

# Buněčnost likvoru, energetické poměry v likvorovém kompartmentu a intenzita zánětlivé odpovědi v centrálním nervovém systému

Kelbich P.<sup>1,2,3,4</sup>, Hejčl A.<sup>5,6,12,13</sup>, Procházka J.<sup>7</sup>, Selke Krulichová I.<sup>8</sup>, Peruthová J.<sup>1,4,9</sup>, Hanuljaková E.<sup>2,4,10</sup>, Špička J.<sup>11</sup>

<sup>1</sup>Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie Nemocnice Kadaň s.r.o.

<sup>2</sup>Oddělení klinické biochemie, Krajská zdravotní, a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

<sup>3</sup>Ústav klinické imunologie a alergologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

<sup>4</sup>Laboratoř pro likvorologii a neuroimunologii - Topelex s.r.o., Praha

<sup>5</sup>Neurochirurgická klinika Univerzity J. E. Purkyně, Krajská zdravotní, a. s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

<sup>6</sup>Mezinárodní centrum klinického výzkumu, Brno

<sup>7</sup>Oddělení intenzivní medicíny, Krajská zdravotní, a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

<sup>8</sup>Ústav lékařské biofyziky, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

<sup>9</sup>Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice

<sup>10</sup>Oddělení klinické biochemie, Krajská zdravotní, a.s. - Nemocnice Most, o.z.

<sup>11</sup>Ústav laboratorní diagnostiky, Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha

<sup>12</sup>Ústav experimentální medicíny Akademie věd České republiky, v.v.i., Praha

<sup>13</sup>Neurochirurgická klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Ústřední vojenské nemocnice v Praze

## SOUHRN

**Cíle studie:** 1. Zhodnocení buněčnosti likvoru (CSF, z angl. cerebrospinal fluid = mozkomíšni mok), koncentrací glukózy v CSF, hodnot glukózového kvocientu ( $Q_{glu.}$ ), koncentrací laktátu v CSF a hodnot koeficientu energetické bilance (KEB) coby ukazatelů intenzity zánětlivého procesu v centrálním nervovém systému (CNS) ve skupinách pacientů bez postižení CNS, pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie, pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie a pacientů s purulentními záněty CNS s extracelulárními bakteriemi v patogenezi.

2. Porovnání informačního potenciálu parametrů energetického metabolismu glukózy v likvorovém kompartmentu v souboru vyšetřených pacientů, tzn. koncentrací glukózy v CSF, hodnot  $Q_{glu.}$ , koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB.

**Typ studie:** Retrospektivní studie.

**Materiál a metody:** Vyšetřili jsme 133 vzorků CSF pacientů bez postižení CNS, 227 vzorků CSF pacientů s mírnými serózními záněty CNS s intrathekální syntézou imunoglobulinů neinfekční etiologie, 208 vzorků CSF pacientů se serózními záněty CNS infekční příčiny a 140 vzorků CSF pacientů s purulentními záněty CNS s extracelulárními bakteriemi v patogenezi. Oblastí našeho zájmu byly buněčnost CSF, koncentrace glukózy v CSF, hodnoty  $Q_{glu.}$ , koncentrace laktátu v CSF a hodnoty KEB. Pro statistické hodnocení vybraných parametrů jsme použili D'Agostinův omnibus test, Kruskalův-Wallisův test s následnou post hoc analýzou Dunnovou metodou, Spearmanův korelační koeficient a multinomiální logistickou regresní analýzu.

**Výsledky:** V likvorovém kompartmentu pacientů bez postižení CNS jsme nezjistili žádné změny na úrovni buněčnosti CSF ani změny energetické. V likvorovém kompartmentu pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie byly pouze v některých případech patrné zvýšené buněčnosti CSF a jisté odchylky hodnot  $Q_{glu.}$ , koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB od normálu. V likvorovém kompartmentu pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie byly pozorovány projevy nápadně zvýšené intenzity zánětlivého procesu v likvorovém kompartmentu především na úrovni buněčnosti CSF, koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB. Vysoká intenzita purulentního zánětlivého procesu bakteriální etiologie v CNS se výrazně projevila na úrovni všech sledovaných parametrů. Nejtěsnější vztah jsme v našem souboru pacientů zjistili mezi buněčností CSF a hodnotami KEB ( $p = -0,770$ ), následoval vztah mezi buněčností CSF a koncentracemi laktátu v CSF ( $p = 0,734$ ), hodnotami  $Q_{glu.}$  ( $p = -0,676$ ) a koncentracemi glukózy v CSF ( $p = -0,544$ ). Využitelnost uvedených parametrů k predikci intenzity zánětlivého procesu v CNS jsme ověřili pomocí multinomiální logistické regresní analýzy. Nejvyšší predikční potenciál měly buněčnost CSF se 71,9 % a KEB se 71,6 % správně zařazených pacientů. Následovaly koncentrace laktátu v CSF s 64,7 %,  $Q_{glu.}$  s 58,8 % a koncentrace glukózy v CSF s 54,7 % správně klasifikovaných pacientů.

