

Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie e.V.

in der

Deutschen Gesellschaft für Neurologie

Ausgewählte Methoden der Liquordiagnostik und Klinischen Neurochemie

Hrsg.: Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie, e.V.

1. Auflage bearbeitet von Prof. Dr. H.-O. Reiber, Göttingen 1996
2. Auflage überarbeitet und ergänzt von Dr. M. Wick, München 2004

Diese Zusammenstellung und Auswahl erfolgte unter Mitarbeit und Diskussion von:

Dr. M. Adelman, Weilmünster
Prof. Dr. S. Bamborschke, Köln /Bernau
Dr. D. Becker, Berlin-Buch
Dr. F. Blaes, Gießen
Dr. A. Gerritzen, Bremen
Dr. D. Hobusch, Rostock
Prof. Dr. R. Kaiser, Freiburg/Pforzheim
Prof. Dr. T.O. Kleine, Marburg
Prof. Dr. H.W. Kölmel, Erfurt
Dr. H.-J. Kühn, Leipzig
Dr. R. Lehmitz, Rostock
Dr. E. Linke, Stadtroda
Fr. Dr. R. Ludewig, Halle
Prof. Dr. H. Meyer-Rienecker, Rostock
Prof. Dr. E. Mix, Rostock

PD. Dr. P. Oschmann, Gießen
Fr. PD Dr. H.-F. Petereit, Köln
Prof. Dr. H. Reiber, Göttingen
Dr. A. Regeniter, Basel
Prof. Dr. P. Rieckmann, Würzburg
Prof. Dr. A. Rolfs, Rostock
Fr. Dr. S. Scharein, Wittenberge
PD. Dr. H. Tuman, Ulm
Dr. M. Uhr, Göttingen/München
Prof. Dr. R. Voltz, München
Prof. Dr. Th. Weber, Hamburg
Dr. M. Wick, München
Fr. Prof. Dr. B. Wildemann, Heidelberg
Dr. U. Wurster, Hannover
Dr. K. Zimmermann, Dresden

Korrespondenzanschrift:

Dr. med. Manfred Wick
Institut für Klinische Chemie
Klinikum Großhadern
D – 81366 München
Tel: 089/7095-3205
Fax: 089/7095-6220
e-mail: manfred.wick@ med.uni-muenchen.de

Gliederung:

Die Parameter sind in drei Kategorien eingeteilt:

- I. Notfall- und Grundprogramm der Liquordiagnostik
- II. Spezialuntersuchungen mit gesicherter bzw. ergänzender diagnostischer Bedeutung
- III. Methoden im Erprobungs- und Forschungsstadium, umstrittener Relevanz oder nicht-standardisierter Methodik.

Eine möglichst einheitliche Darstellung der einzelnen Parameter wurde nach folgenden Kriterien versucht:

Indikation: Wenngleich die ausgewählten Parameter unsere Einschätzung der klinischen Relevanz widerspiegeln, so haben wir dennoch darauf verzichtet, lehrbuchartig die Indikationen für die einzelnen Parameter ausführlich darzustellen.

Präanalytik/Abnahmebedingungen weist nur im Einzelfall (z.B. Zytologie) auf besondere Sorgfaltspflichten hin. Sonst gelten die Standardabnahmebedingungen.

Methoden repräsentieren soweit angegeben die derzeit häufig verwendeten Verfahren.

Referenzwertebereiche bedürfen der methodenabhängigen oder laborabhängigen Variation.

Anmerkungen beziehen sich auf Labor-orientierte Kommentare, die für eine qualifizierte Messung eines Parameters notwendig sind.

Beurteilung umfasst ergänzende Bemerkungen zur Charakterisierung des Referenzwertebereiches und zur klinisch-orientierten Beurteilung pathologischer Befunde.

Literaturzitate (in Klammern) beziehen sich primär auf methodisch-orientierte Arbeiten und sind über die Herausgeber erhältlich, Übersichtsartikel und Bücher sind am Ende aufgelistet. Eine repräsentative Wiedergabe der z.T. kontroversen wissenschaftlichen Diskussion um die klinische Wertigkeit konnte in diesem Zusammenhang nicht geleistet werden.

