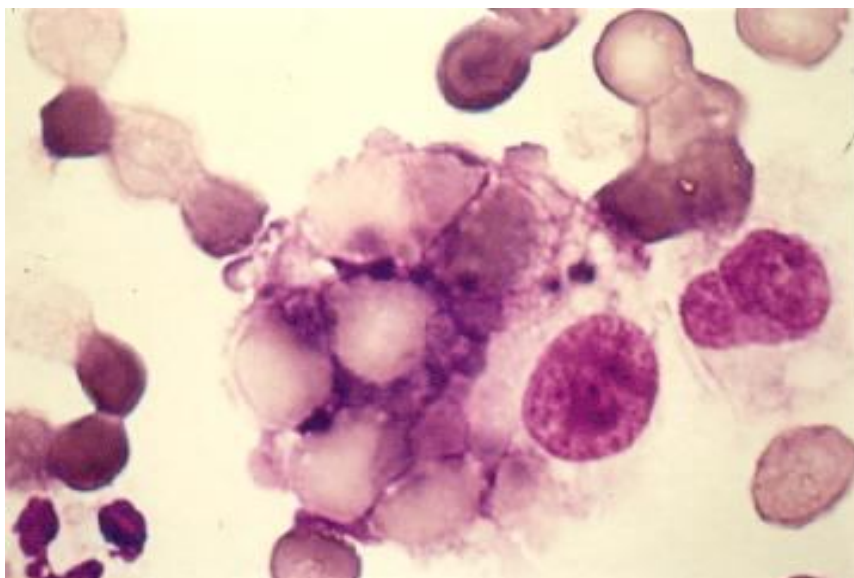
Oxyhemoglobin má červenou barvu. Během 2 hodin od začátku krvácení do subarachnoidálního prostoru se oxyhemoglobin uvolňuje z erytrocytů a maximální hladiny dosahuje během prvních 36 hodin. Po 7 až 10 dnech vymizí. Pro přítomnost oxyhemoglobinu v CSF jsou charakteristické absorpční maximum na vlnové délce 415 nm a dva minoritní absorpční vrcholy na 540 a 580 nm [38, 50, 71].

Bilirubin je žlutý derivát hemu neobsahující železo. Je produkován makrofágy a dalšími buňkami v měkkých mozkových obalech jako následek enzymatické degradace hemoglobinu a objevuje se až po 10 hodinách od začátku krvácení. Maximální hladiny dosahuje po 48 hodinách a v CSF může být přítomen ještě za 2 až 4 týdny po proběhlém krvácení. Takto vzniklý bilirubin má absorpční maximum nejprve na 460 nm (tzv. long bilirubin, nekonjugovaný). Vlivem konjugace s volnými mastnými kyselinami a s aminokyselinami přítomnými v malém množství v CSF dochází později k posunu jeho absorpčního maxima až k vlnové délce 430 nm (tzv. short bilirubin). Ta odpovídá též absorpčnímu maximu bilirubinu sérového původu konjugovaného s kyselinou glukuronovou. Pro klinickou interpretaci je proto nezbytné odlišit přítomnost bilirubinu v CSF, souvisejícího s krvácením do likvorových cest, od bilirubinu sérového původu vyloučením či potvrzením hyperbilirubinemie. Zároveň je nutné vyloučit či potvrdit možné interference vlivem výrazného nárůstu koncentrace bílkoviny v CSF nad $2,0 \text{ g.l}^{-1}$ [38, 50, 71].

Detekce krvácení do likvorových cest cytologickým vyšetřením CSF

Samotná přítomnost erytrocytů v cytologickém obraze CSF nemusí znamenat krvácení do likvorových cest. Ta může být následkem arteficiální příměsi krve v souvislosti s odběrem CSF. Rovněž adheze erytrocytů na membrány aktivovaných monocytů neznamenaají průkaz krvácení. Ty mohou vzniknout in vitro v době mezi provedeným odběrem CSF a jeho laboratorním zpracováním [2, 11].

Za bezpečný průkaz přítomnosti krvácení do likvorových cest lze považovat až nález makrofagických elementů s fagocytovanými erytrocyty, tzv. erytrofágů. Tyto elementy bývají nacházeny v cytologickém obraze CSF již po 4 hodinách od začátku krvácení. O přítomnosti čerstvého krvácení svědčí nález erytrofágů s čerstvě fagocytovanými erytrocyty (obr. 5). S postupem času, cca po 2 až 3 dnech od začátku krvácení, dochází k postupné dekoloraci fagocytovaných erytrocytů (obr.5) až k jejich úplnému vymizení a ke vzniku prázdných vakuol v plasmě erytrofágů. Ty mohou být patrné po dobu 1 až 2 týdnů. Hemoglobin z fagocytovaných erytrocytů je v makrofázích metabolisován na hematogenní pigment hemosiderin obsahující železo, který je v makrofázích detekovatelný od přelomu 4. a 5. dne po začátku krvácení. Makrofágy s obsahem hemosiderinu jsou označovány jako siderofágy (obr.5) a jejich přítomnost slouží jako průkaz proběhlého krvácení do likvorových cest po delší dobu, neboť se mohou v CSF vyskytovat i po několika měsících. Dalším hematogenním pigmentem je hematoidin, který se objevuje v makrofázích kolem 13. dne po vzniku krvácení. Tento pigment rovněž vzniká z hemoglobinu fagocytovaných erytrocytů. Po chemické stránce se jedná o krystalický bilirubin. Vyskytuje se ve formě žlutorezavých kosočtverečných krystalů. Po zániku makrofágů se krystaly z buněk uvolňují a lze je pozorovat v CSF i extracelulárně. Některé krystaly hematoidinu mohou být makrofágy fagocytovány i opakovaně [2, 3, 6, 11].



