proLékaře.cz | 23.11.2026

Aktivace mikroglie a GFAP imunopozitivita astroglie u toxikomanů

Vajtr D.[1], Kukačka J.[2], Strejc P.[1], Vitouš A.[3], Balíková M.[1], Bradková E.[1], Pilin A.[1], Průša R.[2]

[1] Ústav soudního lékařství a toxikologie VFN a 1.LF UK, Praha
[2] Ústav klinické biochemie a patobiochemie FN Motol a 2.LF UK, Praha
[3] Klinika infekčních nemocí FN Motol a 2.LF UK, Praha

SOUHRN

Úvod: Neurotoxicita vyvolaná aplikací omamných a psychotropních látek je provázena aktivací astroglie a mikroglie v mozku. ***Skupina pacientů a metoda:*** Klinicky bylo vyšetřeno 42 pacientů závislých na psychotropních a omamných látkách (hospitalizovaní ve FN Motol). U pacientů byly vyšetřeny koncentrace neuron specifické enolázy (NSE), S-100B proteinu a manganu v séru. U 14 zemřelých s průkazem drog ve vlasech svědčících pro chronický abusus návykových látek byla imunohistochemicky značena glie v mozkové tkáni protilátkami proti CD68 a kyselému proteinu astroglie (GFAP). ***Výsledky:*** U 8 hospitalizovaných pacientů byly vyšší hodnoty NSE a S-100B v séru ($p < 0,05$). Mangan v krvi byl vyšší (3,03±1,9 μg/l, $p < 0,05$) u všech pacientů (100 %). U zemřelých osob byla imunohistochemicky prokázána CD68 pozitivita mikroglie a neuronofagie. GFAP pozitivní astroglie byla prokázaná v šedé i bílé hmotě. ***Závěr:*** Patomorfologickým korelátem neurotoxicity u chronických uživatelů návykových látek může být CD68 a GFAP pozitivní glie v mozkové tkáni. U hospitalizovaných pacientů může být neurotoxicita monitorovaná markery poškození nervových buněk NSE a S-100B.

Klíčová slova: neurotoxicita – mikroglie – astroglie – neuron specifická enoláza – S-100B protein

Microglial activation and GFAP astroglial immunopositivity in drug abusers

SUMMARY

Introduction: The neurotoxicity brought about by application of toxic and psychotropic substances is accompanied by an activation of astroglial and microglial cells in the brain. ***Materials and method:*** We investigated clinically 42 patients addicted to psychotropic substances (hospitalised in the Motol Teaching Hospital). The NSE, S1OOB, and manganese concentrations in the blood were measured in the patients. In 14 deceased patients with drug evidence in the hair indicating a chronic abuse of addictive substances, the brain tissue glial cells were immunohistochemically labelled with antibody against CD68 and GFAP. ***Results***: In 8 hospitalised patients, there were increased NSE, S100B values in the blood ($p < 0.05$). Manganese in the blood was increased (3,03±1,9 μg/l, $p < 0,05$) in all patients. In deceased persons, the CD68 positivity of microglial cells and neurophagy have been proved. GFAP positive astroglial cells have been evidenced in the gray and white matter. ***Conclusion***: The CD68 and GFAP positive glial cells in brain tissue can be a pathomorphological correlate of neurotoxicity in chronic abusers. The neurotoxicity can be monitored with NSE and S100B markers of damaged neuronal cells.

Keywords: neurotoxicity – mikroglial cells – astroglial cells – neuron specific enolasis – S-100B protein