Inhaltsverzeichnis	Seite
0. Standardabnahmebedingungen / Präanalytik von Liquor und Serum	4
I. Notfall- und Grundprogramm der Liquordiagnostik	4
Visuelle Beurteilung der Liquorprobe	5
Zellzahl im Liquor	5
Zelldifferenzierung	7
Erreger-Schnell-Nachweis	8
Gesamtprotein im Liquor Cerebrospinalis	8
Lactat	9
Albumin und IgG	10
IgA und IgM	12
Oligoklonales IgG	13
II. Spezialuntersuchungen mit gesicherter oder ergänzender diagnostischer Bedeutung	14
<i>Zell- und Erregerdiagnostik</i>	
Immunzytologie maligner Zellen	14
CDR3 spezifische Analyse der B-Zell-Klonalität	15
Aktivierte B-Lymphozyten	17
Lymphozytensubpopulationen	18
Liquorzellcharakterisierung mit Durchflusszytometrie	19
Erregerspezifische Antikörper in Liquor und Serum (IgG-Klasse)	20
Nachweis von erregerspezifischen Nukleinsäuren, Polymerasekettenreaktion (PCR)	21
<i>Proteindiagnostik</i>	
Identifikation von Liquor in Sekreten (β 2-Transferrin, β -trace-Protein)	22
Neuronenspezifische Enolase (NSE) im Serum	25
Protein S100 im Serum	26
Hirneigene Proteine im Liquor (NSE, S100, Tau, β -Amyloid, 14-3-3)	27
Ferritin im Liquor	30
Carcinoembryonales Antigen (CEA) in Liquor und Serum	30
<i>Autoantikörperdiagnostik</i>	
Anti-Neuronale Antikörper (Hu, Ri, Yo, Tr, Ma1/Ma2, CV2, Amphiphysin, ANNA-3)	31
Glutamatdecarboxylase II (GAD II)-Antikörper	33
Antikörper bei Myasthenen Syndromen (AChR, Titin, MuSK, VGCC)	34
Kalium-Kanal-Antikörper (VGKC)	36
Gangliosid-Antikörper	37
Myelin-Ak (einschließlich MAG-Ak)	37
Phospholipid-Ak (Cardiolipin- und β 2-Glykoprotein I -Ak)	38
<i>Stoffwechsel und Enzyme</i>	
Kupferstoffwechsel bei Morbus Wilson	39
Langkettige Fettsäuren (VLCFA)	40
Phytansäure (Serum)	41
Arylsulfatase A	41
Hexosaminidase B	42
Vitamin B12	42
Folsäure	43
Aminosäureprofil	44
III. Methoden im Erprobungs- und Forschungsstadium, mit umstrittener diagnostischer Relevanz oder nicht-standardisierter Methodik	44
Antikörpersezernierende Zellen (ASZ) und Zytokin-sezernierende Zellen (ZSZ) im Liquor	44
Freie und Ig-gebundene oligoklonale Leichtketten	45
Zirkulierendes interzelluläres Adhäsionsmolekül (cICAM-1)	46
Phosphohexoseisomerase (PHI) in Liquor und Serum	47
β 2-Mikroglobulin (Liquor)	47
β -trace-Protein (weitere Indikationen)	48
Angiotensin Converting Enzyme (ACE)	49
IV. Literaturverzeichnis	50

0. Standardabnahmebedingungen / Präanalytik von Liquor und Serum

Für eine umfassende Liquordiagnostik (zellulär/humoral) sollten 5 bis 10 mL Liquor und 5 mL Blut (Serumgewinnung) zur Verfügung stehen. Ergibt die visuelle Beurteilung des Liquors einen Verdacht auf Blutkontamination, so ist zum Ausschluss oder zur Bestätigung einer artefiziellen Blutkontamination der Liquor in mehreren Portionen (mindestens zwei) zu gewinnen (Reihenfolge auf Probenröhrchen festhalten). An die Probengefäße für Liquor sind hinsichtlich des Materials und gegebenenfalls der Form bestimmte Anforderungen zu stellen (Sterilität, Plastikmaterial, Spitzröhrchen, Schraubverschluss).

