

Strokovni prispevek/Professional article

ENCIMI V LIKVORJU

CEREBROSPINAL FLUID ENZYMES

*Matej Kravos¹, Gregor Kralj², Ivan Malešič³*¹ Zasebna psihiatrična ordinacija dr. Matej Kravos, Trg svobode 26, 2310 Slovenska Bistrica² Medicinska fakulteta v Mariboru, Univerza v Mariboru, Slomškov trg 15, 2000 Maribor³ Katedra za klinično biokemijo, Medicinska fakulteta v Mariboru, Univerza v Mariboru, Slomškov trg 15, 2000 Maribor**Izveček**

- Izhodišča** *V Univerzitetnem kliničnem centru (UKC) Maribor smo za leto 2006 hoteli ugotoviti število punkcij in spekter naročenih preiskav s poudarkom na encimski diagnostiki v likvorju. Možgani so zelo bogati z glutamat-dehidrogenazo (GLDH). Ker v literaturi ni podatkov o njegovi aktivnosti v likvorju, smo poskušali ugotoviti, ali obstajajo merljive aktivnosti GLDH. Poškodbe celic centralnega živčnega sistema (CŽS) povzročijo sproščanje encimov in dvig njihove aktivnosti v likvorju enako kot povzročijo poškodbe drugih tkiv sproščanje encimov v zunajcelično tekočino. Krvno-likvorska pregrada je normalno neprepustna za številne encime krvi, zato ugotovljene encimske aktivnosti v likvorju večinoma ne izvirajo iz krvi. GLDH je parenhimski encim in se nahaja v mitohondrijih vseh celic, v možganih pa v celicah nevronov in glije. Njegova znižana aktivnost v možganih lahko privede do degenerativnih okvar oziroma bolezni.*
- Bolniki in metode** *V UKC Maribor je bilo opravljenih 1241 lumbalnih punkcij. Določanje beljakovin in glukoze je bilo opravljeno v vseh vzorcih. Izvršene ni bilo nobene encimske preiskave v likvorju. Do sedaj smo na aktivnost GLDH analizirali 71 likvorjev. Encimske aktivnosti so varirale od 0–340 nkat/L. Samo v petih primerih nismo ugotovili aktivnosti GLDH. Raziskava še poteka.*
- Rezultati** *V večini analiziranih likvorjev (92,96 %) smo ugotovili merljive aktivnosti GLDH. Največ (32,08 %) jih je bilo od oseb, obolelih z multiplo sklerozo in pri vseh smo ugotovili merljivo aktivnost GLDH. Podatek še ni objavljen v strokovni literaturi.*
- Zaključki** *Ugotovitev merljivih aktivnosti GLDH v likvorju je pomembna glede na njegovo specifično vlogo v možganih. Nadaljnje raziskave bodo ugotovile, ali so tudi diagnostično značilne za določene bolezni CŽS.*
- Ključne besede** *lumbalna punkcija; likvor; encimska diagnostika; glutamat-dehidrogenaza; glutamat; multipla skleroza*

Abstract

- Background** *Our goal was to determine the actual amount of lumbar punctures and spectrum of analyses, particularly on enzyme diagnostics, ordered at the University Clinical Center Maribor in year 2006. As the brain is very rich on glutamate dehydrogenase (GLDH) we also attempted to discover, if there is measurable GLDH activity in cerebrospinal fluid as there is no reliable data.*

Avtor za dopisovanje / Corresponding author:

Dr. Matej Kravos, dr. med., spec. psih., Zasebna psihiatrična ordinacija, Trg svobode 26, 2310 Slovenska Bistrica;
e-mail: mk4@siol.net

Brain cellular damage involves enzyme release and increases their activity in liquor in the same way as the damages of other tissues causes the enzyme release in extracellular fluids. As the haemathoencephalic barrier is normally nonpermeable for enzymes in blood does their activity in cerebrospinal fluid (CSF) mostly not derive from it.

- Results** *There were obtained 1241 lumbar punctures. Proteins and glucose were determined in all CSF samples. We did not determine any enzyme analyses in CSF. 71 CSF samples were analyzed for the presence of GLDH activity which varied from 0–340 nkat/L. Only in five CSF samples we did not find any GLDH activity. Research is still in progress.*
- Conclusions** *We determined the measurable GLDH activity in the majority (92.96 %) of analysed cerebrospinal fluids. This is a completely new finding. Most of analyzed CSF (32.08 %) belongs to patients with multiple sclerosis and all had measurable GLDH activity. We conclude that determining of GLDH activity in CSF is an important tool for further investigations and probably an useful diagnostic help.*
- Key words** *lumbar puncture; cerebrospinal fluid; enzyme diagnostics; glutamate dehydrogenase; glutamate; multiple sclerosis*

Uvod

Laboratorijske preiskave likvorja

Likvor je cerebrospinalna tekočina, ki se nahaja v prostoru med arahnoido in pio mater.¹ Načeloma naj bi likvor odvzeli v tri zaporedne epruvete.

Vzorec mora biti čim prej analiziran, ker celice v likvorju hitro razpadejo zaradi hipotoničnosti tekočine in nizke vsebnosti beljakovin ter lipidov. Če vzorca likvorja ni možno analizirati v eni uri, ga je potrebno primerno shraniti.