Soud Lek 2012; 57(2): 31–33

Neurotoxicita vyvolaná aplikací omamných a psychotropních látek (OPL) je v příčinné souvislosti s poškozením hematoencefalické bariéry BBB, provázené aktivací astroglie a aktivací mikroglie ve specifických oblastech mozku. Změny BBB byly popsány (1) v experimentu, kdy podání budivých aminů (methamphetaminu, MAP) vyvolalo patomorfologické změny neuronů, glie a endotelových buněk. Tyto změny byly spojené se zvýšenou propustností hematoencefalické bariéry a s otokem mozku (2). Po aplikaci metamphetaminu byly pozorovány reaktivní astrocyty (imunohistochemicky pozitivní při značení s protilátkou proti kyselému proteinu astroglie, GFAP) v okolí nervových buněk a kapilár ve srovnání s několika GFAP pozitivními astrocyty u kontrolních zvířat. V experimentu se dále prokázalo, že v astroglii se zvyšuje syntéza mangan dependentní superoxid dismutasy (SOD-2), která se podílí na potlačení oxidačního stresu (3). Mangan je nezbytný pro funkci mitochondrialní Mn-superoxid dismutasy (SOD-2). U experimentální aplikace morfinu byla prokázána aktivace astroglie v mozku u myší. Potvrdilo se, že morfin aktivuje astroglii (4) a signifikantně zvyšuje počet mikroglií ve striatu. Na rozdíl od experimentu je u osob užívajících dlouhodobě OPL situace komplikovaná koincidencí zneužívání OPL a závažnými infekcemi, nejčastěji infekční hepatitidou či endokarditidou. Mezi základní patomorfologické změny u infekční hepatitidy je jaterní encefalopatie spojená se změnami astrocytů Alzheimerova typu II (5), kde astrocyty ztrácejí imunoreaktivitu pro GFAP ve srovnání s kontrolami (6).

CÍLE PRÁCE

Neurotoxicita může být klinicky monitorovaná koncentracemi NSE a S-100B proteinu v séru pacientů. Laboratorní výsledky mohou přispět k posouzení vážné poruchy zdraví jako celku v soudně-lékařské posudkové činnosti. U zemřelých osob umožňuje imunohistochemické vyšetření posoudit vliv chronického užívání drogy na nervový systém. Vyšetření OPL ve vlasech se využívá při průkazu dlouhodobého užívání návykových látek.

proLékaře.cz | 23.11.2026

METODA

Skupina pacientů: Skupina 42 pacientů závislých na psychotropních a omamných látkách (hospitalizovaní ve FN Motol s potvrzeným zánětem jater). Skupina 14 zemřelých pacientů mimo zdravotnické zařízení s průkazem drog ve vlasech svědčících pro chronický abusus návykových látek. Průměrná doba zneužívání OPL (opiátů a budivých aminů), uváděná pacienty v dokumentaci, byla 8,8 roků, přičemž rozmezí bylo od 6 měsíců až do 21 let celkové doby užívání návykových látek. Údaj o četnosti aplikace OPL nebyl v dokumentaci uveden.

Laboratorní metody: Koncentrace NSE a S-100B v séru 42 hospitalizovaných pacientů byly změřeny na přístroji Roche Cobas e411, hladiny manganu byly měřeny spektrometricky (AAS). Mozková tkáň odebraná při pitvě 14 zemřelých osob byla vyšetřena imunohistochemicky s protilátkami proti CD68 a GFAP (Chemicon) technikou streptavidin-HRP-biotin s dobarvením diamino-benzidinem. Přítomnost drogy v orgánech zemřelých osob byla potvrzena toxikologickým vyšetřením. Amfetaminy a opiáty byly extrahovány na pevné fázi (SPE kolonky). K derivatizaci opiátů bylo použito derivatizační činidlo N-methyl-N-trimethysilyltrifluoroacetamid a k derivatizaci amfetaminů použito derivatizační činidlo trifluoroacet-anhydrid. Pro posouzení dlouhodobého užívání návykových látek v delší době před smrtí byly u zemřelých odebrány vlasy v různé vzdálenosti od vlasového kořene a analyzovány na přítomnost drog v jednotlivých segmentech (7,8,9,10).

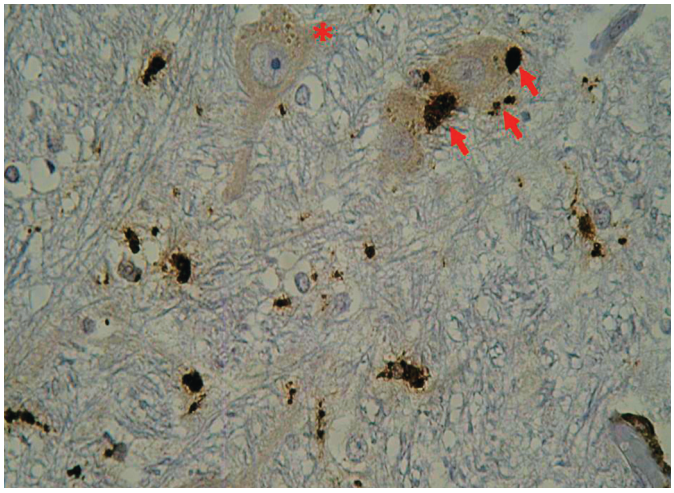
Statistické zpracování dat: Výsledné hodnoty byly statisticky zpracovány programem StatView, t-testem. Hodnoty koeficientu $p<0,05$ byly považovány za statisticky významné.