Obrázek 5: Erythrosiderofág s čerstvě fagocytovanými erytrocyty i s patrnou částečnou dekolorací fagocytovaných erytrocytů v cytologickém obraze CSF pacienta s krvácením do likvorových cest

Stanovení CRP v krvi jako významný doplněk urgentního vyšetření CSF

Výrazné zvýšení koncentrace CRP v CSF je obvykle považováno za specifickou známku probíhající bakteriální purulentní neuroinfekce [6, 7, 51]. Jelikož ale stanovení koncentrace CRP v CSF zatím není běžně dostupným parametrem, spokojíme se v rámci doplnění prezentované sestavy urgentních likvorových vyšetření pouze s hodnocením CRP v krvi, jakožto poměrně spolehlivého a obecně dostupného zánětlivého markeru.

Biologickými funkcemi CRP jsou zejména opsonizace bakterií, parazitů, imunitních komplexů, aktivace komplementu klasickou cestou a účast na odstraňování apoptotických a nekrotických buněk [62, 74].

CRP je produkován hepatocyty. Jeho syntéza se odvíjí od vstupu patogenních, zejména bakteriálních, agens do organismu a aktivace příslušných složek imunitního systému. Součástí aktivace imunitního systému je produkce prozánětlivých cytokinů, včetně interleukinů 1 a 6 (IL-1 a IL-6) a $\text{TNF}\alpha$. IL-6 za podpory IL-1, $\text{TNF}\alpha$ a komplementu stimuluje hepatocyty k produkci proteinů akutní fáze, včetně CRP. Tím pádem jsou bakteriální purulentní neuroinfekce doprovázeny výrazným nárůstem koncentrace CRP v krvi (tab. 1). Při serózních neuroinfekcích zpravidla dosahují koncentrace CRP v krvi hodnot normálních, případně méně výrazně zvýšených (tab. 1) [35, 62, 72, 74]. Zároveň lze předpokládat, že se prozánětlivé cytokiny podílí na stimulaci systému hematoencefalické a hematolikvorové bariéry, klíčovém v selektivním transportu příslušných proteinů, CRP nevyjímaje, z krve do kompartmentu CNS. Koncentrace CRP v CSF tak dramaticky narůstá [6, 7].

MPA skóre pro diagnostiku purulentních neuroinfekcí

MPA (*Meningitis Purulenta Acuta*) skóre reprezentuje naši snahu o multiparametrickou laboratorní diagnostiku akutního stadia purulentní neuroinfekce na základě výsledků vyšetření 5 z výše popsanych parametrů. Těmito parametry jsou aktuální energetické poměry v likvorovém kompartmentu vyjádřené hodnotou KEB, míra permeability hematoencefalické a hematolikvorové bariéry vyjádřená koncentrací celkové bílkoviny v CSF, buněčnost CSF vyjádřená počtem leukocytárních elementů/3, četnost neutrofilních granulocytů v CSF vyjádřená jejich procentuálním zastoupením a koncentrace CRP v krvi. Výsledné hodnoty příslušných parametrů jsou klasifikovány podle hodnotící tabulky (tab. 3) a jejich aritmetický průměr představuje MPA

skóre. Hodnoty MPA skóre do 1,9 interpretujeme jako akutní stadium purulentní neuroinfekce nepravděpodobné, hodnoty od 1,9 do 2,0 jako akutní stadium purulentní neuroinfekce možné a hodnoty nad 2,0 jako akutní stadium purulentní neuroinfekce vysoce pravděpodobné.