Liquor und Serum sollten etwa zur gleichen Zeit entnommen werden (steady state).

Für die Liquorzytologie muss der Liquor so schnell als möglich ins Labor gebracht werden.

Spätestens nach 2 Stunden müssen die Zellen gezählt und die zytologischen Präparate erstellt sein.

Wird diese Bedingung nicht eingehalten, ist mit einer fehlerhaften Zellzahl und Zelldifferenzierung zu rechnen, insbesondere die Autolyse von Granulozyten führt dann zu Fehlinterpretationen.

Zum Notfallprogramm (ärztl. Bereitschaftsdienst) gehört die Anfertigung von mindestens einem zytologischen Präparat (besser zwei für eventuelle Zusatzfärbungen wie Gram-Färbung oder Berliner-Blau-Färbung). Die Präparate können auch erst am folgenden Tag durch das Laborpersonal gefärbt und ausgewertet werden. Im Rahmen der Notfalluntersuchung wird die zytologische Beurteilung oft schon in der Zählkammer vorgenommen nach Anfärbung der Zellen. Sicherer kann die Abgrenzung granulozytärer und lymphozytärer Pleozytosen auf farbbeschichteten Objektträgern (Testsimplen) vorgenommen werden. Falls der Liquor nach Absolvierung eines Notfallprogramms nicht innerhalb der folgenden 2 Stunden zur weiteren Untersuchung in das Liquorlabor kommt, ist der Liquor bei 4°C zu lagern, um so die unvermeidlichen Verfälschungen in Grenzen zu halten. Um besonders bei zellarmen Liquores ein ausreichendes Zellangebot für die zytologische Diagnostik (einschließlich Sonderfärbungen und Immunzytologie) zu haben, sind die Zellen aus der gesamten Liquorprobe zu gewinnen (Vor-zentrifugation des Liquors ca. 15 min bei 200 x g). Erst anschließend wird der zellfreie Liquor auf andere Arbeitsplätze verteilt.

Für die Proteinanalytik, die innerhalb der nächsten Tage bearbeitet wird, ist eine Lagerung bei 4°C hinreichend (Einfrieren kann z.B. bei nephelometrischer IgM-Bestimmung problematisch sein).

Nur längerfristig werden Liquor und Serum bei -80°C gelagert, wobei die Proben möglichst so zu portionieren sind, dass ein mehrfaches Auftauen und Einfrieren vermieden wird.

Der Probenversand (Liquor und Serum) für die Bestimmung humoraler Parameter kann in der Regel ungekühlt erfolgen wenn die Bestimmungen unmittelbar nach Versand erfolgen. Ist dies nicht der Fall, so ist Transport auf Trockeneis vorzuziehen.

Als Grundregel ist zu beachten, dass hinsichtlich der Präanalytik für jeden Parameter eine Einzelfallprüfung vorzunehmen ist (u. a. PCR, NSE, Virusisolierung, Bakterienkultur, Immunzytologie).

I. Notfall- und Grundprogramm der Liquordiagnostik

Visuelle Beurteilung der Liquorprobe (31-32).

Indikation:

Jede Liquorprobe sollte einer visuellen Beurteilung unterzogen werden.

Methode:

Visuelle Beurteilung von:

1. Klarheit bzw. Grad einer Trübung
2. Farbe
3. Gerinnelnachweis oder Gerinnungszeichen

Teststreifen zum semiquantitativen Nachweis von Erythrozyten, Leukozyten (Granulozyten) Hämoglobin und Bilirubin unterstützen die visuelle Beurteilung der Liquorprobe.

Referenzwertebereich:

Der Normalliquor ist wasserklar und farblos. Die Teststreifenauswertung ist negativ.

Anmerkungen:

Nur glasklare und farblose Probenröhrchen erlauben eine visuelle Beurteilung des Liquors.