Informovaný souhlas: U pacientů byl získán písemný souhlas s odběrem vzorků krve. U osob pitvaných na Ústavu soudního lékařství a toxikologie 1.LF UK a VFN byly vzorky tkání vyšetřeny pro diagnostické účely.

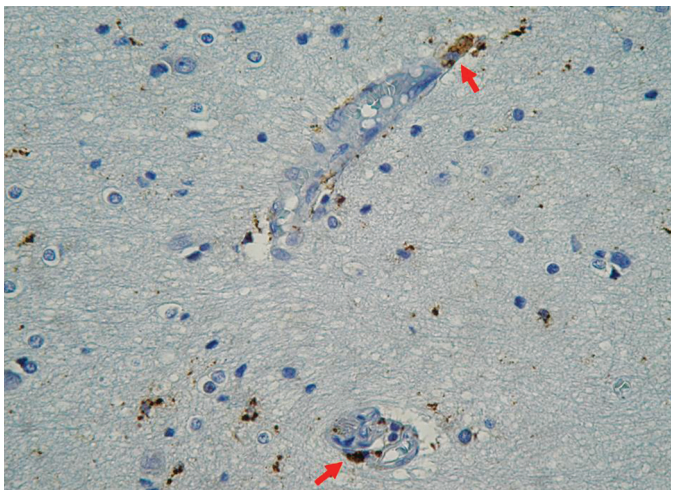
VÝSLEDKY

Zdravotní dokumentace osob zneužívajících omamné a psychotropní látky:

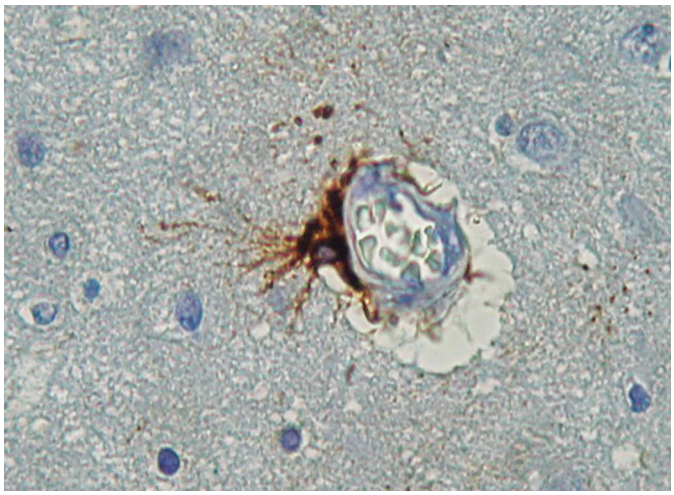
V souboru 42 pacientů bylo hospitalizováno 25 pacientů (59 %) se základní diagnozou akutní virové hepatitidy, s abscesem či flegmonou 6 pacientů (14 %), s infekční endokarditidou 3 pacien-



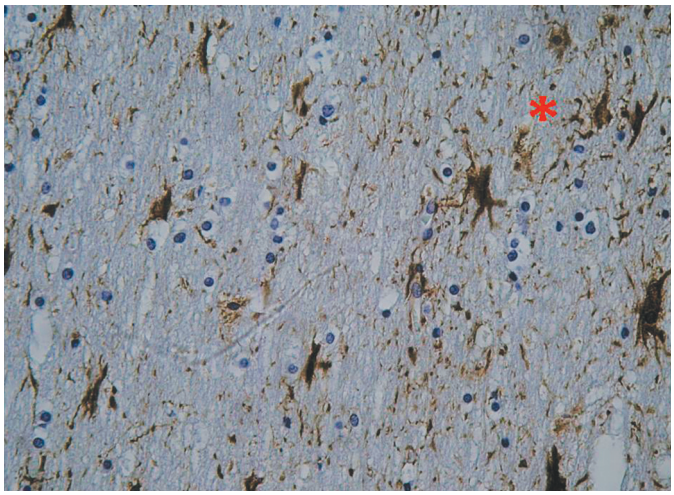
Obr. 1. CD68 imunopozitivita v mozkovém kmeni. CD68 pozitivní mikroglie je v blízkosti gangliových buněk (neuronofagie buňkami mikroglie je označena šipkou, neuron je označen hvězdičkou). Zvětšení 400x.