Klasifikace	0	1	2	3
KEB [j]	> 20	10 - 20	0 - 10	< 0
buněčnost CSF [leukocyty/3]	< 10	10 - 100	100 - 1 000	> 1 000
neutrofilní granulocyty [%]	0	0,001 - 50	50 - 80	> 80
celková bílkovina v CSF [mg.l ⁻¹]	< 500	500 - 1 000	1 000 - 1 500	> 1 500
CRP v krvi [mg.l ⁻¹]	< 5	5 - 50	50 - 100	> 100

Hodnocení:

< 1,9 - akutní stadium purulentní neuroinfekce nepravděpodobné

1,9 až 2,0 - akutní stadium purulentní neuroinfekce možné

> 2,0 - akutní stadium purulentní neuroinfekce vysoce pravděpodobné

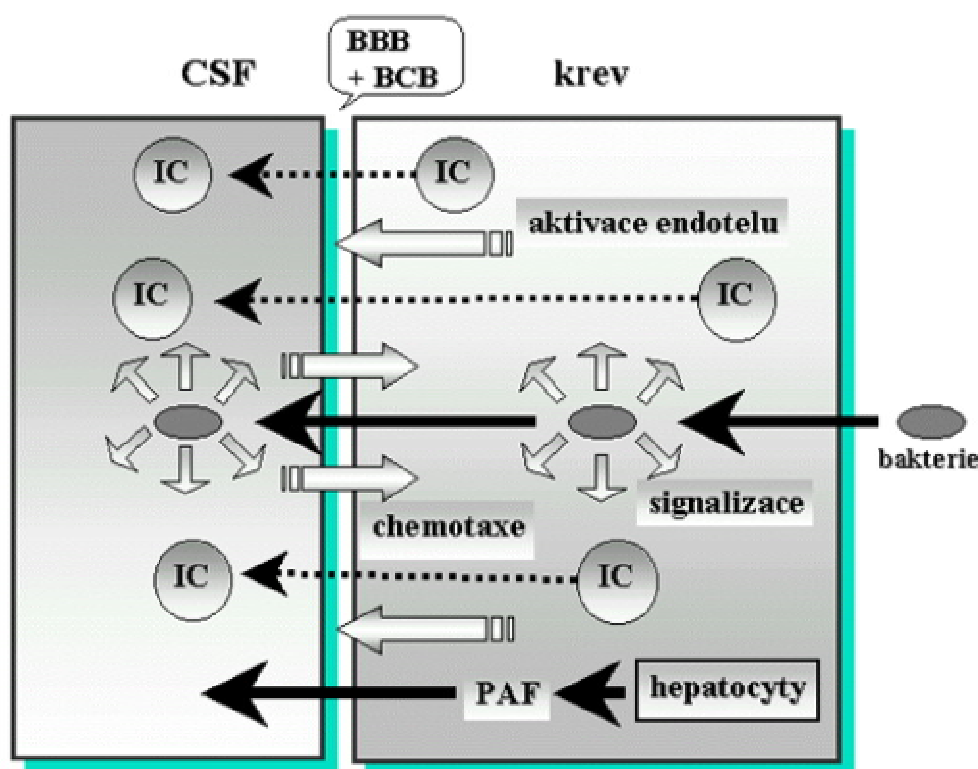
Tabulka 3: Výpočet MPA skóre

Úskalí likvorové diagnostiky purulentních neuroinfekcí

Zdánlivě jednoznačná likvorová diagnostika neuroinfekcí s sebou leckdy nese řadu zvláštností a výjimek z daných pravidel. V dalším textu proto předkládáme obecné zamyšlení nad některými případy z vlastní praxe, které mohou být z hlediska konečné interpretace likvorových nálezů obzvlášť komplikované a matoucí.

Preventivní neuroprotektce v. purulentní neuroinfekce

V dosavadním textu bylo o purulentních neuroinfekcích pojednáno jako o primárních zánětlivých onemocněních CNS infekční, převážně bakteriální, etiologie. V takových případech uvažujeme o vstupu patogenních agens do organismu a jejich přenosu do CNS krevní cestou (obr. 6) [77]. Imunitní systém agens rozeznává a mobilizuje své složky s cílem ochránit organismus před jejich škodlivými účinky. Mobilizace imunitního systému také znamená, a to zřejmě především v případech invaze neurotrofních patogenů do organismu, realizaci určitých preventivních neuroprotektivních opatření připravujících kompartment CNS k proběhnutí plnohodnotného zánětlivého procesu. Následkem aktivace endotelu mozkových kapilár, projevující se jako zvýšená permeabilita hematoencefalické a hematolikvorové bariéry, dochází ke zvýšenému přísunu imunokompetentních buněk i humorálních složek imunitního systému do kompartmentu CNS. Tyto stavy se mohou projevovat poměrně výraznými patologickými nálezy v CSF, někdy velice sugestivně imitujícími samotný zánětlivý proces v CNS. Je tak možné detekovat např. granulocytární pleiocytosu a hyperproteinorachii s hojným zastoupením imunoglobulinů, proteinů akutní fáze, komplementu, inhibitorů proteináz, antioxidantů atd. ještě ve chvíli, kdy k invazi patogenů do CNS nedošlo. V takových případech lze v rámci urgentního vyšetření CSF rozlišit mezi probíhajícím purulentním zánětlivým procesem v kompartmentu CNS a jeho absencí především na základě hodnocení aktuálních energetických poměrů v likvorovém kompartmentu. Probíhajícímu purulentnímu zánětu odpovídá vysoký rozsah anaerobního metabolismu, jeho absence se projevuje normálními energetickými poměry.