Vzorec je najprej podvržen štetju in diferenciranju celic ter pripravi citološkega razmaza, vse znotraj ene ure po odvzemu. Nato likvor centrifugiramo, preostanek pa lahko hranimo za biokemične preiskave v hladilniku največ 7 dni. Za bakteriološke preiskave moramo hraniti likvor pri 37 °C, za virološke preiskave pa pri vsaj -10 °C.¹

Kot rutinske klinično-biokemične preiskave likvorja se izvajajo: organoleptični pregled, štetje celic, diferenciranje levkocitov, določanje koncentracije glukoze, laktata, kloridov in beljakovin.

Encimi v likvorju

Poškodbe celic centralnega živčnega sistema povzročijo sproščanje encimov in dvig njihove aktivnosti v likvorju na enak način kot povzročijo poškodbe drugih tkiv sproščanje encimov v zunajcelično tekočino.

Krvno-likvorska pregrada je normalno neprepustna za številne encime krvi. Tako encimske aktivnosti, ki jih ugotavljamo v likvorju, večinoma ne izvirajo iz krvi. Toda upanje, da bi v likvorju odkrili specifične encime iz možganskega parenhima ali pa iz struktur likvorskih prostorov, ki bi dali tudi bistveno boljše diagnostične možnosti odkrivanja bolezni centralnega živčevja, se na žalost še ni izpolnilo. V likvorju je bila ugotovljena aktivnost prek 30 encimov. Navajamo podatke o nekaterih diagnostično pomembnih encimih v likvorju:

Laktat-dehidrogenaza (LDH)

Laktat-dehidrogenaza (LDH) prehaja v likvor posredno prek krvno-likvorske pregrade iz možganskih celic in neposredno iz celičnih elementov likvorja. LDH je normalno tisočkrat aktivnejša v eritrocitih kot v likvorju.¹

Zvišane vrednosti LDH so prisotne pri levkemijah, ki prizadenejo centralno živčevje, nadalje pri limfomih, metastatskih karcinomih, subarahnoidalnih krvavitvah in še posebej pri akutnem meningitisu. Tako naj bi bilo možno razlikovati bakterijski meningitis (porast do dvakrat) od virusnega (porast več kot trikrat) glede na porast LDH.¹ Prav tako lahko služi kot presejalni test za neonatalno možgansko krvavitev.¹

LDH je veliko bolj zvišana pri cerebralnem infarktu kot pri prehodnem ishemičnem napadu (TIA). Dobra zaznava ishemijskih naj bi šla na račun dolge razpolovne dobe LDH v likvorju. Aktivnost LDH korelira z mestom in obsegom cerebralnega infarkta ter jo lahko izmerimo kot napovedni označevalec med 8. uro in 4. dnevom.^{1,4}

Aspartat-aminotransferaza (AST)

Aspartat-aminotransferaza (AST) je normalno prisotna v likvorju. Njena aktivnost je nižja od serumske in s starostjo narašča. V eritrocitih je aktivnost AST deset- do petnajstkrat višja, zato moramo biti previdni s hemoliziranimi in ksantokromnimi vzorci likvorja.¹ Zvišano AST najdemo pri nekaterih bolnikih z možganskimi tumorji, cerebralnimi infarkti, udarninami, epilepsijo, po obsevanju centralnega živčnega sistema in/ali kemoterapiji.¹ Aktivnosti AST so višje pri hemoragičnih infarktih kakor pri ishemičnih.⁶

Kreatin-kinaza (CK)

Kreatin-kinaza (CK) tudi v možganih skrbi za tvorbo ATP kot energetskega vira. Zvišane vrednosti lahko najdemo pri bolnikih z akutno subarahnoidalno kr-

vavitvijo, hidrocefalusom, cerebralnim infarktom, možganskimi tumorji in stanjih z zvišanim intrakranialnim tlakom.^{1,6}

Zaradi večje specifičnosti je bolj uporabno določanje izoencimov (CK-BB, CK-MM, CK-MB, CK-mt). Možgansko tkivo vsebuje samo CK-BB ter mitohondrijsko CK (CK-mt), ki zajema 10 % CK aktivnosti možganov. CK-MM ali CK-MB sta verjetna posledica stika vzorca s krvjo. Pri poškodbah možganov bodo v likvorju prisotni CK-BB, lahko tudi CK-mt.¹ Zvišane vrednosti CK v likvorju po srčnem zastoju nakazujejo slabo nevrološko okrevanje.⁷

Lizocim

Lizocim je nizkomolekularni encim (14 300), ki katalizira depolimerizacijo mukopolisaharidov celične stene nekaterih bakterij. Praviloma njegove aktivnosti v likvorju ni ali je komaj zaznavna. Močno zvišane vrednosti so prisotne pri akutnem meningitisu, ki korelira s prisotnostjo beljakovin in nevtrofilcev v likvorju. Zvišane vrednosti lahko najdemo še pri virusnem meningitisu, cerebrovaskularnih boleznih, multipli sklerozi, intrakranialnih krvavitvah, epilepsiji, cerebralni atrofiji, sarkoidozi in tumorjih ČŽS.¹