**Závěr:** Získané výsledky podpořily vhodnost využití úrovní buněčnosti CSF, koncentrací glukózy v CSF, hodnot  $Q_{glu.}$ , koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB k diagnostice postižení a monitorování intenzity zánětů v CNS. Navíc umožnily vytvořit pořadí energetických parametrů v likvorovém kompartmentu pacientů našeho souboru podle úrovně jejich informačního potenciálu. Nejpříznivějších výsledků pro hodnocení intenzity zánětlivého procesu v CNS tak bylo dosaženo v případě hodnot KEB, následovaly je koncentrace laktátu v CSF a hodnoty  $Q_{glu.}$  a nejméně příznivých výsledků jsme dosáhli v případě koncentrací glukózy v CSF.

**Klíčová slova:** buněčnost CSF, energetické poměry v likvorovém kompartmentu, intenzita zánětu v CNS

## SUMMARY

### **Kelbich P., Hejčí A., Procházka J., Selke Krulichová I., Peruthová J., Hanuljaková E., Špička J.: Number of cells in the cerebrospinal fluid, energy relations in the cerebrospinal fluid compartment and intensity of inflammatory response in the central nervous system**

*Objective:* 1. Evaluate the numbers of cells in the cerebrospinal fluid (CSF), glucose concentrations in the CSF, values of the glucose quotient ( $Q_{glu}$ ), lactate concentrations in the CSF and values of the coefficient of energy balance (KEB) as indicators of intensity of the inflammatory process in the CSF in groups of patients without CNS impairment, with slight serous inflammation of non-infectious aetiology in the CNS, with serous inflammation of infectious aetiology in the CNS and of patients with purulent inflammation in the CNS with extracellular bacteria in pathogenesis.

2. Compare the information potential of the used parameters of the glucose energy metabolism in the CSF compartments in our group of the investigated patients, i.e. concentrations of glucose in the CSF, values of the  $Q_{glu}$ , concentrations of lactate in the CSF and values of the KEB.

*Design:* Retrospective study.

*Material and Methods:* We examined 133 CSF specimens in patients without CNS impairment, 227 CSF specimens in patients with slight serous inflammation with intrathecal synthesis of immunoglobulins of non-infectious aetiology in the CNS, 208 CSF specimens in patients with serous inflammation of infectious aetiology in the CNS and 140 CSF specimens in patients with purulent inflammation in the CNS with extracellular bacteria in pathogenesis. The objects of our interest were numbers of cells in the CSF, concentrations of glucose in the CSF, values of the  $Q_{glu}$ , concentrations of lactate in the CSF and values of the KEB. The D'Agostino Omnibus test, the Kruskal-Wallis test with follow-up post hoc analysis using the Dunn's method, the Spearman correlation coefficient and the multinomial logistic regression analysis were used for statistical analysis of the examined parameters.

*Results:* We did not find any changes in the numbers of cells in the CSF and in energy ratios in the CSF compartment of patients without CNS impairment. We found raised numbers of cells in the CSF and slight alterations of the glucose quotients, lactate concentrations in the CSF and the values of the KEB only in some patients with slight serous inflammations of non-infectious aetiology in the CNS. We observed manifestations of conspicuously increased intensity of inflammation in the numbers of cells in the CSF, lactate concentrations in the CSF and the values of the KEB in patients with serous inflammations of infectious aetiology in the CNS. Very high intensity of purulent inflammation in the CNS of bacterial aetiology was well apparent in all the evaluated parameters. Concerning the relationship, either direct or indirect, between the number of cells in the CSF and the other parameters, we found the highest correlation between the number of cells in the CSF and the values of the KEB ( $\rho = -0.770$ ), followed by the lactate concentrations in the CSF ( $\rho = 0.734$ ), the  $Q_{glu}$  ( $\rho = -0.676$ ) and the glucose concentrations in the CSF ( $\rho = -0.544$ ). We verified the applicability of the parameters mentioned above for prediction of the intensity of inflammation in the CNS via multinomial logistic regression analysis. The number of cells and the KEB, with 71.9% and 71.6% respectively, has the highest prediction potential of the correctly classified patients. They were followed by the lactate concentration in the CSF with 64.7%, the  $Q_{glu}$  with 58.8% and the glucose concentration with 54.7% of the correctly classified patients.

*Conclusion:* Our study supports the applicability of the numbers of cells in the CSF, the glucose concentrations in the CSF, the values of the  $Q_{glu}$ , the lactate concentrations in the CSF and the values of the KEB for diagnosing CSF impairment and for monitoring the intensity of inflammation in the CNS. Further, the results enabled determination of the information potential of the energy parameters. The values of the KEB were most suitable for evaluation of the intensity of inflammation in the CNS. Less suitable results were achieved in case of the lactate concentrations in the CSF. Even worse results were observed in case of the values of  $Q_{glu}$  and the least suitable results were observed in case of the glucose concentrations in the CSF.