Obrázek 6: Schéma stimulace imunitního systému neurotropním patogenním agens (bakterií) s následným rozvojem plnohodnotného zánětlivého procesu v kompartmentu CNS, resp. v CSF, při primární purulentní neuroinfekci

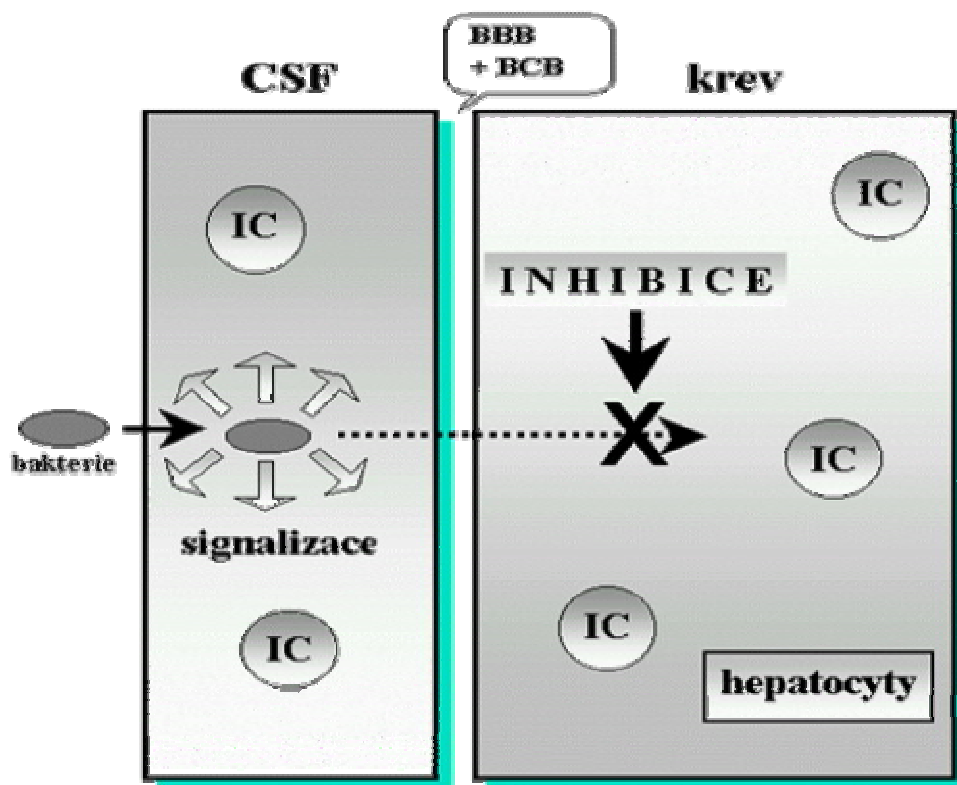
BBB+BCB = hematoencefalická a hematolikvorová bariéra

IC = imunokompetentní buňky

PAF = proteiny akutní fáze

Úskalí likvorové diagnostiky sekundárních purulentních neuroinfekcí

V rámci prezentované urgentní likvorologie se primární purulentní neuroinfekce obvykle projevují výraznou granulocytární pleiocytosou, výraznou hyperproteinorachií, výraznou hypoglykorachií, výraznou hyperlaktátorachií, velmi nízkými hodnotami KEB a vysokými koncentracemi CRP v krvi. V případech sekundárních purulentních neuroinfekcí po traumatech či neurochirurgických zákrocích se však můžeme setkat i se značně alterovanými laboratorními obrazy CSF. Izolovaně či v kombinaci lze pozorovat např. oproti očekávání nízkou buněčnost CSF, jeho atypickou buněčnou skladbu, pouze mírnou hyperproteinorachii až normoproteinorachii, nízkou koncentraci CRP či jeho úplnou absenci v krvi. Tento stav si vysvětlujeme vstupem patogenních agens přímo do imunitně privilegovaného kompartmentu CNS (obr.7) a nikoliv krevní cestou jako v případech primárních purulentních neuroinfekcí [77]. Vstup patogenů do poměrně imunitně pasivního a navíc nepřipraveného prostředí mívá za následek pomalou akceleraci často neplnohodnotné imunitní odpovědi. Za hlavní příčinu považujeme především slabou či chybějící signalizaci přítomnosti patogenů v CNS periferně lokalizovaným složkám imunitního systému v kombinaci s inhibičním působením některých faktorů vůči těmto signálům. Jako příklad lze uvést inhibici působení prozánětlivého IL-1 glukokortikoidy hojně produkovanými kůrou nadledvin následkem stresu [35, 57]. Výsledkem tak může být neadekvátní imunitní odpověď na přítomnost patogenních agens v CNS a zcela atypický laboratorní obraz CSF i krve.



