

## BIELKOVINY LIKVORU V DIAGNOSTIKE PORÚCH HEMATOLIKVOROVEJ BARIÉRY PRI NIEKTORÝCH OCHORENIACH CNS

TURECKÝ L., KALINA P., UHLÍKOVÁ E., PROCHÁZKOVÁ L.

### THE USEFULNESS OF CEREBROSPINAL FLUID PROTEINS IN THE DIAGNOSIS OF BLOOD-CEREBROSPINAL FLUID BARRIER DISTURBANCES IN VARIOUS CENTRAL NERVOUS SYSTEM DISORDERS

**Background:** Many neurological diseases are connected with the dysfunction of blood-CSF barrier. The quantitative determination of CSF proteins has already been used in the diagnosis of barrier impairments and inflammatory diseases of the central nervous system.

**Patients:** Serum and CSF, totaling 264 samples, were obtained from 15 controls and 117 patients with various diseases of the nervous system. Laurell's electroimmunoassay was used for estimation of albumin and IgG levels in serum and CSF. CSF-protein profile was evaluated according to Reiber's graph for the evaluation of the CSF-protein profile.

**Results:** The graph for the protein profile can be divided into 5 functionally different parts (1 — normal range, 2, 3, 4 — different types of barrier dysfunction and 5 — local humoral response in CNS without any barrier impairment). There was a good correlation of CSF-protein profiles and neurological diseases in our group of patients.

**Conclusions:** According to our results, Reiber's graph was helpful for the diagnosis of blood-CSF-barrier dysfunctions. The graph has the following advantages: a) possibility of simultaneous assessment of the functional state of blood-CSF-barrier and the inflammatory response of the CNS, b) sensitivity for the determination of pathological local IgG-production in CNS and c) minimal number of protein assays necessary. (Fig. 2, Ref. 8.)

**Key words:** blood-CSF barrier dysfunctions, CSF-protein profile, neurochemical diagnosis.

Bratisl Lek Listy 1998; 99: 347–350

**Pozadie problému:** Pri mnohých neurologických ochoreniach dochádza ku poruchám hematoklikvorovej bariéry. Jednou z možností diagnostiky týchto porúch je vyšetrenie profilu bielkovín cerebrospinálneho likvoru.

**Pacienti a metódy:** Vyšetrovaný súbor tvorilo 117 pacientov s rôznymi neurologickými ochoreniami a 15 kontrol. Hladiny albumínu a imunoglobulínu G v sére a v likvore sme vyšetrovali pomocou Laurellovej elektroimunodifúzie. Získané výsledky sme vyhodnocovali podľa Reiberovho grafu pre vyšetrovanie porúch hematoklikvorovej bariéry.

**Výsledky:** Reiberov grafický model vyhodnotenia likvorového bielkovinového profilu rozdeľuje pacientov do piatich zón (1 — norma, 2, 3, 4 — rôzne poruchy permeability hematoklikvorovej bariéry, 5 — intratekálna syntéza IgG bez poruchy permeability bariéry). Výsledky získané v našom súbore a vyhodnotené metódou podľa Reibera dobre korelovali s neurologickou diagnózou.

**Záver:** Na základe našich výsledkov sa ukazuje, že metóda vyhodnotenia porúch hematoklikvorovej bariéry podľa Reibera by sa mohla dobre uplatniť v klinickej praxi. Výhodou vyhodnocovania bielkovinového profilu likvoru podľa tejto schémy je: a) možnosť simultánneho sledovania funkčného stavu hematoklikvorovej bariéry a zápalovej odpovede CNS, b) zistenie patologickej lokálnej tvorby IgG v CNS, c) relatívne malá technická náročnosť (vyšetrenie albumínu a IgG v sére a v likvore). (Fig. 2, lit. 8.)

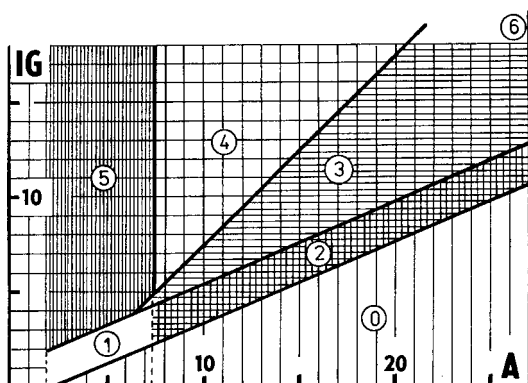
**Kľúčové slová:** dysfunkcie hematoklikvorovej bariéry, bielkoviny cerebrospinálneho likvoru, neurochemická diagnostika.