Beurteilung:

1. Trüber Liquor:

- 1 **Rosige Trübung ab ca. 1000 Erythrozyten/ μ L (= 1000 Mpt/L).**
- 2 **Opalweiße Trübung (auch gelb-grün) ab ca. 1000 Leukozyten/ μ L (selten durch Bakterien verursacht).**

2. Liquorfarbe:

- 1 **Hämolytischer Liquor.**
- 2 **Kirschrote Farbe nach Entzellung zeigt freies Oxyhämoglobin an.**
- 3 **Mittels Teststreifen wird Hämoglobin bereits im farblosen entzellten Liquor nachgewiesen.**
- 4 **In artefiziell blutigen Liquorproben wird Hämoglobin frühestens 2 Stunden nach Entnahme nachgewiesen.**
- 5 **Bei Blutungen in die Liquorräume wird Hämoglobin frühestens etwa 4 Stunden nach dem Blutungsereignis nachgewiesen.**
- 6 **In Abhängigkeit vom zeitlichen Abstand der Blutung kann der Liquor von braunrot bis xanthochrom gefärbt sein.**
- 7 **Xanthochromer Liquor. Der Grund einer xanthochromen Verfärbung des Liquors kann unterschiedlicher Ursache sein (Hämoglobin, Bilirubin u.a.).**

3. Gerinnsel:

- 1 **Weiß-gelbliche Gerinnsel („Spinnwebgerinnsel“) werden in der Regel nur bei sehr starker Proteinvermehrung (größer 3000 mg/L) beobachtet, sie können durch Blutkontamination in abgestufter Form eine Rotfärbung aufweisen.**
- 2 **Starke artefizielle Blutkontaminationen zeigen massive Gerinnungszeichen.**

Zellzahl (31-33).

Indikation:

Die Zellzahl ist grundsätzlich in jedem Liquor zu bestimmen. Einen besonderen Stellenwert hat die Zellzahl u.a. für die Diagnostik und Verlaufskontrolle entzündlicher Erkrankungen, für die Diagnostik von intracerebralen Blutungen, primären und sekundären Tumoren sowie Infiltration bei hämatologischen

neoplastischen Erkrankungen. Die Zellzahl ist ein guter Indikator für die Therapiekontrolle von Erkrankungen des Nervensystems.

Methode:

1. Fuchs-Rosenthal-Zählkammer

Leukozyten- und Erythrozytenzählung nach Anfärbung mit Vitalfarbstoffen (z.B. Methyleneblau, Toluidinblau).

2. Fuchs-Rosenthal-Zählkammer

Zählung aller Zellen (Leukozyten/Erythrozyten) im Nativliquor. Zählung der Leukozyten nach Erythrozytenlyse (ungefärbt/gefärbt). Berechnung der Erythrozytenzahl.

3. Automaten (Hämatologie)

Die automatische Zählung der Liquorzellen ist insbesondere bei hohen Zellzahlen unter Verwendung geeigneter „offener“ Blutzell-Zählgeräte möglich.

Bei gleichem Zahlenwert werden folgende Einheiten für die Zellzahl verwendet: Zellen/ μL oder Mpt/L. Zellen/ μL hat sich international durchgesetzt (1) obwohl als SI-Einheit Mpt/L vorgeschlagen wurde. Die historisch durch die Benutzung der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer ($3\mu\text{L}$ Auszählvolumen) bedingte Angabe in $1/3$ Zellen ist auch in Deutschland inzwischen immer weniger gebräuchlich.

Referenzwertebereich:

Leukozyten: Erwachsene	(lumbal)	0	-	4/ μL
„	(subokzipital)	0	-	3/ μL
„	(ventrikulär)	0	-	1/ μL
Frühgeborene	(lumbal)	0	-	15/ μL
Neugeborene	(lumbal)	0	-	10/ μL
3 Mon.-15 Jahre	(lumbal)	0	-	5/ μL

Erythrozyten: Im Normalliquor nicht vorhanden.