Obrázek 7: Schéma omezené stimulace imunitního systému neurotropním patogenním agens (bakterií) vedoucí k neplnohodnotnému zánětlivému procesu v kompartmentu CNS, resp. v CSF, při sekundární purulentní neuroinfekci

BBB+BCB = hematoencefalická a hematolikvorová bariéra

IC = imunokompetentní buňky

Likvorovou diagnostiku sekundárních purulentních neuroinfekcí u neurochirurgických pacientů či u pacientů s traumaty CNS obvykle komplikuje též řada dalších faktorů. Jedná se o polymorbiditu, včetně současného výskytu dalších zánětlivých fokusů a tkáňové destrukce, dále samotné primární onemocnění CNS (např. subarachnoidální hemoragie či tumory), invazivní neurochirurgický zákrok, následný neinfekční zánět v rámci reparačních a regeneračních procesů v CNS, působení stresu, kontaminaci CNS nepatogenní mikrobiální flórou a obvykle též protektivní aplikaci antibiotik. Výsledkem bývají hodnoty likvorových či krevních markerů imitující purulentní zánět v CNS i v případě jeho absence. Naopak v případě rozvoje skutečného purulentního zánětu v CNS mohou být jeho méně výrazné projevy působením uvedených faktorů zastřeny. Při řešení této nesnadné situace se v rámci urgentní likvorologie opíráme opět především o detekci metabolických projevů oxidačního vzplanutí neutrofilních granulocytů v akutním stadiu purulentní neuroinfekce, spočívajících v intenzivním rozvoji anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu. Zároveň respektujeme zásadu nestavět složitou diagnostiku sekundárních purulentních neuroinfekcí výhradně na jednom parametru, ale vždy dbáme na komplexní zhodnocení celého případu z více úhlů pohledu.

Závěr

Pokroky v laboratorních technologiích se dotýkají též likvorologie. Ty pak umožňují specializovaným pracovištím detekovat látky a buněčné struktury, pomocí kterých lze čím dál tím přesněji popisovat procesy odehrávající se v CNS a tím pomáhat v mnohdy složité diagnostice jeho postižení. V tomto článku jsme se záměrně přidrželi těch nejzákladnějších likvorových parametrů a pokusili jsme se nastínit podstatu a význam každého z nich. Jedná se o parametry obecně dostupné, zároveň však velice důležité, neboť pomocí nich získáváme poměrně rychle

první informace o patologických procesech odehrávajících se v CNS a na jejich základě klinický lékař volí optimální terapeutickou strategii, mnohdy klíčovou pro přežití pacienta. Význam základního, urgentního, vyšetření CSF prezentujeme na diferenciální diagnostice neuroinfekcí. Předkládáme námi používané interpretační postupy, které stavíme nikoliv výhradně na prosté konfrontaci získaných výsledků vyšetření příslušných parametrů v CSF a jejich normálních hodnot, ale na popisování procesů odehrávajících se v CNS. Na racionální bázi se pokoušíme rozptýlit i některé zažitě předsudky a mýty, např. o tom, že přítomnost neutrofilních granulocytů v CSF se rovná purulentní neuroinfekci, či že bezpečným průkazem probíhající neuroinfekce je pouhý nálezný specifických protilátek proti příslušnému infekčnímu agens v CSF. Vždyť pro charakter probíhajících procesů není určující výhradně přítomnost určitých buněk, ale především jejich funkční stav. Přítomnost neutrofilních granulocytů v CSF s aktivovanou membránovou NADPH-oxidázou a s jejich probíhajícím oxidačním vzplanutím tak skutečně odpovídá purulentní neuroinfekci. Neutrofilní granulocyty však také nacházíme hojně v cytologickém obraze CSF před nástupem specifických složek imunitního systému při serózních neuroinfekcích, ale také preventivně v případech přítomnosti neurotrofních patogenů v organismu ještě před jejich průnikem do CNS. Právě v těchto případech předpokládáme vliv systémové stimulace imunitního systému s produkcí prozánětlivých působků rozvolňujících hematoencefalickou a hematollikvorovou bariéru, krom jiného, též pro vstup příslušných imunokompetentních buněk do CNS. Nápadnou granulocytární pleiocytosou ale také mohou být doprovázeny některé posthemoragické stavy, u nichž je navozen především vlivem prozánětlivých cytokinů IL-1 β , IL-6, TNF α a IFN γ , vlivem chemotaktického a stimulačního působení složky komplementu C5a a vlivem adhezivních molekul ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1) exprimovaných na povrchu cévního endotelu mozkových kapilár stav pseudopurulentního neinfekčního zánětu [17, 36, 37]. Rovněž tak přísun humorálních složek imunitního systému do CNS a likvorového kompartmentu, a to včetně specifických protilátek proti určitým infekčním agens, zdaleka nemusí znamenat probíhající neuroinfekci. Ty opět mohou plnit funkci preventivně neuroprotektivní i při výskytu patogenních agens v organismu mimo kompartment CNS. Do CSF se dostávají též přes zcela normálně propustnou hematoencefalickou a hematollikvorovou bariéru. Detekce specifických protilátek v CSF tak může být velice svízelná a bez znalostí dalších souvislostí klinická interpretace získaných výsledků zavádějící. Ostatně problematikou intrathekální produkce protilátek se zabývá celá jedna, rovněž velice významná, oblast likvorologie. Všechny tyto skutečnosti nás pak vedou k velkému respektu a k velice uvážlivé interpretaci výsledků laboratorních vyšetření CSF s akcentem na jejich komplexnost a nevytrhávání jednotlivostí z kontextu všech získaných informací.