Bratisl. lek. Listy, 99, 1998, č. 7, s. 347–350

Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave a II. neurologická klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave  
The Institute of Medical Chemistry, Biochemistry and Clinical Biochemistry, Medical Faculty, Comenius University, Bratislava, and The II<sup>nd</sup> Neurological Clinic, Medical Faculty, Comenius University, Bratislava  
**Address for correspondence:** L. Turecký, MD, PhD, Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie LFUK, Sasinkova 4, 811 08 Bratislava, Slovakia.

Phone: +421.7.5357295 Fax: +421.7.5357557

Cerebrospinálny likvor je tekutina obklopujúca mozog a miechu, nachádzajúca sa v intracerebrálnom i extracerebrálnom priestore. Na rozdiel od ostatných biologických tekutín sa likvor vyznačuje relatívne vysokou stálosťou zloženia, ktorá je zabezpečená existenciou hematoencefalickej a hematoklikvorovej bariéry. Jednou z fyziologických súčastí mozgovomiechového likvoru sú aj bielkoviny. Koncentrácia bielkovín v likvore je v porovnaní so sérom omnoho nižšia — asi 0,5 % koncentrácie sérových bielko-



Obr. 1. Vyhodnocovací graf pre jednotlivé poruchy hematollikvorovej bariéry (podľa Reibera, 1980). Bližší opis jednotlivých zón v texte.  
Fig. 1. Evaluation graph for different blood-CSF barrier dysfunctions (Reiber, 1980) Description of different zones in the text.

vín. Hematoencefalická bariéra vytvorená cerebrovaskulárnym endotelom, epitelom chorioideálneho plexu, ependýmom a menzochymovým epitelom piaie matris, obmedzuje voľný vstup bielkovín do likvoru. Väčšina bielkovín likvoru u zdravého i chorého človeka pochádza z krvného séra. Pri ochoreniach CNS sa môže hladina likvorových bielkovín zvyšovať, pričom zvýšenie môže byť podmienené: a) transsudáciou, b) lokálnou syntézou v CNS (Schuller a Sagar, 1981). Pri náleze zvýšenej koncentrácie likvorových bielkovín sa vynára otázka, nakoľko sa zúčastňujú jednotlivé patomechanizmy na tomto zvýšení. Na posúdenie charakteru dysfunkcie hematoencefalickej bariéry a možnosti intratekálnej syntézy imunoglobulínov bolo vypracovaných viacero postupov (Wick a Fateh-Moghadem, 1989). V našej práci sme vyskúšali grafický model vyhodnotenia likvorového bielkovinového profilu podľa Reibera (1980 a, b).

#### Pacienti a metódy

Vyšetrovaný súbor tvorilo 15 kontrol (neurastenický syndróm s biochemickými i cytologickými parametrami v norme), 25 pacientov s nádorovým postihnutím CNS, 17 pacientov s epilepsiou (bez jednoznačnej organickej príčiny), 32 pacientov s encefalomaláciou, 18 pacientov s meningitídou a 25 pacientov so sclerosis multiplex. V prípade všetkých použitých vzoriek likvorov šlo o likvor získaný lumbálnou punkciou.

Hladiny albumínu a imunoglobulínu G v sére a v likvore sme stanovovali elektroimunodifúziou podľa Laurella (1972) s použitím monošpecifických antisér (RAHu-Alb, ÚSOL Praha a SwA-Hu-IgG, ÚSOL Praha) a agarózy firmy Koch-Light, Ltd. Grafické vyhodnotenie profilu bielkovín z hľadiska dysfunkcie hematoencefalickej a hematollikvorovej bariéry sme robili podľa Reibera (1980 a, b), pričom index A je pomer  $\text{albumín}_{\text{csf}}/\text{albumín}_{\text{serum}} \times 10^3$  a index IG je pomer  $\text{IgG}_{\text{csf}}/\text{IgG}_{\text{serum}} \times 10^3$ .