*Key words:* number of cells in the CSF, energy relations in the CSF compartment, intensity of the inflammatory response in the CNS

## Úvod

### **Intenzita zánětlivého procesu v CNS**

Určení charakteru zánětlivého procesu v likvorovém kompartmentu má zpravidla zásadní význam pro odhalení příčiny postižení centrálního nervového systému (CNS). Důležitá je znalost imunokompetentních buněk coby nositelů zánětlivé reakce v CNS a rozsah anaerobního metabolismu v likvorovém kompartmentu. Ten je výsledkem jejich aktivity a tedy intenzity imunitní zánětlivé odpovědi [1-3, 16, 18, 20]. Lze předpokládat, že robustnějšímu a odolnějšímu faktoru odpovídá imunitní systém s větší intenzitou, což zvyšuje riziko poškození tkáně v oblasti zánětlivého procesu [4, 8]. Jak ale působení škodlivého faktoru slábne, tak se snižuje intenzita imunitní odpovědi. Z toho vyplývá, že znalost intenzity zánětu může mít význam pro diagnostiku postižení CNS a pro monitorování,

případně predikci jeho dalšího vývoje [8, 9, 19, 21]. Otázkou tedy je, jak intenzitu imunitní zánětlivé reakce kvantifikovat.

Kvantifikací intenzity zánětlivého procesu v CNS může být buněčnost likvoru (CSF, z angl. cerebrospinal fluid = mozkomíšní mok), vyjadřovaná jako počet leukocytů v určitém objemu CSF (1 nebo 3  $\mu$ l) [1, 3]. Vychází z představy, že počtu buněk účastnících se imunitní reakce odpovídá velikost jejich společného účinku [8, 9]. Jistým omezením ale může být nerovnoměrné rozptýlení hodnocených buněk v CSF a rozdíl mezi počtem a složením buněk v epicentru patologického procesu (např. v mozковém parenchymu nebo na meningách) a v oblasti odběru vzorku CSF pro laboratorní vyšetření (zejména lumbální oblast). Imunokompetentní buňky se kumulují v postižené tkáni [12, 14]. Část jich je занесена do oblasti odběru CSF. Lze předpokládat, že platí přímá úměra mezi množstvím buněk v epicentru pa-

tologického procesu v CNS a jejich počtem ve vzorku CSF. I do této úvahy se ale může negativně promítnout například porucha cirkulace CSF [13].

Další možností kvantifikace intenzity zánětlivého procesu v CNS je vyšetřování energetických poměrů v likvorovém kompartmentu. To spočívá v hodnocení spotřeby energetického substrátu, čili glukózy, v CSF nebo v hodnocení koncentrace produktu anaerobního metabolismu, čili laktátu, v CSF nebo v hodnocení produkce adenosintrifosfátu (ATP) v likvorovém kompartmentu s využitím koeficientu energetické bilance (KEB) [5, 10, 11, 16, 17, 22]. KEB tedy respektuje situaci na vstupu (koncentrace glukózy v CSF) i na anaerobním konci (koncentrace laktátu v CSF) energetického metabolismu v likvorovém kompartmentu [15].

$$KEB = 38 - 18 * \frac{[laktát_{CSF}]}{[glukóza_{CSF}]}$$

## Dvě cesty vzniku CSF

Za fyziologických podmínek vzniká cca 60 až 75 % CSF v choroidálním plexu komorového systému mozku ultrafiltrací krevní plazmy [26, 28]. Lze předpokládat, že touto cestou se do likvorového kompartmentu dostávají regulované složky imunitního systému, humorální i buněčné. Tato část CSF obsahuje též podstatnou část glukózy pro výživu imunokompetentních buněk.

Druhá cesta vzniku CSF spočívá v řízené látkové výměně mezi krví a buňkami mozкового parenchymu na endotelu mozkových kapilár (tzv. hematoencefalická bariéra). Součástí tohoto procesu je produkce extracelulární tekutiny mozku. Extracelulární tekutina vytváří prostředí pro buňky CNS a odvádí produkty jejich metabolismu [6, 7, 23 - 25, 27, 28]. Po přestupu přes stěny komorového systému mozku pak doplňuje zbývajících 25 až 40 % do celkového objemu CSF [26].

Dodávka glukózy z krevní plazmy v choroidálním plexu a příspěvek laktátu z extracelulární tekutiny mozku se tak podílejí na normálním složení CSF. Zánětlivé procesy v CNS či v likvorovém kompartmentu mohou být příčinou odchylek od dynamicky rovnovážného stavu. Na hodnocení těchto změn je pak založeno diagnostické využití vývoje energetických poměrů v likvorovém kompartmentu [8, 15-18].

## Cíle studie

Prvním cílem studie je zhodnotit úroveň buněčnosti CSF, koncentrací glukózy v CSF, hodnot glukózového kvocientu ( $Q_{glu.}$ ), koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB coby ukazatelů intenzity zánětlivého procesu v CNS ve skupinách pacientů bez postižení CNS (K), pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie (MZ), pacientů se serózními záněty CNS infekční příčiny (S) a pacientů s purulentními záněty CNS s extracelulárními bakteriemi v patogenezi (P).