Literatura

1. Abbruscato TJ, Davis TP. Combination of Hypoxia/Aglycemia Compromises In Vitro Blood-Brain Barrier Integrity. JPET. 1999;289(2):668-675.
2. Adam P. Cytologie likvoru. 1st ed. Pardubice, Stapro, 1995.
3. Adam P, Nekola P, Zeman D, et al. Rutinní diagnostické možnosti cytologie mozkomíšního moku. Ověření návrhu klasifikace cytologických nálezů, klinický přínos a meze používaných metodik. Klin Biochem Metab. 1998;6(27):258-265.
4. Adam P, Sobek O, Zitta R, et al. Kvantitativní stanovení likvorového proteinogramu na nefelometru BN II Dade Behring. Klin Biochem Metab. 2000;8(29):213-216.
5. Adam P, Sobek O, Pejznochová H, et al. Detekce specifických protilátek v likvoru a v séru na přístroji IMX Abbott. Klin Biochem Metab. 2000;8(29):217-218.
6. Adam P, Tábořský L, Sobek O, et al. Cerebrospinal Fluid. Advances in Clinical Chemistry. 1st ed. San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Academic Press, 2001:1-62.
7. Adam P, Tábořský L, Sobek O, Kelbich P, Průcha M. Proteinologie mozkomíšního moku. 1st ed. Praha, Medica News Publishers, 2002.

8. Adam P, Votruba M, Hrbková M, Sobek O, Turek S. The Scavenger Effect of Albumin in CSF of Patients with Damaged Blood Brain Barrier (The big albumin story-part two). *Klin Biochem Metab.* 2002;10(31):122-125.
9. Adam P, Sobek O, Táborský L, Tutterová O, Žáček P. Clinical Syndromes of Cerebrospinal Fluid Proteinogram. *Klin Biochem Metab.* 2003;11(32):221-222.
10. Adam P, Sobek O, Táborský L. Biologické chování prealbuminu v likvoru. *Klin Biochem Metab.* 2003;11(32):223-225.
11. Adam P, Táborský L, Sobek O, Kelbich P. *Cytology of Cerebrospinal Fluid.* 1st ed. Praha, Medica News Publishers, 2003.
12. Adam P, Andrýs C, Friedecký B, et al. Doporučení k vyšetřování mozkomíšního moku. *Klin Biochem Metab.* 2006;14(35):125-127.
13. Banks WA. Physiology and pathology of the blood-brain barrier: implications for microbial pathogenesis, drug delivery and neurodegenerative disorders. *Journal of NeuroVirology.* 1999;5:538-555.
14. Bednář B, Bilčík P, Brozman M, et al. *Patologie.* 1st ed. Praha, Avicenum, 1982: 523-526.
15. Bednářová J, Štourač P. Intratekální syntéza specifických antiborreliových IgG protilátek a její význam v diagnostice neuroborreliózy. *Klin Biochem Metab.* 2000;8(29):219-223.
16. Blennow K, Hampel H. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology.* 2003;2:605-613.
17. Fassbender K, Hodapp B, Rossol S, et al. Inflammatory cytokines in subarachnoid haemorrhage: association with abnormal blood flow velocities in basal cerebral arteries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2001;70(4):534-537.
18. Felgenhauer K. Laboratory Diagnosis of Neurological Diseases. In Thomas L (ed.): *Clinical Laboratory Diagnostics. Use and Assessment of Clinical Laboratory Results.* Frankfurt/Main, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 1998:1308-1326.
19. Gazzolo D, Grutzfeld D, Michetti F, et al. Increased S100B in Cerebrospinal Fluid of Infants with Bacterial : Relationship to Brain Damage and Routine Cerebrospinal Fluid Findings. *Clinical Chemistry.* 2004;50:941-944.
20. Gendelman HE, Rappaport J, Hickey W. The blood-brain barrier: a defensive shield or a perpetrator of microbial invasion? Guest Editorial. *Journal of NeuroVirology.* 1999;5:533-537.
21. Gloor SM, Wachtel M, Bolliger MF, et al. Molecular and cellular permeability control at the blood-brain barrier. *Brain Research Reviews.* 2001;36:258-264.
22. Glosová L, Hort J, Bojar M, Škoda D. Vyšetřování celkového tau proteinu, phospho-tau proteinu a beta-amyloidu v mozkomíšním moku - naše první zkušenosti. *Klin Biochem Metab.* 2004;12(33):113-116.
23. Glosová L, Hort J, Koukolík F, Bojar M, Škoda D. Assessment of total tau protein, phospho tau and beta amyloid in cerebrospinal fluid of patients with neurodegenerative disorders, an autopsy correlation study. *Klin Biochem Metab* 2006;14(35):14-16.
24. Havrdová E, Jedlička P, Marečková H, Kalanin J, Hána I. Cytokiny a lymfocytární subpopulace v likvoru a v periferní krvi u roztroušené sklerózy. *Klin Biochem Metab.* 1997;5(26):57-65.
25. Heizmann CW, Fritz G, Schäfer BW. S100 proteins: structure, functions and pathology. *Frontiers in Bioscience.* 2002;7:1356-1368.
26. Hickey WF. Leukocyte traffic in the central nervous system: the participants and their roles. *Seminars in Immunology.* 1999;11:125-137.
27. Holub M. Infekce centrálního nervového systému: vliv nedostatečné imunitní odpovědi. *Klin mikrobiol inf lék.* 2001;7(5):118-124.
28. Hořejší V, Bartůňková J. *Základy imunologie.* 3rd ed. Praha, Triton, 2005.
29. Kalhous J, Kelbich P, Sláma K st. Laboratorní průkaz likvorey v ORL oblasti. *Otorinolaryng a Foniatic.* 2004;53:196-199.
30. Karlson P. *Základy biochemie.* 3rd ed. Praha, Academia, 1981.