#### Výsledky

V našej práci sme využili vyhodnotenie likvorového profilu proteínov pomocou Reinerovej schémy, ktorá hodnotí individuál-

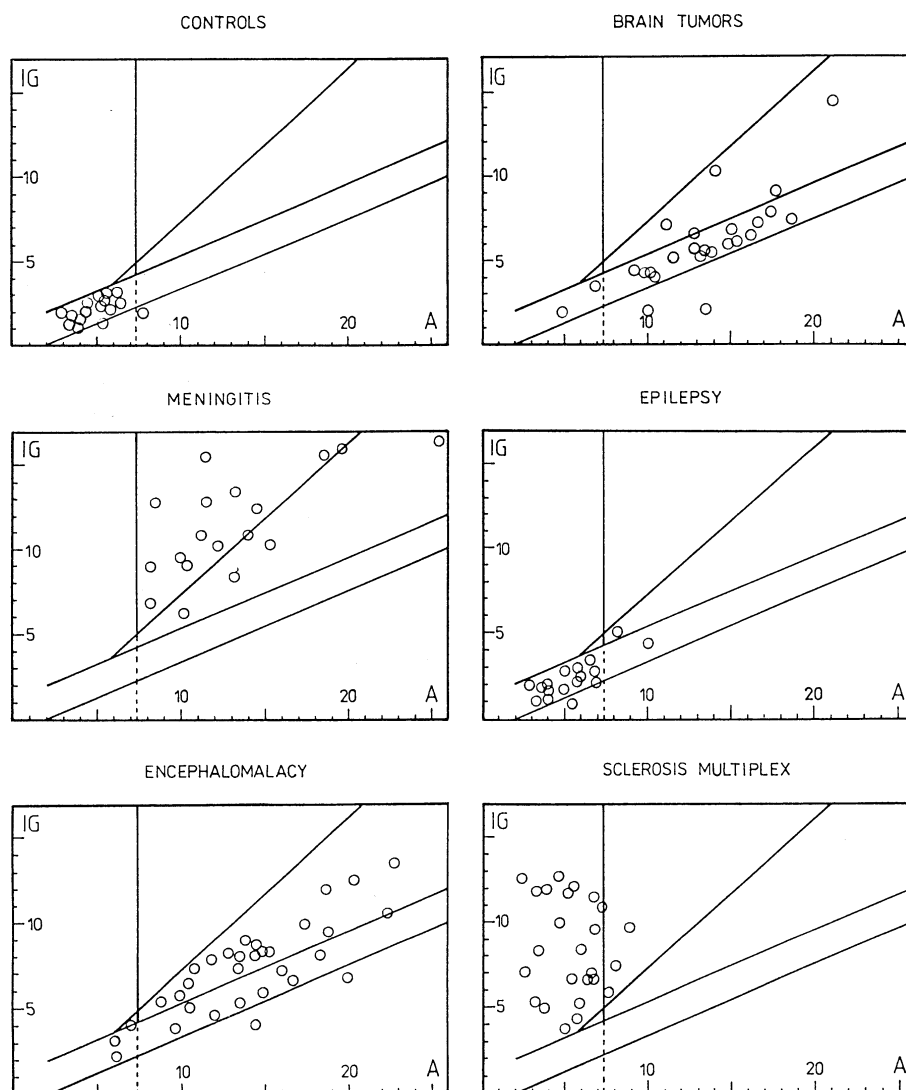
ne bariérové funkcie na základe hodnotenia indexov likvor/sérum pre albumín a imunoglobulín G. Pri konštrukcii jednotlivých zón v tejto schéme sa vychádza z empiricky zistených hodnôt, podľa ktorých kvocient A ( $\text{albumín}_{\text{csf}}/\text{albumín}_{\text{s}}$ ) je v norme v rozsahu 1,8–7,4. Týmto hodnotám zodpovedá kvocient  $\text{IG}=0,43\text{A}\pm 1,0$ . Hodnoty A väčšie ako 7,4 sa hodnotia ako porucha hematollikvorovej bariéry a hodnoty IG väčšie ako  $0,43\text{A}\pm 1,0$  ako stavy s intratekálnou syntézou IgG. Na základe týchto hraníc možno diferencovať pacientov do nasledovných skupín: prípady spadajúce do zóny 1 sa hodnotia ako normálny nález; prípady v zóne 2 sa hodnotia ako transsudatívna dysproteinoza — stav zvýšenej permeability hematollikvorovej bariéry so zachovanou filtračnou funkciou bariéry (zachováva sa proporionalita nízkomolekulových a vysokomolekulových bielkovín); prípady v zóne 3 sa hodnotia ako porucha hematollikvorovej bariéry so stratou funkcie ako molekulo-filtra (neproporcionálny nárast vysokomolekulových bielkovín v porovnaní s nízkomolekulovými); prípady v zóne 4 sa hodnotia ako porucha hematollikvorovej bariéry spojená so zápalovým procesom v CNS (prítomná je aj intratekálna syntéza IgG); prípady v zóne 5 sa hodnotia ako intratekálna syntéza IgG bez defektu hematollikvorovej bariéry (hodnota  $\text{A}\leq 7,4$ ); extrémne hodnoty zóna 6 mimo rozsahu diagramu bývajú u pacientov s masívnym krvácaním do likvorových priestorov a výsledky v zóne 0 sa hodnotia ako biologicky irelevantné.