Anmerkungen:

Nach 2-stündiger Lagerung der Liquorprobe bei Zimmertemperatur nimmt die Zellzahl durch Autolyse unkontrollierbar ab. Die Autolyse betrifft insbesondere die Granulozyten. Lymphozyten zeigen eine wesentlich größere Stabilität.

Vor Zellzählungen sind die Zellen sorgfältig (möglichst schonend) zu resuspendieren. Die Zellen adhären stärker an Glasmaterialien als an Polystyrol.

Beurteilung:

Bei artefiziell blutigen Liquorproben kann die Leukozytenzahl auf Grundlage der Erythrozytenzahl näherungsweise korrigiert werden (Subtraktion von $1/\mu\text{L}$ Leukozyten auf $1000/\mu\text{L}$ Erythrozyten). Artefizielle Blutkontamination wird durch einen Abfall der Erythrozytenzahl in der Reihenfolge der Portionen angezeigt (Differenz zwischen erster und letzter Probe). Bei einer Blutung in die Liquorräume ist dies nicht der Fall (Anstieg ist möglich). Erythrozyten mit Stechapfelform sind nicht beweisend für eine intracerebrale Blutung.

Zelldifferenzierung (66-68).

Indikation:

Die lichtmikroskopische Differenzierung der Liquorzellen nach morphologischen Kriterien ist unverzichtbarer Bestandteil des Grundprogramms der Liquordiagnostik und wird unabhängig von der jeweilig ermittelten Zellzahl durchgeführt.

Abnahmebedingungen:

Frischer Liquor cerebrospinalis wird nach erfolgter Zellzählung möglichst umgehend, spätestens jedoch nach 2 Stunden zur Anfertigung zytologischer Präparate eingesetzt.

Methode:

1. Sedimentkammer nach SAYK.
2. Zytozentrifugations-Technik (verschiedene Varianten).

Zur Differenzierung werden die liquorzytologischen Präparate der panoptischen Färbung nach Pappenheim (May-Grünwald/Giemsa) oder einer identischen Häma-Schnellfärbung unterzogen. Nach Erfordernis können unter Einsatz zusätzlicher Präparate weitere Spezialfärbungen durchgeführt (u.a. Berliner-Blau-Färbung/Hämosiderinnachweis; Methylblau- bzw. Gram-Färbung/Bakteriennachweis; Alcianblau-Färbung/Mykosen; Peroxidase, Esterase, saure Phosphatase, PAS/Charakterisierung von neoplastischen Zellen; PAS-Färbung/Morbus Whipple). Eine weitere Zellcharakterisierung erfolgt immunzytochemisch (u.a. aktivierte B-Lymphozyten/intrazelluläre Immunglobuline/polyspezifisch und monospezifisch; Zellphänotypisierung/neoplastische Zellen, Lymphozytensubpopulationen).

Referenzwertebereich:

Die Relativanteile der Liquorzellpopulationen im normalen Liquor werden durch verschiedene Zellpräparationstechniken unterschiedlich ausgewiesen. Auch die Vorbehandlung der Objektträger mit Polykationen beeinflusst das Differenzierungsergebnis. Im normalen Liquor finden sich Lymphozyten und Monozyten, gelegentlich Grenzflächenzellen (Ependym- und Plexuszellen). Die Referenzbereiche für Lymphozyten variieren in Abhängigkeit von der Zellpräparationstechnik zwischen 50 bis 90%, entsprechend für die Monozyten zwischen 10 bis 50%.

Anmerkungen:

Zur Aufbewahrung gefärbter Präparate sollten nur weitgehend inerte und zuverlässig säurefreie Einbettungsmedien benutzt werden.

Beurteilung:

Das Liquor-Differentialzellbild gibt in Abhängigkeit von Prozesslokalisierung und Erkrankungsstadium Auskunft über Art und Ausmaß einer ZNS-Schädigung bei oder nach Entzündung, Blutung, Trauma und Raumforderung, wobei im wesentlichen krankheitsunspezifische Befunde erhalten werden. Ausnahmen hiervon sind der Nachweis von Erythro- bzw. Hämosiderophagen nach Blutungen, von Bakterien und Bakteriophagen bei purulenten Meningitiden, von Tumorzellen bei primären und sekundären Hirntumoren sowie von Liquorzellen nach immunzytologischen Markeranalysen und der Nachweis von immunkompetenten Zellen mit erregerspezifischer Antikörperproduktion.