31. Kelbich P, Slavík S, Jasanská J, et al. Hodnocení energetických poměrů v likvorovém kompartmentu pomocí vyšetřování vybraných parametrů metabolismu glukosy v CSF. *Klin Biochem Metab.* 1998;6(27):213-225.
32. Kelbich P, Jílek D, Král V, et al. Likvorové nálezy u pacientů s neurosyfilis. *Klin Biochem Metab.* 2000;8(29):229-239.
33. Kelbich P, Šimečková M, Adam P, et al. Likvorové nálezy u pacienta s bakteriální meningitidou - kazuistika. *Klin Biochem Metab.* 2002;10(31):54-68.
34. Kelbich P, Hanuljaková E, Chmelíková V. Contemporary Aspects of Cerebrospinal Fluid Analysis. *Klin Biochem Metab.* 2004;12(33):106-112.
35. Krejsek J, Kopecký O. *Klinická imunologie.* 1st ed. NUCLEUS HK, 2004.
36. Kuneš P. Interleukin-6 a zánětlivá odpověď v kardiochirurgii. *Prakt Lék.* 2000;80:614-616.
37. Kuneš P. Interleukin-10 a protizánětlivá odpověď v kardiochirurgii. *Prakt Lék.* 2001;81:555-560.
38. Lamers KJB, Wevers RA. Cerebrospinal Fluid Diagnostics: Biochemical and Clinical Aspects. *Klin Biochem Metab.* 1995;24:63-75.
39. Magistretti PJ, Pellerin L. Astrocytes Couple Synaptic Activity to Glucose Utilization in the Brain. *News Physiol Sci.* 1999;14:177-182.
40. Mankowski JL, Queen SE, Kirstein LM, et al. Alterations in blood-brain barrier glucose transport in SIV-infected macaques. *Journal of NeuroVirology.* 1999;5:695-702.
41. Marchi N, Cavaglia M, Fazio V, et al. Peripheral markers of blood-brain barrier damage. *Clinica chimica Acta.* 2004;342:1-12.
42. Masopust J. *Vybrané kapitoly z patobiochemie orgánů I.* 1st ed. Praha, Medprint, 1993.
43. Masopust J. *Klinická biochemie. Požadování a hodnocení biochemických vyšetření.* 1st ed. Praha, Karolinum, 1998:667-690.
44. Miller DW. Immunobiology of the blood-brain barrier. *Journal of Neurovirology.* 1999;5:570-578.
45. Myslivec O, Beneš J. Průnik antibiotik do likvoru nemocných s hnisavou meningitidou. *Klin mikrobiol inf lék.* 2001;7(5):125-130.
46. Nicholls DG, Budd SL. Mitochondria and Neuronal Survival. *Phys Rev.* 2000;80(1):315-360.
47. Pecháň I. Perspektívy enzymológie cerebrospinálneho likvoru. *Čs Neurol Neurochir.* 1989;52(84):11-21.
48. Persidsky Y. Model systems for studies of leukocyte migration across the blood-brain barrier. *Journal of NeuroVirology.* 1999;5:579-590.
49. Petzold A, Jenkins R, Watt HC, et al. Cerebrospinal fluid S100B correlates with brain atrophy in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters.* 2003;336:167-170.
50. Racek J, Eiselt J, Friedecký B, et al. *Klinická biochemie.* 1st ed. Praha, Galén 1999:256-257.
51. Rajs G, Finzi-Yeheskel Z, Rajs A, Mayer M. C-Reactive Protein Concentrations in Cerebral Spinal Fluid in Gram-positive and Gram-negative Bacterial. *Clinical Chemistry* 2002;48:591-592.
52. Reiber H. Dynamics of brain-derived proteins in cerebrospinal fluid. *Clinica Chimica Acta.* 2001;310:173-186.
53. Reiber H, Otto M, Trendelenburg Ch, Wormek A. Reporting Cerebrospinal Fluid Data: Knowledge Base and Interpretation Software. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39(4):324-332.
54. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *Journal of the Neurological Sciences.* 2001;184:101-122.
55. Roubalová K, Schramlová J., Suchánková A, et al. Laboratorní diagnostika herpetických infekcí u pacientů s onemocněním nervového systému. *Klin Biochem Metab.* 1997;5(26):19-23.
56. Sánchez -Abarca LI, Tabernero A, Medina JM. Oligodendrocytes Use Lactate as a Source of Energy and as a Precursor of Lipids. *Glia.* 2001;36:321-329.
57. Schreiber V, Blahoš J, Broulík P. *Stres.* 1st ed. Praha, Avicenum, 1985.