Druhým cílem studie je porovnání informačního potenciálu používaných parametrů energetického metabolismu glukózy v likvorovém kompartmentu v našem souboru vyšetřených pacientů, tzn. koncentrací glukózy v CSF, glukózového kvocientu ( $Q_{glu.}$ ), koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB.

## Materiál a metody

Pro naši studii jsme použili výsledky vyšetření 708 vzorků CSF pacientů rozdělených do 4 skupin. První skupinu tvoří 133 pacientů bez prokázaného postižení CNS (kontrolní skupina = K), druhou skupinu tvoří 227 pacientů s mírnými serózními záněty CNS s intrathekální syntézou imunoglobulinů neinfekční etiologie (mírné záněty = MZ), třetí skupinu tvoří 208 pacientů se serózními záněty CNS infekční příčiny (serózní záněty = S) a čtvrtou skupinu tvoří 140 pacientů s purulentními záněty CNS zapříčiněnými extracelulárními bakteriemi (purulentní záněty = P).

Pouze v 653 případech bylo spolu se vzorkem CSF provedeno paralelní vyšetření krve. Proto jsme při hodnocení  $Q_{glu.}$  vycházeli z menšího počtu údajů (K = 131 pacientů; MZ = 223 pacientů; S = 181 pacientů a P = 118 pacientů).

U všech pacientů bylo provedeno vyšetření buněčnosti CSF (počtu leukocytů v CSF) ve Fuchsově-Rosenthalově komůrce, stanovení koncentrací glukózy v CSF a v krvi enzymatickými metodami s hexokinázou a glukózooxidázou a peroxidázou, stanovení koncentrací laktátu v CSF enzymatickou metodou s laktát-oxidázou a peroxidázou, výpočet hodnot  $Q_{glu.}$  představujících poměr koncentrací glukózy v CSF a v krvi a výpočet hodnot KEB představujících průměrný počet molekul adenosintrifosfátu (ATP) vyprodukovaných za aktuálních energetických poměrů v likvorovém kompartmentu z jedné molekuly glukózy (viz výše).

Testování normality rozložení souborů hodnot příslušných parametrů ve všech skupinách pacientů bylo provedeno D'Agostinovým omnibus testem. Výsledky testu ukázaly, že krom koncentrací laktátu ve skupině pacientů bez postižení CNS (K) nemůžeme předpokládat normální rozložení hodnot. Proto jsme pro porovnání skupin pacientů použili Kruskalův-Wallisův test s následnou post hoc analýzou Dunnovou metodou a pro hodnocení korelací mezi buněčností CSF a parametry energetického metabolismu v likvorovém kompartmentu Spearmanův korelační koeficient. Využitelnost uvedených parametrů k predikci intenzity zánětlivého procesu v CNS jsme ověřili pomocí multinomiální logistické regresní analýzy.

## Výsledky a diskuze

### Buněčnost CSF

Počet imunokompetentních buněk v CSF pacientů bez postižení CNS (K) je ve všech případech nízký (Tabulka 1 a 2) a odpovídá potřebě zajištění nezbytného imunitního dozoru v likvorovém kompartmentu.

Počet imunokompetentních buněk v CSF pacientů s mírnými záněty neinfekční etiologie v CNS (MZ) je oproti skupině pacientů bez postižení CNS (K) statisticky významně zvýšený (Tabulka 1). V 53,3 % je buněčnost CSF normální, v 46,7 % pak mírně až výrazněji zvýšená (Tabulka 2). V této skupině pacientů lze tedy pozorovat tendenci ke zvýšené přítomnosti imunokompetentních buněk v likvorovém kompartmentu odpovídající zvýšené zánětlivé aktivitě v CNS.

**Table 1:** The results of the examination of CSF in 4 groups of patients

	K		MZ		S		P	
	mean (SD)	median (range)	mean (SD)	median (range)	mean (SD)	median (range)	mean (SD)	median (range)
Leukocytes in CSF [elements/3]	3.63 (2.47)	3.00a (0-10) MZ, S, P	19.52 (34.86)	10.00 b (0-325) K, S, P	800.30 (977.48)	444.50 c (2-7168) K, MZ, P	10 648.66 (15 149.01)	4 414.50 d (35-94720) K, MZ, S
Glucose in CSF [mmol.L <sup>-1</sup> ]	3.54 (0.62)	3.43 a (2.78-7.07) S, P	3.51 (0.76)	3.34 a (2.30-7.51) S, P	3.23 (0.75)	3.10 b (2.00-7.71) K, MZ, P	1.07 (1.10)	0.69 c (0.01-5.30) K, MZ, S
Q <sub>glu.</sub>	0.75 (0.19)	0.73 a (0.36-1.74) MZ, S, P	0.67 (0.17)	0.66 b (0.25-1.59) K, S, P	0.57 (0.13)	0.55 c (0.16-1.16) K, MZ, P	0.15 (0.13)	0.13 d (0.00-0.46) K, MZ, S
Lactate in CSF [mmol.L <sup>-1</sup> ]	1.41 (0.21)	1.42 a (0.93-2.02) S, P	1.52 (0.43)	1.41 a (0.88-4.59) S, P	2.19 (0.69)	2.09 b (0.93-5.12) K, MZ, P	10.15 (5.18)	9.27 c (2.25-36.75) K, MZ, S
KEB	30.70 (1.13)	30.58 a (28.52-34.92) S, P	30.13 (1.75)	30.30 a (19.35-33.55) S, P	25.42 (4.24)	26.05 b (11.45-33.22) K, MZ, P	-3 708.04 (9 435.44)	-219.19c (-66112-5.2) K, MZ, S