Adenozin-deaminaza (AD)

Adenozin-deaminaza (AD) katalizira ireverzibilno hidrolitično deaminacijo adenozina v inozin in amoniak. Zvišano vrednost AD tako lahko najdemo pri tuberkuloznem in bakterijskem meningitisu, vendar ju med seboj ne moremo razlikovati. Kvečjemu ju lahko ločimo od aseptičnega meningitisa.¹

Adenilat-kinaza (AK)

Adenilat-kinaza AK je občutljiv označevalec cerebralne ishemije. Zvišane vrednosti AK v likvorju po operacijah na odprtem srcu nakazujejo možnost poškodbe možganskih celic.¹

Acetilholin-esteraza (Ache)

Acetilholin-esteraza obstaja kot možen označevalec Alzheimerjeve bolezni, pri kateri naj bi bila aktivnost v likvorju znižana.¹

Beta-glukoronidaza

Beta-glukoronidaza je lizosomalni encim, ki doseže zvišane vrednosti v likvorju pri bolnikih z neoplastičnim in tudi infekcijskim meningitisom. Najvišja encimska aktivnost je bila ugotovljena pri adenokarcinomih (75 %) in mielogeni levkemiji (60 %).¹

Nevron specifična enolaza (NSE)

Nevron specifična enolaza (NSE) je znotrajcelični encim (dimer) glikolize, ki pretvarja 2-difosfoglicerat v fosfoenolpiruvat. Poznanih je 5 izoencimov, med katerimi izoencim $\gamma\gamma$ imenujemo za nevron specifična enolaza, saj se nahaja v visokih koncentracijah v nevronih in perifernih neuroendokrinih celicah ter možganskih tumorjih. Zvišane vrednosti v likvorju in/ali serumu nakazujejo poškodbo nevronov. NSE se zato

uporablja kot napovedni označevalec možganskih poškodb pri komi, anoksiji, poškodbi glave, encefalitisu, akutnem cerebralnem infarktu, subarahnoidalni krvavitvi, epilepsiji in možganskih tumorjih. NSE je tudi histološki označevalec za umestitev možganskih tumorjev.^{1,5,8}

Glutamat-dehidrogenaza (GLDH)

V literaturi ni podatkov o aktivnosti GLDH v likvorju, čeprav so možgani bogati s tem encimom. Znižana aktivnost tega encima v možganih lahko privede do degenerativnih okvar oziroma boleznih.

GLDH je encim, sestavljen iz polipeptidnih verig z molekularno maso med 50.000 in 60.000. Sestavni del molekule je cink, ki je potreben za aktivnost encima. V človeških možganih je GLDH sestavljen iz štirih elektroforetsko različnih izoproteinov. Sicer pa GLDH obstaja v dveh katalitično delujočih izooblikah (vzdrževalna in za živčne celice specifična oblika), ki sta v možganih različno razporejeni. GLDH je parenhimski encim in se nahaja v mitohondrijih vseh celic. V možganih se nahaja v celicah nevronov in glije.^{9,10}

Funkcija GLDH je reverzibilna pretvorba glutamata v alfa-ketoglutarat in izločanje dušikovih spojin (NH_4^+):

ADP in GDP



ATP in GTP



Encim aktivirajo visoke koncentracije oksidirane nikotinamidadeninukleotida (NAD^+) in adenozin-5'-difosfata (ADP) v smeri nastajanja alfa-ketoglutarata ter reducirane nikotinamidadeninukleotidfosfata (NADPH) in gvanozin-5'-trifosfata (GTP) v smeri nastanka glutamata. Visoke koncentracije NADH in oksidirane nikotinamidadeninukleotidfosfata (NADP^+) ter alfa-ketoglutarata pa zavirajo delovanje GLDH. V serumu bi naj vsa GLDH izvirala iz hepatocitov.^{9,11}

Zvišana aktivnost GLDH v serumu odvisnih od alkohola in vrnitev aktivnosti serumske GLDH na normalno vrednost po prekinitvi uživanja alkohola sta specifična označevalca odvisnosti od alkohola. V serumu odvisnih od alkohola skoraj tretjina GLDH izvira iz endoplazemskega retikuluma, preostali del pa iz mitohondrijev jetrnih celic.¹²

V možganih je encim povezan z najmanj dvema izvoroma glutamata. V sinaptičnem delu živčnih končičev ima glutamat vlogo prenašalca (nevrotransmitorja), drugi del pa je udeležen v presnovi celic glije. GLDH se nahaja predvsem v podaljških astrocitov, ki obkrožajo živčne končiče. Verjetno igra encim ključno vlogo pri zaščiti postsinaptičnih membran pred nevrotoksičnimi učinki glutamata kot prenašalca. Glutamat se sprošča v sinaptično špranjo iz glutamatnih živčnih končičev in se veže na postsinaptične receptorje. Iz sinaptične špranje se odstranjuje s ponovnim privzemom, predvsem v bližnje astrocite (glija), kjer se v večini pretvori v alfa-ketoglutarat z GLDH in manj deaminira z AST oziroma se pretvori v glutamin prek

glutamin-sintetaze. Očitno ima GLDH poseben pomen v mehanizmu glutamatnih sinaps. Živčni končiči prejemajo tako nastala predhodnika glutamin in alfa-ketoglutarat iz astrocitov. Natančen mehanizem uravnavanja pretoka glutamata v astrocitih še ni znan. Nekateri avtorji ugotavljajo, da je GLDH v nevronih bolj odgovorna za sintezo glutamata iz glukoze kot pa za razgradnjo aminokislin.^{13,14}