Vyhodnotenie výsledkov získaných od našich pacientov s ochoreniami CNS s použitím tejto schémy je na obrázku 2. Kontrolná skupina pacientov zapadla prakticky celá do oblasti normálnych nálezov. Výsledky v skupine pacientov s meningitídami sa nachádzali zväčša v zóne 4 — 75 %, zvyšok v zóne 3 a jeden pacient mal nehodnotiteľný nález (zóna 6). Pomerne veľký rozptyl bol v skupine pacientov s encefalomaláciami. Väčšina výsledkov pacientov tejto skupiny bolo v zóne 3 — 59 %; 25 % výsledkov bolo v zóne 2, 10 % v oblasti normálnych hodnôt a 2 pacienti sa nachádzali v nehodnotiteľnej zóne 0. V skupine pacientov s epilepsiou bola väčšina výsledkov (82 %) v oblasti referenčných hodnôt, len v prípade troch pacientov boli výsledky v iných zónach. Likvorové nálezy pacientov s nádorovým postihnutím CNS boli v zóne 2 — 68 % a zóne 3 — 16 %. Dva výsledky boli v zóne normálnych hodnôt a dva v nehodnotiteľnej zóne 0. Najhomogénnejšou sa ukázala skupina pacientov so sclerosis multiplex, kde 88 % všetkých výsledkov bolo v zóne 5 a zvyšok v zóne 4.

#### Diskusia

Biochemické (event. cytologické) vyšetrenie cerebrospinálneho likvoru patrí medzi dôležité laboratorné vyšetrenia, aj keď sa počet odberov likvoru zavedením nových zobrazovacích techník podstatne znížil. Každý odber likvoru je potrebné starostlivo zvážiť (z etických dôvodov), či výsledok vyšetrenia bude naozaj pre pacienta užitočný. Vyšetrenie likvoru sa indikuje hlavne pri diferenciálnej diagnostike medzi zápalovými a nezápalovými ochoreniami CNS, pri testovaní porušenia hematoencefalickej bariéry a pri sledovaní priebehu ochorenia CNS (Masopust, 1990).

Hematollikvorová bariéra predstavuje u zdravého človeka spolu s hematoencefalickou bariérou a bazálnou membránou glomerulov obličiek jednu z najpevnejších a najselektívnejších bariér pre bielkoviny. Priestupnosť látok hematoencefalickou a hematollikvorovou bariérou je selektívny proces (permselektivita). Prestup



Obr. 2. Bielkovinové profily likvoru u pacientov s rôznymi ochoreniami CNS.  
Fig. 2. CSF protein profiles in different neurological diseases.

plazmatických bielkovín do likvoru závisí od ich sférických, elektrostatických a pravdepodobne aj elektrochemických charakterstík. Veľkosť pórov v stene cievnych kapilár CNS a chóriového plexu zodpovedá za účinok molekulového sita, ktorý udržiava proteínový profil v likvore. Zmeny v koncentračnom gradiente jednotlivých bielkovín medzi krvnou plazmou a likvorom, ako aj zmeny pomerného zastúpenia bielkovín s rôznym hemodynamickým pomerom v likvore, odrážajú stupeň narušenia permselectivity hematoencefalickej bariéry. Pri rôznych chorobných procesoch prebiehajúcich v CNS môže dôjsť k narušeniu bariérovej funkcie. V zásade sa môžu pri funkčnom narušení hematollikvorovej bariéry uplatniť dva patomechanizmy: a) zvýšená permeabilita ciev, či už funkčného charakteru alebo organicky podmienená (akútne zápaly CNS, krvácanie, vaskulitída, cerebrálna skleróza), podmienajúca skôr neselektívne zvýšenie permeability, b) zníženie likvo-

rového obratu, spôsobené či už poruchami jeho cirkulácie alebo zväčšením likvorového priestoru (tumory, hydrocefalus, degeneratívne ochorenia CNS), podmienajúce skôr selektívne narušenie permeability (Felgenhauer a spol., 1976; Schliep a Felgenhauer, 1978).