Erreger-Schnellnachweis

Indikation:

Diagnostische Eingrenzung der Genese akuter Meningitiden mit der Zielsetzung einer frühen und gezielten medikamentösen Therapie.

Abnahmebedingungen:

Liquorentnahme wie üblich, Einsatz der Methode nur sinnvoll bei sofortiger Durchführung.

Methode:

Latex-Agglutinations-Test; vorzentrifugierter oder nativer Liquor wird nach 3 min Erhitzen auf ca. 100°C, 5 min bei 3000 g zentrifugiert und der Überstand mit Latex-Suspensionen auf einer geeigneten Unterlage (Agglutinationskarte) gemischt und nach 10 min das Ergebnis abgelesen. Fa. Biomerieux, 1 mL Liquor zentrifugiert.

Referenzwertebereich:

Ausbleiben einer Agglutination im Vergleich mit einer Negativ-Kontrolle.

Anmerkungen:

Der Erreger-Schnelltest sollte nur durchgeführt werden, wenn eine ausreichende Liquormenge vorliegt und die Durchführung anderer aussagekräftiger Parameter nicht behindert wird. Seine Durchführung macht einen normalen mikrobiologischen Analysengang nicht überflüssig.

Beurteilung:

Mit allen kommerziellen Testkits werden in ähnlicher methodischer Weise lösliche Antigene der wichtigsten Erreger bakterieller Meningitiden nachgewiesen (*Neisseria meningitidis* A, B; *E coli* K1, C Y/W 135; *Haemophilus influenzae* Typ b; *Streptococcus pneumoniae*; *Streptococcus* Gruppe B). Agglutination mit einem der Latex-Reagenzien zeigt das entsprechende Antigen im Liquor an. Bei Agglutination mit 2 oder mehr Latex-Reagenzien oder mit einem entsprechenden Kontroll-Latex ist das Ergebnis nicht zu interpretieren.

Gesamtprotein im Liquor cerebrospinalis (31, 60).

Indikation:

Notfallprogramm, Basisprogramm, Plausibilitätskontrolle, Orientierung für Einzelproteinanalytik.

Methoden (quantitative Methoden kontrollpflichtig nach RiLiBÄK!):

Semiquantitativ:

Pandy-Reaktion wird vom Kliniker bei Entnahme durchgeführt. Entzellter Liquor (30 µL) zu Pandy-Reagenz (2mL) in schwarze Schale geben. Albumin- und Globulin-Vermehrung verursachen ein Präzipitat.

Quantitativ:

Coomassie-Blau G 250-Methode: 15 µL Liquor reagieren mit 250 µL Coomassie-Blau G 250-

Reagenz z.B. in Mikrotiterplatten und werden bei 570 nm gegen 405 nm im Behring ELISA Prozessor gemessen.

Pyrogallol-Rot-Methode: 20 µL Liquor reagieren mit 1,0 mL Pyrogallol-Rot-Reagenz unter Bildung eines Pyrogallol-Rot-Molybdat-Komplexes mit basischen Aminosäuregruppen von Proteinen mit Farbumschlag, der bei 600 nm gegen Reagenzien-Leerwert gemessen wird. Abzug von Probenleerwert bei farbigen Liquorproben!

Biuret-Methode: Diese Standardmethode der Serumproteinanalytik ist für Liquor zu unempfindlich und kann erst nach Konzentrieren des Liquors verwendet werden und ist deshalb nicht zu empfehlen.

Die Methoden nach Folin Ciocalteu und nach Lowry sind empfindlich genug für die Liquoranalytik.

TCA-Fällung: Die Proteinfällung mit Trichloressigsäure ist vor allem bei hohen TCA-Konzentrationen 20/40%ig vorteilhaft (keine Flockung). Mehrere Automaten arbeiten mit dieser Methode mit nephelometrischem oder turbidimetrischem Nachweis. Die Analyse des Streulichtmaximums ist der Zweipunkt- oder turbidimetrischen Endpunktanalyse überlegen.