Aktivnost možganske GLDH naj bi bila odvisna od razpoložljivega ADP in L-levcina, ne pa tudi od GTP, ki primarno vpliva na aktivnost vzdrževalne GLDH.¹³ Poleg tega GTP močno zavira GLDH z gena *glud 1*, medtem ko je izoencim GLDH z gena *glud 2* neodziven na GTP. Oba izoencima se popolnoma aktivirata z ADP, čeprav je osnovna aktivnost GLDH z gena *glud 2* nižja od GLDH z gena *glud 1*. Sprememba odzivnosti je nastala z razvojem človeških možganov in je omogočila možganskim izoencimom primerno delovanje v stanjih, ko znotrajcelične strukture delujejo v bolj kislem območju in ko se v astrocitih poveča premena adenozin-5'-trifosfata (ATP) v ADP v času ekscitatornih sinaptičnih prenosov. Razpolovna doba vzdrževalne izooblike GLDH je 3,5 ure, medtem ko je razpolovna doba za živčne celice specifične GLDH vsega pol ure.^{13,15}

Izgubo glutamatnih receptorjev in atrofijo možganskih predelov, normalno bogatih z glutatom in posledično GLDH, predvsem v olivopontocerebelarnih poteh, bazalnih ganglijah, hipokampusu in ostalih limbičnih strukturah, možganski skorji, očesnem živcu, lateralnem vestibularnem jedru, hipotalamusu in talamusu so odkrivali sočasno z raznovrstnimi nevrološki motnjami. Pojavljajo se predvsem pri bolnikih z mnogovrstno sistemsko atrofijo, kot so npr. olivopontocerebelarna atrofija (OPCA), motnje motoričnih nevronov, Parkinsonova in Alzheimerjeva bolezen. Znižanje aktivnosti toplotno stabilne GLDH opisujejo pri vseh naštetih boleznih, medtem ko toplotno labilne samo pri OPCA. Verjetno je vzrok v spremembi membrane mitohondrijev, posebno v sposobnosti ohraniti GLDH. Bolj izrazito je znižanje vezane (toplotno labilne) oblike.^{15,16} Dolgotrajen sinaptični prenos, ki proži pogosto sproščanje glutamata iz nevronov, zahteva domnevno visoko aktivnost GLDH v olivopontocerebelarnih poteh. Potemtakem bi lahko povzročila največ poškodb toksičnost glutamata zaradi splošnega pomanjkanja GLDH v teh področjih.¹⁷ Vse oblike bolezni se razvijejo zaradi degeneracije glutamatnih postsinaptičnih nevronov. Pomanjkanje oziroma nizka aktivnost GLDH, posebno v celicah glije, predvidoma povzroči izrazito kopičenje glutamata v sinaptičnih špranjah, neuroekscitotoksično degeneracijo postsinaptičnih nevronov in nato celično smrt. Pomanjkljiva razgradnja glutamata v sinaptičnih astrocitih lahko pretrga obnavljanje prenašalca (zaradi zmanjšane dostave predhodnikov) in povzroči izpraznitev zaloga znotrajceličnega presinaptičnega glutamata.^{9,17} Nevroni bolnikov z OPCA imajo znižano vsebnost glutamata. Bolniki z nizko encimsko aktivnostjo imajo delni presnovni blok oksidacije glutamata v alfa-ketoglutarat. Tako lahko sklepamo, da je znižanje znotrajceličnih zaloga glutamata v nevronih posledica okvarjenega

obnavljanja prenašalca. Čeprav velja prepričanje, da so glutamatni receptorji odgovorni za neuroekscitotoksičnost, pa ima njihova stimulacija lahko tudi neznan neurotrofični učinek.¹⁸

Levkociti so celični model, ki v omejenem obsegu odseva spremembe v celotnem organizmu in omogoča posredno ugotavljanje presnovnih procesov v možganih. Pri bolnikih z raznovrstnimi nevrološki motnjami in degeneracijo več nevronskega sistema so odkrili delno znižano aktivnost GLDH v levkocitih, kakor tudi v trombocitih, limfocitih, fibroblastih kožnih kultur in mitohondrijih mišičnih celic ter možganih umrlih ljudi.¹⁹ Aktivnost GLDH v levkocitih se s starostjo niža.²⁰

Namen raziskave

Ker v Univerzitetnem kliničnem centru Maribor ne obstajajo podatki o letno opravljenih preiskavah likvorjev, smo si zastavili nalogo, da iz izvršenih laboratorijskih preiskav likvorjev ugotovimo število punkcij ter spekter preiskav, naročenih po oddelkih. Ugotoviti smo hoteli, ali se kateri od oddelkov odloča tudi za encimsko diagnostiko v likvorju.