Legend: K = control group of patients without CNS impairment; MZ = patients with slight serous inflammation of noninfectious etiology in the CNS; S = the patients with serous inflammation of infectious etiology in the CNS; P = patients with purulent inflammation of bacterial etiology in the CNS; SD = standard deviation; medians sharing a common superscript are not significantly different by Dunn's test ( $p > 0.05$ )

**Table 2:** Summary of normal and altered values of numbers of leukocytes and energetic parameters in the CSF in the 4 groups of examined patients

Number of specimens (frequency)	K		MZ		S		P	
	normal values	outside the normal values	normal values	outside the normal values	normal values	outside the normal values	normal values	outside the normal values
Leukocytes in CSF [elements/3] (n.v. < 10)	133 (100.0%)	0 (0.0%)	121 (53.3%)	106 (46.7%)	5 (2.4%)	203 (97.6%)	0 (0.0%)	140 (100.0%)
Glucose in CSF [mmol.L <sup>-1</sup> ] (n. v. > 2.20)	133 (100.0%)	0 (0.0%)	227 (100.0%)	0 (0.0%)	205 (98.6%)	3 (1.4%)	22 (15.7%)	118 (84.3%)
Q <sub>glu.</sub> (n. v. > 0.55)	119 (90.8%)	12 (9.2%)	188 (84.3%)	35 (15.7%)	92 (50.8%)	89 (49.2%)	0 (0.0%)	118 (100.0%)
Lactate in CSF [mmol.L <sup>-1</sup> ] (n. v. < 2.10)	133 (100.0%)	0 (0.0%)	205 (90.3%)	22 (9.7%)	108 (51.9%)	100 (48.1%)	0 (0.0%)	140 (100.0%)
KEB (n. v. > 28.00)	133 (100.0%)	0 (0.0%)	210 (92.5%)	17 (7.5%)	58 (27.9%)	150 (72.1%)	0 (0.0%)	140 (100.0%)

Legend: K = control group of patients without CNS impairment; MZ = patients with slight serous inflammation of noninfectious etiology in the CNS; S = the patients with serous inflammation of infectious etiology in the CNS; P = patients with purulent inflammation of bacterial etiology in the CNS; n. v. = normal values

Vysoké zánětlivé aktivitě v likvorovém kompartmentu pacientů se serózním zánětlivým postižením CNS infekční etiologie (S) odpovídá nápadně zvýšená buněčnost CSF, v porovnání s předchozími skupinami pacientů (K a MZ), na úrovni statisticky významné (Tabulka 1). Ale i v této skupině pacientů jsme našli několik případů (2,4 %) s normálním počtem leukocytů v CSF (Tabulka 2).

Purulentní zánětlivý proces v CNS se vyznačuje velmi vysokou intenzitou. Tomu odpovídá též vysoká účast imunokompetentních buněk. V porovnání se skupinami pacientů bez postižení CNS (K), s mírnými serózními záněty CNS (MZ) a se serózními záněty CNS

(S) je tedy dle očekávání rozdíl buněčností CSF statisticky významný (Tabulka 1).

### Koncentrace glukózy v CSF

Ve skupinách pacientů bez postižení CNS (K) a s mírnými serózními záněty neinfekční etiologie v CNS (MZ) jsme v žádném případě nezjistili sníženou koncentraci glukózy v CSF (Tabulka 1 a 2).

Mírně zvýšený úbytek glukózy v CSF jsme zaznamenali až u některých pacientů se serózním zánětem CNS infekční etiologie (S) (Tabulka 1 a 2).

Nápadným úbytkem glukózy v CSF se pak projevuje zejména vysoká intenzita purulentního zánětlivého

procesu v CNS, což je patrné ze statisticky významných rozdílů koncentrací glukózy mezi skupinou pacientů s purulentními záněty CNS (P) a ostatními skupinami pacientů (K, MZ a S) (Tabulka 1). Přesto jsme ale v 15,7 % případů pacientů s purulentními záněty CNS (P) zjistili normální nebo dokonce zvýšené koncentrace glukózy v CSF (Tabulka 2). Hlavní příčinou tohoto jevu byla zvýšená nabídka glukózy z krve.

### Glukózový kvocient ( $Q_{glu}$ )

Mezi úrovněmi hodnot  $Q_{glu}$  ve všech sledovaných skupinách pacientů jsme našli statisticky významné rozdíly. Nejvyšší hodnoty  $Q_{glu}$  jsou patrné ve skupině pacientů bez postižení CNS (K), dále se mírně snižují ve skupině pacientů s mírnými neinfekčními serózními záněty CNS (MZ), ve skupině pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie (S) a výrazně ve skupině pacientů s purulentními záněty CNS bakteriální příčiny (P) (Tabulka 1).