Existuje viacero postupov na vyšetrenie permeability hematollikvorovej bariéry. V našej práci sme využili metódu podľa Reibera (1980 a, b) založenú na vyšetrení hladín albumínu a IgG v likvore a v sére. Z technického hľadiska ide o pomerne jednoduché vyšetrenie. Podľa výsledkov, ktoré sme získali v našej štúdií, sa ukazuje tento typ vyšetrenia ako celkovo použiteľný. Kontrolná skupina bez problémov zapadla do referenčného rozmedzia. Pacienti so sclerosis multiplex sa zaradili zväčša do zóny 5 predstavujúcej intracerebrálnu syntézu imunoglobulínov, čo je nález charakteristický pre túto diagnózu. V súbore Schliepa a Felgen-

hauera (1978) bola lokálna produkcia imunoglobulínov pozitívna u 85 % pacientov a Reiber (1980) a Wick a Fateh-Moghadam (1989) opisujú u pacientov so sclerosis multiplex nález intratekálnej syntézy imunoglobulínov bez poruchy bariérovej funkcie pri použití rôznych metód v rozmedzí 60–90 % vyšetrených pacientov. Nález normálneho IgG kvocientu spolu s neprítomnosťou oligoklonálnych subfrakcií vylučuje s vysokou pravdepodobnosťou diagnózu sclerosis multiplex (Reiber, 1980 a). Pomerne široký rozptyl hodnôt u pacientov s meningitídou je pravdepodobne podmienený aj tým, že sme túto skupinu pacientov ďalej nečlenili. U pacientov s bakteriálnou meningitídou dochádza ku výraznejším poruchám bariérovej funkcie ako pri vírusových meningitídach (Schliep a Felgenhauer, 1978).

Pacienti s epilepsiou mali väčšinou hodnoty zodpovedajúce norme. V skupine pacientov s nádorovým postihnutím CNS bola väčšina výsledkov v oblasti zvýšenej permeability hematollikvornej bariéry so zachovanou filtračnou selektivitou (proporcionálny nárast koncentrácie nízkomolekulových i vysokomolekulových bielkovín). Podobnú distribúciu opisuje vo svojom súbore aj Reiber (1980 b).

Je zrejme, že uvedený model má vzhľadom na zjednodušenia urobené pre potreby klinickej praxe aj určité nedostatky, hlavne v hraničných oblastiach. Preto je potrebné, napr. v hraničných prípadoch intratekálnej syntézy IgG, potvrdiť alebo zamietnuť výsledok vyšetrením oligoklonálnych subfrakcií.

#### Záver

Bielkovinové profily cerebrospinálneho likvoru vyšetrené u našich pacientov a vyhodnotené podľa Reiberovej schémy dobre korelovali s typom poruchy hematollikvornej bariéry pri jednotlivých ochoreniach. Výhodou vyhodnocovania bielkovinové-

ho profilu podľa tejto schémy je možnosť simultánneho sledovania funkčného stavu hematollikvornej bariéry a zápalovej odpovede CNS, zistenie patologickej lokálnej produkcie IgG v CNS, malý celkový počet analýz bielkovín (albumín a IgG v sére a v likvore). \*

#### Literatúra

**Felgenhauer K., Schliep G., Rapic N.:** Evaluation of the blood-CSF barrier by protein gradients and the humoral immune response within the central nervous system. *J. Neurol. Sci.*, 30, 1976, s. 113–128.

**Laurell C.B.:** Electroimmunoassay. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 29, 1972, Suppl. 124, s. 21–37.

**Masopust J.:** Požadování a hodnocení biochemických vyšetření. Část II. Praha, Avicenum 1990, s. 261–283.

**Reiber H.:** The discrimination between different blood — CSF barrier dysfunctions and inflammatory reactions of the CNS by a recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid. *J. Neurol.*, 224, 1980 a, s. 89–99.

**Reiber H.:** Eine aktuelle Darstellung des Liquorprotein-profilis zur Differentialdiagnose von Schranken-funktionsstörungen und entzündlichen Prozessen des Zentralnervensystems. *Akt. Neurol.*, 7, 1980 b, s. 127–134.

**Schliep G., Felgenhauer K.:** Serum-CSF protein gradients, the blood-CSF barrier and the local immune response. *J. Neurol.*, 218, 1978, s. 77–96.

**Schuller E., Sagar H.J.:** Local synthesis of CSF immunoglobulins. *J. Neurol. Sci.*, 51, 1981, s. 361–370.

**Wick W., Fateh-Moghadam A.:** Patobiochemische Grundlagen, Indikation und diagnostische Bedeutung proteinanalytischer Untersuchungen in Liquor cerebrospinalis. *Ärztl. Lab.*, 35, 1989, s. 225–238.

\* Technická spolupráca E. Hederová