Ker so možgani zelo bogati z GLDH in ker ni podatkov o aktivnosti tega encima v likvorju, smo poskušali ugotoviti, ali obstajajo merljive aktivnosti GLDH v primerih punktiranih nevroloških bolnikov. Ugotavljali smo njihovo pogostnost glede na napotne in končne diagnoze.

Material in metode

V sodelovanju med nevrološkim oddelkom UKC Maribor in Psihiatrično bolnišnico Ormož poteka raziskava z naslovom »Aktivnost GLDH v likvorju in levkocitih v krvi«. Raziskavo je odobrila Komisija za medicinsko-etična vprašanja v UKC Maribor 20. 9. 2006.

Iz dostopnih podatkov v UKC Maribor smo pridobili število odvzemov in opravljenih laboratorijskih preiskav likvorjev v letu 2006. Podatki so bili zbrani v okviru študentske naloge za Dekanovo nagrado Medicinske fakultete v Mariboru v letu 2007.

Likvor na aktivnost GLDH je bil preiskovancem odvzet v okviru rednih diagnostičnih postopkov na oddelku za nevrologijo UKC Maribor.

Za določanje katalitične aktivnosti GLDH je bil po priporočilu nemškega združenja za klinično biokemijo (Deutsche Gesellschaft fuer Klinische Chemie – DGKC) uporabljen Dialabov komplet dveh reagentov.²¹ S to metodo smo določili referenčne vrednosti za našo populacijo v serumu in levkocitih:

GLDH (serum): do 124,0 nkat/L (moški)
oz. do 64,5 nkat/L (ženske)

GLDH (levkociti): od 0,05–1,17 μ kat/g²²

Podatki so bili analizirani in grafično predstavljeni s pomočjo programskega sistema, ki se nahaja v programu Microsoft Office Excel 2003. Izračunani so bili osnovni statistični podatki: frekvenca, srednja vrednost, mediana, standardni odklon, najnižja in najvišja vrednost.

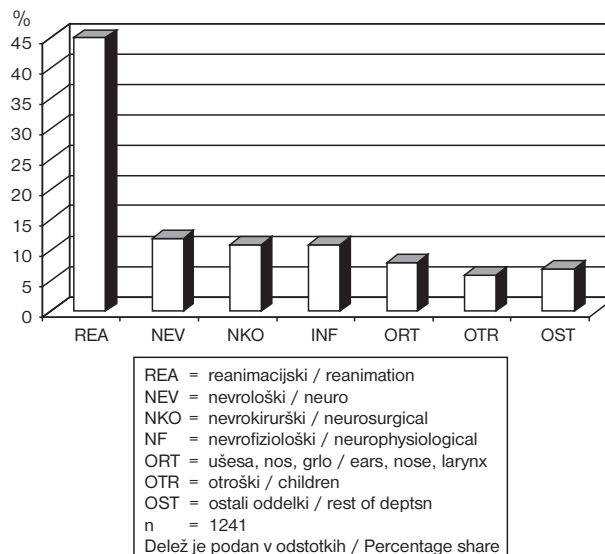
Rezultati

Število lumbalnih punkcij v UKC Maribor v letu 2006

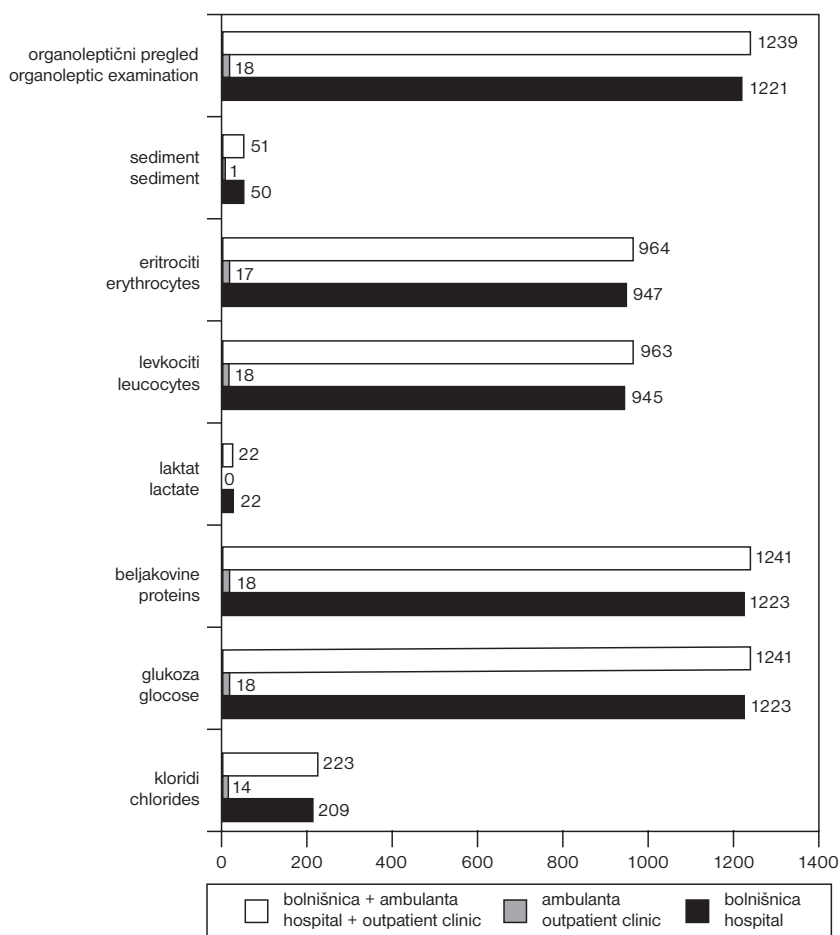
V letu 2006 je bilo v UKC Maribor opravljenih 1241 lumbalnih punkcij. Določanje beljakovin in glukoze je bilo opravljeno v vseh vzorcih likvorja, medtem ko ni bilo izvršene niti ene encimske preiskave v likvorju. Na Sliki 1 so predstavljene vrste in število rutinskih biokemičnih preiskav, medtem ko je na Sliki 2 prikazan delež lumbalnih punkcij po oddelkih v UKC Maribor. Največ punkcij je bilo izvedenih na reanimacijskem oddelku (45 %), sledijo nevrološki (12 %), nevrokirurški (11 %), infekcijski (11 %), ortopedski (8 %) in otroški oddelek (6 %).