V porovnání s normálními hodnotami  $Q_{glu}$  jsme ve skupině pacientů bez postižení CNS (K) našli 9,2 % případů se sníženými hodnotami tohoto parametru, ve skupině pacientů s mírnými serózními záněty neinfekční etiologie v CNS (MZ) jsme našli 15,7 % případů se sníženými hodnotami tohoto parametru a ve skupině pacientů se serózními záněty infekční etiologie v CNS (S) jsme našli 49,2 % případů se sníženými hodnotami tohoto parametru (Tabulka 2).

Především přítomnost snížených hodnot  $Q_{glu}$  u 9,2 % pacientů bez postižení CNS (K) poukazuje na možná úskalí praktického používání tohoto parametru. Klíčovým problémem je preanalytická fáze začínající odběrem CSF a krve pacienta. Správný postup, kdy je nejdříve odebrána krev a následně CSF až po dorovnání hladin glukózy (cca po 20 minutách), nebývá často dodržován. To pak vede k falešným odchylkám úrovní tohoto parametru od hodnot normálních, jak je patrné u celé řady pacientů našeho souboru.

Dalším problémem bývá správný odběr krve pro následné vyšetření koncentrací glukózy a rychlá doprava vzorku k laboratornímu zpracování. Chybný postup v této fázi má většinou za následek falešně snížené koncentrace glukózy v krvi *in vitro*, a tím pádem falešný nárůst hodnot  $Q_{glu}$ . O tom, že vyšetření koncentrací glukózy v krvi v rámci prováděných vyšetření CSF leží na pokraji zájmu, svědčí 65,6 % hodnot  $Q_{glu}$  ve skupině pacientů bez postižení CNS (K) zvýšených nad rozsah hodnot normálních (0,55 až 0,65), 50,2 % případů zvýšených hodnot  $Q_{glu}$  ve skupině pacientů s mírnými serózními záněty neinfekční etiologie v CNS (MZ) a 19,3 % případů zvýšených hodnot  $Q_{glu}$  ve skupině pacientů se serózními záněty infekční etiologie v CNS (S).

Naproti tomu tento parametr eliminoval nedostatky samotného vyšetření koncentrací glukózy v CSF a ve skupině pacientů s purulentními záněty bakteriální příčiny (P) odhalil se 100,0 % účinností její úbytek (Tabulka 1 a 2).

### Koncentrace laktátu v CSF

Mezi koncentracemi laktátu v CSF ve skupinách pacientů bez postižení CNS (K) a pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie (MZ) jsme

nezjistili statisticky významný rozdíl. Významné rozdíly v hodnotách tohoto parametru ale byly nalezeny ve všech ostatních případech (Tabulka 1).

Ve skupině pacientů bez postižení CNS (K) jsme našli žádný případ překročení normálních koncentrací laktátu v CSF, ve skupině pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie (MZ) jsme zjistili překročení koncentrací laktátu v 9,7 % případů a ve skupině pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie (S) ve 48,1 % případů. Zvýšené koncentrace laktátu v CSF pak byly zjištěny u všech pacientů s purulentními záněty bakteriální etiologie v CNS (P) (Tabulka 2). Tyto nálezy opět podporují úvahu o bezvýhradně velmi vysoké intenzitě zánětlivého procesu purulentního charakteru.

### Koeficient energetické bilance (KEB)

Rovněž mezi hodnotami KEB ve skupinách pacientů bez postižení CNS (K) a pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie (MZ) není patrný statisticky významný rozdíl. Statisticky významné rozdíly v úrovních tohoto parametru byly opět nalezeny ve všech ostatních případech (Tabulka 1).

U pacientů bez postižení CNS (K) jsme v žádném případě nezjistili sníženou hodnotu KEB, ve skupině pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční příčiny (MZ) jsme zjistili 7,5 % případů snížených hodnot KEB, ve skupině pacientů se serózními záněty infekční etiologie (S) 72,1 % případů snížených hodnot KEB a ve skupině pacientů s purulentními záněty CNS bakteriální příčiny (P) 100,0 % případů výrazně snížených hodnot KEB (Tabulka 2).

Uvedené výsledky dovolují diferencovat mezi úrovněmi intenzit zánětlivé odpovědi v CNS s jejich vzestupnou tendencí počínaje pacienty bez postižení CNS (K), přes pacienty se serózními záněty CNS infekční etiologie (S) až po extrémní stavy u pacientů s purulentními záněty CNS bakteriální příčiny (P). Naproti tomu se ale malá intenzita zánětlivé odpovědi v CNS pacientů s mírnými serózními záněty CNS (MZ) výrazněji neliší od normálních energetických poměrů v CNS pacientů bez postižení CNS (K).