Obr. 2. CD68 imunopozitivita v basálních gangliích mozku. Aktivace mikroglie je patrná mezi svazky bílé hmoty i perivaskulárně (označeno šipkou). Pozorujeme i pericelulární edém. Zvětšení 200x.



Obr. 3. GFAP imunopozitivita v protoplasmatické astroglii s dobře patrnými perivaskulárními výběžky tvořící součást hematoencefalické bariéry mozku. V lumen cévy erytrocyty. Zvětšení 1000x.



Obr. 4. GFAP imunopozitivita fibrilární astroglie v podkorové bílé hmotě. Imunohistochemické vyšetření umožňuje hodnotit nakupení astroglie (astrogliosa označena hvězdičkou). Výběžky astroglie a pozorovatelné kontakty s kapilárním řečištěm i gliovými buňkami (připomínající oligodendroglii s kulatým jádrem). Zvětšení 400x.

proLékaře.cz | 23.11.2026

ti (7 %), s diagnozou cirrhozy jater 2 pacienti (4 %) a 6 pacientů (16 %) s jinou dignozou (kupř. renální selhání při rhabdomyolýze, impetigo, pneumonie). V anamnéze byla uvedena další přidružená onemocnění (u 4 pacientů astma bronchiale, u jednoho pacienta hypertense a u jiného pseudomalatické cysty mozku). U 2 pacientů byla diagnostikovaná poúrazová epilepsie. U 9 pacientů byly prokázány vyšší hodnoty CRP v séru (v rozmezí 19,7 mg/l-273 mg/l) a hodnoty jaterních enzymů byly v referenčním rozmezí. U 12 pacientů byly naopak hodnoty CRP nízké a jaterní enzymy vyšší než horní referenční mez.

Biochemické hodnoty NSE, S-100B a manganu v krvi toxikomanů:

V souboru hospitalizovaných toxikomanů (n=42) jsme u 8 pacientů (19 %) prokázali vyšší hodnoty neurobiochemických markerů NSE a S-100B v séru ($p< 0.05$) v rozmezí od 15,88 do 35,38 μg/l u NSE a od 0,143 do 5,37 μg/l u S-100B proteinu. V celém souboru hospitalizovaných toxikomanů byly hodnoty manganu v krvi (3,03±1,9 μg/l, $p< 0,05$) u všech pacientů (100 %) vyšší než referenční rozmezí.

Imunohistochemický průkaz CD68 a GFAP pozitivních nervových buněk:

U zemřelých osob (bez exacerbace infekční hepatitidy) byla v kůře, podkorové bílé hmotě, bazálních gangliích a v mozkovém kmeni prokázána CD68 imunopozitivita mikroglie (**obr.1**) perivaskulárně i v okolí neuronů (**obr.2**). V některých zorných polích byla pozorovaná neuronofagie gangliových buněk, které byly obklopeny buňkami mikroglie barvených protilátkou proti-CD68. GFAP imunopozitivní astroglie byla prokazovaná v šedé i bílé hmotě; s dobře značenými výběžky i pozitivními astrogliálními perivaskulárními pochvami (**obr.3**). Výrazná GFAP imunopozitivita fibrilární astroglie byla pozorovaná v podkorové bílé hmotě. Imunohistochemické vyšetření prokázalo nakupení astroglie (**obr.4**). Výběžky astroglie byly v kontaktu s kapilárním řečištěm (astrogliální pochvy) i gliovými buňkami připomínající oligodendroglii. Ve světelné mikroskopii byly ve stejných vzorcích barvených hematoxilin-eosinem pozorovány extravazáty erytrocytů v okolí cév, satelitoza nebo bylo lékařem popsáno zmnožení glie.

DISKUZE

Hodnocení poruchy zdraví jako celku u osob zneužívajících OPL je ve forensní praxi zaměřeno na poškození orgánová (zejména srdce, plic, jater) a v posudkové činnosti i na změny funkční (změny krevního tlaku, příznaky psychiatrického onemocnění, deprese, halucinace apod.). Měření některých neurobiochemických markerů (NSE, S-100B) u pacientů s anamnezou zneužívání OPL by mohlo přispět nejen pro potřeby vypracování znaleckého posudku, ale i pro klinické hodnocení příznaků neurotoxicity při hodnocení poruchy zdraví postihující centrální nervový systém. Neurotoxicita u osob závislých na OPL byla mnohými autory vysvětlována poškozením hematoencefalické bariéry a aktivací astroglie a mikroglie ve specifických oblastech mozku (1,2) po aplikaci MAP ale i heroinu (4).