Podatki o raziskavi o aktivnosti GLDH v likvorju

V laboratoriju Psihiatrične bolnišnice Ormož je bilo od 21. 11. 2006 do sedaj analiziranih 71 likvorjev na aktivnost GLDH, in sicer pri 39 moških s povprečno starostjo 51,8 leta (od 22–80 let) ter 32 ženskah s povprečno starostjo 43,6 leta (od 18–72 let).



REA = reanimacijski, NEV = nevrološki, NKO = nevrokirurški, NF = neurofiziološki, ORT = ušesa, nos, grlo, OTR = otroški, OST = ostali oddelki
 REA = reanimation, NEV = neuro, NKO = neurosurgical, NF = neurophysiological, ORT = ears, nose, larynx, OTR = children, OST = rest of depts
 n = 1241
 Delež je podan v odstotkih / Percentage share



Sl. 1. Vrste in število rutinskih biokemičnih preiskav likvorja v bolnišnici in ambulantah v UKC Maribor v letu 2006.

Figure 1. The types and number of routine biochemical tests of CSF in inpatients and outpatients of University Clinical Center Maribor in the year 2006.

Sl. 2. Delež biokemijskih preiskav likvorja po oddelkih UKC Maribor.

Figure 2. The proportion of CSF biochemical tests in University Clinical Center Maribor according to different departments.

Encimske aktivnosti so varirale od 0–340 nkat/L (ženske 0–134 nkat/L). Statistični podatki so podani v Razpredelnici 1. Aktivnost GLDH smo ugotovili pri 66 preiskovancih (92,66 %). V primerih, pri katerih nismo ugotovili encimske aktivnosti GLDH v likvorju, so preiskovanci oboleli z naslednjimi boleznimi: poliradikulitis, sum na tumorski proces, sum na multiplo sklerozo, vrtoglavica in polinevropatija. Tudi v serumih zdravih ljudi naše populacije v 21,99 % nismo odkrili aktivnosti GLDH.²²

Deleži nevroloških bolezni, pri katerih smo ugotovili aktivnost GLDH v likvorju, so navedeni v Sliki 3.

Namen raziskave je bil ugotoviti, ali obstaja aktivnost GLDH v likvorju. V vseh primerih potrjene multiple skleroze je bila potrjena aktivnost GLDH. Pogosteje smo jo ugotovili še pri glavobolu in poliradikulonevritisu. Iz Razpredelnice 1 je razvidno, da so aktivnosti pri multipli sklerozi višje kot pri celokupnih oz. ostalih boleznih.

Razpr. 1. Statistični podatki o aktivnosti GLDH v likvorju (v nkat/L).

Table 1. Statistical data about GLDH activity in CSF (in nkat/L).

| | N | X | SO | Mediana | Najnižja | Najvišja |
|---|-----|------------|-------|---------|----------|----------|
| | No. | Mean value | SD | Median | Lowest | Highest |
| Vse bolezni (s) All diseases (t) | 71 | 31,86 | 45,71 | 22 | 0 | 340 |
| Vse bolezni (m) All diseases (m) | 39 | 30 | 56,11 | 18 | 0 | 340 |
| Vse bolezni (ž) All diseases (f) | 32 | 34,13 | 29,15 | 30 | 0 | 134 |
| Multipla skleroza (s) Multiple sclerosis (t) | 21 | 36,65 | 37,21 | 27 | 2 | 144 |
| Multipla skleroza (m) Multiple sclerosis (m) | 9 | 38,86 | 47,90 | 22 | 3 | 144 |
| Multipla skleroza (ž) Multiple sclerosis (f) | 13 | 35,11 | 30,44 | 29,5 | 2 | 106 |

X = srednja vrednost, SO = standardni odklon, s = skupaj, m = moški, ž = ženske

X = mean value, SD = standard deviation, t = total, m = male, f = female

Trenutno ocenjujemo, da pozitiven GLDH test v vzorcu likvorja ni specifičen za multiplo sklerozo. Kljub temu smo prepričani, da je določanje aktivnosti GLDH v likvorju pomembno orodje za nadaljnje raziskave in morebiten pripomoček v diagnostiki bolezni centralnega živčevja.