### Vztahy mezi koncentracemi glukózy v CSF, hodnotami $Q_{glu}$ , koncentracemi laktátu v CSF, hodnotami KEB a buněčností CSF

O tom, že mezi biochemickými parametry energetického metabolismu glukózy a buněčností CSF existuje vztah, svědčí středně silné až silné korelace zjištěné na úrovni celého souboru vyšetřených pacientů. Nejtěsnější vztah jsme v našem souboru pacientů zjistili mezi buněčností CSF a hodnotami KEB ( $\rho = -0,770$ ), následoval vztah mezi buněčností CSF a koncentracemi laktátu v CSF ( $\rho = 0,734$ ), hodnotami  $Q_{glu}$  ( $\rho = -0,676$ ) a koncentracemi glukózy v CSF ( $\rho = -0,544$ ).

Využitelnost uvedených parametrů k predikci intenzity zánětlivého procesu v CNS jsme ověřili pomocí multinomiální logistické regresní analýzy, kde nezávislou proměnnou byl příslušný parametr a závislou proměnnou skupina, k níž pacient náleží (tj. K, MZ, S a P). Nejvyšší predikční potenciál mají buněčnost CSF se 71,9 % a KEB se 71,6 % správně zařazených pacientů.

Následuje koncentrace laktátu v CSF s 64,7 %, hodnota  $Q_{glu.}$  s 58,8 % a koncentrace glukózy v CSF s 54,7 % správně klasifikovaných pacientů.

## Závěr

Provedli jsme hodnocení příslušných likvorových parametrů, u kterých jsme předpokládali přímý vztah k intenzitě zánětlivého procesu v CNS. Těmito parametry byly buněčnost CSF, koncentrace glukózy v CSF, hodnoty  $Q_{glu.}$ , koncentrace laktátu v CSF a hodnoty KEB.

V likvorovém kompartmentu pacientů bez postižení CNS (K) nebyly zjištěny žádné změny na úrovni buněčnosti CSF ani změny energetické. V likvorovém kompartmentu pacientů s mírnými serózními záněty CNS neinfekční etiologie (MZ) byly pouze v některých případech patrné zvýšené buněčnosti CSF a změny hodnot  $Q_{glu.}$ , koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB. V likvorovém kompartmentu pacientů se serózními záněty CNS infekční etiologie (S) se změny na úrovni buněčnosti CSF a energetických poměrů v likvorovém kompartmentu projevují výrazněji. Velmi vysoká intenzita purulentního zánětlivého procesu bakteriální etiologie v CNS (P), jehož podstatou je oxidační vzplanutí neutrofilních granulocytů, se v naprosté většině případů projevila extrémními alteracemi všech sledovaných parametrů.

Získané výsledky podporují vhodnost využití úrovní buněčnosti CSF, koncentrací glukózy v CSF, hodnot  $Q_{glu.}$ , koncentrací laktátu v CSF a hodnot KEB v diagnostice postižení a monitorování intenzity zánětlivých změn v CNS. Navíc umožnily seřadit energetické parametry v likvorovém kompartmentu pacientů podle úrovně informačního potenciálu. Nejpriznivější výsledky konstatujeme v případě úrovně buněčnosti CSF a hodnot KEB, následují je koncentrace laktátu v CSF a hodnoty  $Q_{glu.}$  a nejméně příznivých výsledků bylo dosaženo v případě koncentrací glukózy v CSF.