58. Schurr A, Miller JJ, Payne RS, Rigor BM. An Increase in Lactate Output by Brain Tissue Serves to Meet the Energy Needs of Glutamate-Activated Neurons. *J Neurosci.* 1999;19(1):34-39.
59. Simpson IA, Appel NM, Hokari M, et al. Blood-Brain Barrier Glucose Transporter. *J Neurochem.* 1999;72(1):238-247.
60. Simpson IA, Vannucci SJ, DeJoseph MR, Hawkins RA. Glucose Transporter Asymmetries in Bovine Blood-Brain Barrier. *J Biol Chem.* 2001;276(16):12725-12729.
61. Sobek O, Adam P, Táborský L, Průcha M, Veselá B. Akutní a chronické formy neuroborreliózy-likvorová diferenciální diagnostika. *Klin Biochem Metab.* 2002;10(31):43-50.
62. Steel DM, Whitehead AS. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunology Today.* 1994;15:81-88.
63. Suchánková A, Roubalová K, Machová H, et al. Sledování výskytu intratekálních protilátek u pacientů s chorobami nervového systému zánětlivého, metabolického nebo vertebrogenního původu. *Klin mikrob inf lék.* 2001;7(5):131-135.
64. Šterzl J. Imunitní systém a jeho fyziologické funkce. 1st ed. Praha, ČIS, 1993.
65. Štourač P. Antineuronální autoprotilátky vůči antigenům centrálního nervového systému detekované metodou Western blot a imunofluorescencí u pacientů s myasthenia gravis a Lambertovým-Eatonovým myastenickým syndromem. *Klin Biochem Metab.* 1998;6(27):207-209.
66. Štourač P. Oligoklonální IgG syntéza u autoimunitních neurologických paraneoplastických syndromů. *Klin Biochem Metab.* 2000;8(29):224-228.
67. Teunissen ECh, Dijkstra Ch, Polman Ch. Biological markers in CSF and blood for axonal degeneration in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2005;4:32-41.
68. Tichý J, Adam P, Bauer J, et al. *Neurologie.* 1st ed. Praha, Karolinum, 1997:228-261.
69. Tichý J. Subarachnoidální krvácení - nálezy v likvoru, zejména hladina cukru. *Čes a slov Neurol Neurochir* 2003;66/99:14-19.
70. Tumani H, Nau R, Felgenhauer K. b-trace protein in cerebrospinal fluid: A blood-CSF barrier related evaluation in neurological diseases. *Ann Neurol.* 1998;44:885-889.
71. Tyl D, Adam P. Obraz intermeningeálního krvácení v mozkomíšním moku. *Klin Biochem Metab.* 1997;5(26):24-27.
72. Van der Meer V, Neven AK, Van den Broek PJ, Assendelft WJJ. Diagnostic value of C reactive protein in infections of the lower respiratory tract: systematic review. *BMJ.* 2005;331:26-29.
73. Van Geel WJA, Rosengren LE, Verbeek MM. An enzyme immunoassay to quantify neurofilament light chain in cerebrospinal fluid. *Journal of Immunological Methods.* 2005;296:179-185.
74. Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Molecular Immunology* 2001;38:189-197.
75. Votruba M, Adam P, Hrbková M, Hroudová J, Sobek O. Mechanismus účinku volných radikálů na funkční stav hematolikvorové bariéry. *Klin Biochem Metab* 2000;4(8):240-243.
76. Xiong Y, Peterson PL, Lee ChP. Alterations in cerebral energy metabolism induced by traumatic brain injury. *Neurological Research* 2001;23:129-138.
77. Zhang J-R, Tuomanen E. Molecular and cellular mechanisms for microbial entry into the CNS. *Journal of NeuroVirology.* 1999;5:591-603.
78. Zuniga FA, Shi G, Haller JF, et al. A Three-dimensional Model of the Human Facilitative Glucose Transporter Glut1. *J Biol Chem.* 2001;276(48):44970-44975.

[Zpět](#)
[Úvodní stránka](#)

Aktualizace 25. 2. 2007