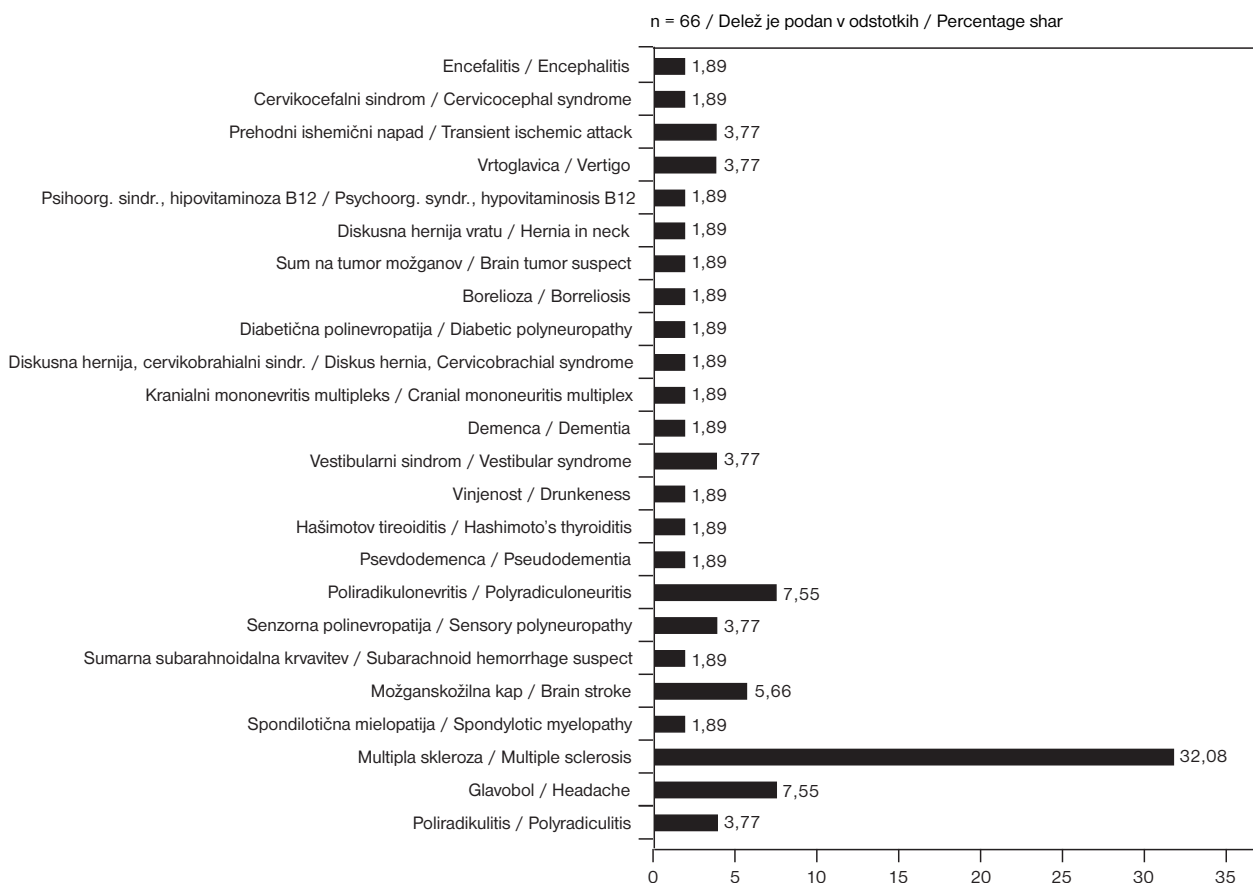
Razpravljanje in zaključki

Ugotovili smo, da je bilo v UKC Maribor v letu 2006 opravljenih 1241 lumbalnih punkcij. Na večini oddelkov UKC Maribor se lumbalne punkcije opravljajo pri hospitaliziranih bolnikih po oddelkih, le za manjši del pa ambulantno.

Spekter klinično-biokemičnih preiskav, ki so jih oddelki in ambulante naročali, je zelo širok. Razen rutinskih preiskav likvorja se na nekaterih oddelkih naročajo specifične preiskave, kot so npr. imunoglobulini, transferin, protitelesa proti jedrni DNK (ANA) in še nekatere druge preiskave.

Ugotovili smo, da v letu 2006 v UKC Maribor ni bilo opravljene nobene encimske preiskave likvorja, čeprav obstaja dovolj teoretičnih podlag, ki navajajo koristnost tovrstnih preiskav v diagnostiki. Na UKC Ljubljana opravljajo vse klinično-biokemične preiskave likvorja, tudi za Onkološki inštitut, v laboratoriju Infekcijske klinike brez rutinskih encimskih preiskav.²³

Ugotovili smo, da večina likvorjev vsebuje merljive aktivnosti GLDH. O aktivnosti glutamat-dehidrogenaze (GLDH) v likvorju ni podatkov v literaturi, čeprav so možgani bogati s tem encimom. Številni so podatki o patologiji znižanih aktivnosti GLDH v možganih. To lahko ugotovimo posredno z merjenjem GLDH v levkocitih, ki je gensko enaka možganski. Preiskavo smo kot prvi uvedli v Sloveniji. Menimo, da je že ugo-



Sl. 3. Prikaz deleža neuroloških bolezni pri bolnikih z ugotovljeno aktivnostjo GLDH v likvorju.