## Literatura

1. **Adam, P.** *Cytologie likvoru*, 1<sup>st</sup> ed. Pardubice, Stapro, 1995.
2. **Adam, P., Táborský, L., Sobek, O. et al.** *Cerebrospinal Fluid*. In: Spiegel, H. E., Nowacki, G., Hsiao, K. J. (eds). *Advances in Clinical Chemistry*, Vol. 36. San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo: Academic Press, 2001, s. 1-62.
3. **Adam, P., Táborský, L., Sobek, O., Kelbich, P.** *Cytology of Cerebrospinal Fluid*. 1<sup>st</sup> ed. Praha: Medica News Publishers, 2003, s. 3-80, ISBN 80-86284-35-2.
4. **Bartz, R. R., Piantadosi, C. A.** Clinical review: Oxygen as a signaling molekule. *Crit. Care*, 2010, 14(5), s. 234-242.
5. **Brett, M. M.** Approach to the Patient with Abnormal Cerebrospinal Fluid Glucose Content. In: Irani, D. N. *Cerebrospinal fluid in clinical practice*. Philadelphia (PA): Saunders Elsevier, 2009, s. 282-284.
6. **Hejčl, A., Bolcha, M., Procházka, J., Sameš, M.** Multimodální monitorování mozku u pacientů s těžkým kraniocerebrálním traumatem a subarachnoidálním krvácením v neurointenzivní péči. *Cesk. Slov. Neurol. N.*, 2009, 72/105(4), s. 383-387.
7. **Hejčl, A., Bolcha, M., Procházka, J., Hušková, E., Sameš, M.** Elevated Intracranial Pressure, and Impaired Brain Metabolism Correlate with Fatal Outcome After Severe Brain Injury. *Cen. Eur. Neurosurg.*, 2011, 72, s. 1-6.
8. **Hoffman, O., Weber, R. J.** Pathophysiology and Treatment of Bacterial Meningitis. *Ther Adv Neurol Disord.*, 2009, 2(6), s. 1-7.
9. **Hořejší, V., Bartůňková, J.** *Základy imunologie*. 4<sup>th</sup> ed. Praha: Triton, 2009. ISBN 978-80-7387-280-9.
10. **Huy, N. T., Thao, N. T. H., Diep, D. T. N., Kikuchi, M., Zamora, J., Hirayama, K.** Cerebrospinal fluid lactate concentration to distinguish bacterial from aseptic meningitis: a systemic review and meta-analysis. *Crit. Care*, 2010, 14(6), R240.
11. **Chehtane, M., Khaled, A. R.** Interleukin-7 mediates glucose utilization in lymphocytes through transcriptional regulation of the hexokinase II gene. *Am. J Physiol. Cell. Physiol.*, 2010, 298(6), C1560-C1571.
12. **Chodobski, A., Zink, B. J., Szmydynger-Chodobska, J.** Blood-brain barrier pathophysiology in traumatic brain injury. *Transl. Stroke Res.*, 2011, 2(4), s. 492-516.
13. **Johanson, C. E., Duncan III, J. A., Klinge, P. M., Brinker, T., Stopa, E. G., Silverberg, G. D.** Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease. *Cerebrospinal Fluid Res.*, 2008, 5, s. 10.
14. **Kamen, L. A., Schlessinger, J., Lowell, C. A.** Pyk2 is required for neutrophil degranulation and host defense responses to bacterial infection. *J Immunol.*, 2011, 186(3), s. 1656-1665.
15. **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), s. 213-225.
16. **Kelbich, P., Koudelková, M., Machová, H. et al.** Význam urgentního vyšetření mozkomíšního moku pro včasnou diagnostiku neuroinfekcí. *Klin. Mikrobiol. Inf. Lék.*, 2007, 13(1), s. 9-20.
17. **Kelbich, P., Adam, P., Sobek, O. et al.** Základní vyšetření likvoru v diagnostice postižení centrálního nervového systému. *Neurol. pro praxi*, 2009, 10(5), s. 285-289.
18. **Kelbich, P., Hejčl, A., Procházka, J., Hanuljaková, E., Peruthová, J., Špička, J.** Cytologie a energetika jako důležité atributy vyšetření likvoru. *Klin. Biochem. Metab.*, 2012, 20(41), s. 17-24.
19. **Krejsek, J., Kopecký, O.** *Klinická imunologie*. 1<sup>st</sup> ed. NUCLEUS HK, 2004, ISBN 80-86225-50-X.
20. **Marko, A. J., Miller, R. A., Kelman, A., Frauwirth, K. A.** Induction of Glucose Metabolism in Stimulated T Lymphocytes Is Regulated by Mitogen-Activated Protein Kinase Signaling. *PLoS ONE*, 2010, 5(11), e15425.
21. **Michalek, R. D., Rathmell, J. C.** The metabolic life and times of a T-cell. *Immunol. Rev.*, 2010, 236, s. 190-202.
22. **Prasad, K., Sahu, J. K.** Cerebrospinal fluid lactate: Is it a reliable and valid marker to distinguish between acute bacterial meningitis and aseptic meningitis? *Crit. Care.*, 2011, 15(1), s. 104.
23. **Redzic, Z.** Molecular biology of the blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: similarities and differences. *Fluids Barriers CNS*, 2011, 8, s. 3.
24. **Reinstrup, P., Stáhl, N., Møllergård, P., Uski, T., Ungerstedt, U., Nordstöm, C.-H.** Intracerebral Microdialysis in Clinical Practice: Baseline Values for Chemical Markers during Wakefulness, Anesthesia, and Neurosurgery. *Neurosurgery*, 2000, 47(3), s. 701-709.

25. **Simpson, I. A., Carruthers, A., Vannucci, S. J.** Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. *J Cereb. Blood Flow Metab.*, 2007, 27(11), s. 1766-1791.
26. **Šterzl, J.** *Imunitní systém a jeho fyziologické funkce.* 1<sup>st</sup> ed. Praha, ČIS, 1993.
27. **Tisdall, M. M., Smith, M.** Cerebral microdialysis: research technique or clinical tool. *Br. J Anaesth.*, 2006, 97, s. 18-25.
28. **Veening, J. G., Barendregd, H. P.** The regulation of brain states by neuroactive substances distributed via the cerebrospinal fluid; a review. *Cerebrospinal Fluid Res.*, 2010, 7, s. 1.

*Práce byla podpořena programem „PRVOUK“ P37/09 a programem „PRVOUK“ P37/10 Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty v Hradci Králové.*

Do redakce došlo 17. 8. 2012

*Adresa pro korespondenci:*

*RNDr. Ing. Petr Kelbich  
oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie  
Nemocnice Kadaň s.r.o.  
Golovinova 1559  
432 01 Kadaň  
e-mail: kelbich@nemkadan.cz*