U zemřelých osob s anamnezou závislosti na OPL můžeme poškození jednotlivých oblastí nervového systému prokázat morfologickou analýzou procesu hojení v mozku a změnami ukazující na chronicitu toxického působení OPL na nervový systém. Za příznak dlouhodobého toxického působení OPL můžeme považovat známky aktivace astroglie a mikroglie, které probíhá s určitou latencí a vyžaduje podnět o určité intenzitě. V našem souboru zemřelých toxikomanů jsme pozorovali CD68 imunoreaktivitu mikroglie v okolí nervových buněk i perivaskulárně. Byla pozorována i neuronofagie gangliových buněk obklopených aktivovanou CD68 pozitivní mikroglií. V experimentu na krysách byly po aplikaci metamphetaminu popsány reaktivní astrocyty v okolí nervových buněk a kapilár ve srovnání s několika GFAP pozitivními astrocyty u kontrolních zvířat. V naší sestavě byly GFAP reaktivní astrocyty pozorované v basálních gangliích, v kůře i podkorové bílé hmotě. Subependymálně jsme nepozorovali výpadky astroglie, které by mohly být korelátem poškození liquorové bariéry (2). Astrogliální perivaskulární výběžky se dobře značily protilátkou proti-GFAP.

V klinické praxi je u toxikomanů situace komplikovaná koincidencí užívání OPL a závažnými infekcemi, nejčastěji infekční hepatitidou či endokarditidou. Neurotoxicita u toxikomanů s infekční hepatitidou se také vysvětluje změnami hematoencefalické bariéry mozku (2), avšak v našem souboru nebyla signifikantní korelace mezi hodnotami neurobiochemických markerů (NSE a S-100B) a elevací jaterních enzymů.

ZÁVĚR

CD68 a GFAP imunohistochemickou pozitivitu glie v mozkové tkáni můžeme považovat za patomorfologický korelát neurotoxicity u chronických uživatelů návykových látek. U hospitalizovaných pacientů může být k monitorování neurotoxicity využíváno biochemické stanovení markerů poškození neuronů a astroglie (NSE a S-100B).

LITERATURA

1. **Kiyatkin EA, Brown PL, Sharma HS.** Brain edema and breakdown of the blood-brain barrier during methamphetamine intoxication: critical role of brain hyperthermia. *Eur J Neurosci* 2007; 26(5): 1242–53.
2. **Sharma HS, Kiyatkin EA.** Rapid morphological brain abnormalities during acute methamphetamine intoxication in the rat: an experimental study using light and electron microscopy. *J Chem Neurovnat* 2009; 37(1): 18–32. Epub 2008 Aug 19.
3. **Kim HC, Jhoo WK, Kim WK, et al.** An Immunocytochemical study of mitochondrial manganese-superoxide dismutase in the rat hippocampus after kainate administration. *Neurosci Lett* 2000; 281(1): 65–68.
4. **Bruce-Keller AJ, Turchan-Cholewo J, Smart EJ, et al.** Morphine causes rapid increases in glial activation and neuronal injury in the striatum of inducible HIV-1 Tat transgenic mice. *Glia* 2008; 56(13): 1414–1427.
5. **Kimura T, Budka H.** Glial fibrillary acidic protein and S-100 protein in human hepatic encephalopathy: immunocytochemical demonstration of dissociation of two glia-associated proteins. *Acta Neuropathol* 1986; 70(1): 17–21.
6. **Kril JJ, Flowers D, Butterworth RF.** Distinctive pattern of Bergmann glial pathology in human hepatic encephalopathy. *Mol Chem Neuropathol* 1997; 31(3): 279–287.
7. **Balíková M a kol.** Hair analyses for drug abuse and forensic applications. Chemické listy 101 (S), 2007, s84–s87.
8. **Balíková M.** Klinická a forenzní toxikologie, Galén 2007 Praha (ISBN 978-80-7262-284-9).
9. **Balíková M.** Hair analysis for drugs of abuse. Plausibility of interpretation. Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub. 2005, 149 (2):199–207.
10. **Pragst F, Balíková M.** State of the art in hair analysis for detection of drug and alcohol abuse. *Clin Chim Acta* 2006; 370: 17–49.