Figure 3. The portion of patients with neurological diseases who had ascertained GLDH activity in CSF.

toitev merljive aktivnosti GLDH v nativnem (nekoncentriranem) likvorju zelo pomembna glede na že dokazano važno vlogo GLDH v možganih. Raziskavo o GLDH v likvorju še nadaljujemo.

Literatura

1. Kjeldsberg CR, Knight JA. Laboratory examination of amniotic, cerebrospinal, seminal, serous & synovial fluids. In: *Body fluids*. 3rd ed. Chicago: American Society of Clinical Pathologists; 1993. p. 103–9.
2. Anon. Klinični inštitut za klinično kemijo in biokemijo. Klinični center Ljubljana, 2008. Dosegljivo na: <http://www.kclj.si/kikkb/preiskave.htm>.
3. Zilva JF, Pannall PR. Cerebrospinalna tekočina (likvor). In: *Klinična kemija u dijagnostici i terapiji*. II. prerađeno izdanje. Zagreb: Školska knjiga; 1984. p. 407.
4. Topić E. Likvorska dijagnostika u diferencijalnoj dijagnostici cerebrovaskularnih bolesti. *Biochemia Medica* 2001; 1-2: 48.
5. Osredkar J, Jerin A. Nevron specifična enolaza (NSE) pri cerebrovaskularnih boleznih. *Biochemia Medica* 2001; 1-2: 48–9.
6. Parakh N, Gupta HL, Jain A. Evaluation of enzymes in serum and cerebrospinal fluid in cases of stroke. *Neurol India* 2007; 50: 518–9.
7. Longstreth WT Jr, Clayson KJ, Chandler WL, Sumi SM. Cerebrospinal fluid creatin kinase activity and neurologic recovery after cardiac arrest. *Neurology* 1984; 34: 834.
8. Olson AD. Head injury. Department of Neurology, Dekalb Medical Center, 2006. Dosegljivo na: <http://www.emedicine.com/neuro/topic153.htm>.
9. Thomas L. *Glutamat-dehidrogenaze*. In: Thomas L. *Labor und Diagnose*. 6. Aufl. Frankfurt/Main: TH - Books Verlagsgesellschaft GmbH; 2005. p. 103–6.
10. Bais R, Panteghini M. Principles of clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2006. p. 191–218.
11. Devlin TM. *Textbook of biochemistry with clinical correlations*. New York: Wiley & Sons Inc.; 2001. p. 784–5, 895–6.
12. Kravos M, Malešič I. Kinetics and isoforms of serum glutamate dehydrogenase in alcoholics. *Alcohol* 2008; 43: 281–6.
13. Plaitakis A, Zaganas I. Regulation of human glutamate dehydrogenases: Implications for glutamate, ammonia and energy metabolism in brain. *J Neurosci Res* 2001; 66: 899–908.
14. Chee PY, Dahl IJ, Fahien A. The purification and properties of rat brain glutamate dehydrogenase. *J Neurochem* 1979; 33: 53–60.
15. Iwatsuji K, Nakamura S, Kameyama M. Lymphocyte glutamate dehydrogenase activity in normal aging and neurological diseases. *Gerontology* 1989; 35: 218–24.
16. Lee WK, Shin S, Cho SS, Park J. Purification and characterization of glutamate dehydrogenase as another isoprotein binding to the membrane of rough endoplasmatic reticulum. *J Cell Biochem* 1999; 76: 244–53.
17. Plaitakis A, Berl S, Yahr MD. Neurological disorders associated with deficiency of glutamate dehydrogenase. *Ann Neurol* 1984; 15: 144–53.
18. Plaitakis A, Berl S, Yahr MD. Abnormal glutamate metabolism in an adult-onset degenerative neurological disorder. *Science* 1982; 216: 193–6.
19. Hugon J, Tabaraud F, Rigaud M, Vallat JM, Dumas M. Glutamate dehydrogenase and aspartate aminotransferase in leukocytes of patients with motor neuron disease. *Neurology* 1989; 39: 956–8.
20. Kravos M, Malešič I. Glutamate dehydrogenase activity at neuroexcitotoxic glutamate development. *European Psychiatry* 2006; 21: S69.
21. Committee on Reference Systems for Enzymes. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 631–4.
22. Kravos M. *Glutamat-dehidrogenaza kot označevalec sindroma odvisnosti od alkohola [doktorsko delo]*. Ljubljana: Medicinska fakulteta; 2007.
23. Kobe JM, Malešič I. Algorithms of cerebrospinal fluid laboratory examinations in infectious diseases. *Biochem Med* 2002; 1-2, 27–34.

Prispelo 2008-05-09, sprejeto 2008-08-13