Statistische Qualitätskontrolle

Maximal zulässige Abweichungen für quantitative Bestimmungen nach RiLiBÄK Nov. 2003:

Unpräzision: 8%, Unrichtigkeit: 11%, Abweichung Einzelwert: 27%

Zertifizierte Kontrollen in Liquormatrix mit 2 verschiedenen extern ermittelten, methoden-abhängigen Sollwertlagen vorgeschrieben, Verdünnen von Serumkontrollen nicht mehr zulässig

Referenzwertebereich:

Semiquantitativ:

Eine positive Pandy-Reaktion + bzw. ++ wird zwischen 0,5 - 1,0 g/L und 1,0 - >3,0 g/L Gesamtprotein erhalten.

Quantitativ:

Es werden als Maßeinheiten g/L, mg/L oder mg/dL verwendet.

Referenzbereichsgrenzen (Methoden-abhängig!)

Lumbaler Liquor: 200 - 500 mg/L; cisternaler (subokzipital-) Liquor: 130 - 270 mg/L und für Ventrikel-Liquor: 50 - 180 mg/L.

Beurteilung:

Erhöhte Gesamtproteinwerte können zustandekommen durch: Störung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion, intrathekale Synthese, Blutung in die Liquorräume oder artefizielle Blutbeimengung. Der Albumin-Liquor/Serumquotient ist besser geeignet für eine altersabhängige Beurteilung der Schrankenfunktion.

L-Lactat (31-32).

Indikation:

Akute Entzündungen im ZNS / DD: bakteriell / viral / tuberkulös. Diagnose einer postoperativen Infektion (Neurochirurgie). Nachweis eines anaeroben Glucosestoffwechsels auch bei Hypoxie, Blutungen oder Tumorbefall.

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Liquor (0,1 mL nicht entzellt) ohne Zusatz von Glykolysehemmern analysierbar. Blutuntersuchung entfällt.

Methode (kontrollpflichtig nach RiLiBÄK!):

Enzymatischer, optischer Test.

Maximal zulässige Abweichungen nach RiLiBÄK Nov.2003:

Unpräzision 7%, Unrichtigkeit 9%, Abweichung Einzelwert: 23%

Zertifizierte Kontrollen in Liquormatrix mit 2 verschiedenen, extern ermittelten Sollwertlagen vorgeschrieben!

Referenzwertebereich:

(Einheiten-Umrechnung: 1mmol/L = 9 mg/dL).

Lumbal-Liquor: 0,5 bis 15 Jahre: 1,1 - 1,8 mmol/L
 16 bis 50 Jahre: 1,5 - 2,1 mmol/L
 51 bis 75 Jahre: 1,7 - 2,6 mmol/L

Ventrikel-Liquor (Erwachsene): < 3,4 mmol/L

Anmerkungen:

Bei Pleozytosen bis 6000/ μ L Leukozyten und Erythrozyten bis 30000/ μ L soll die Lactatkonzentration bei 25°C ohne Fluorid-Zusatz bis zu 3 h stabil sein. Entzellte Liquorproben haben jedoch z.T. niedrigere Werte als unentzellte native Proben, Fluorid-Zusatz daher sicherer.

Beurteilung:

Bei mittelgradiger Pleozytose ist ein erhöhter Lactatwert immer noch eine Hilfe zur Charakterisierung eines bakteriellen Prozesses, insbesondere bei Tuberkulose in Kombination mit einem charakteristischen Proteinmuster. Erhöhte Lactatkonzentrationen kommen auch bei anaerobem Glucosestoffwechsel durch Hypoxie, Blutungen und Tumorbefall vor (31, 32).

Albumin und Immunglobulin G in Liquor und Serum (59-61).

Indikation:

Grundprogramm der Liquordiagnostik zur Identifikation einer Blut-Liquor Schrankenfunktionsstörung, einer intrathekalen IgG-Synthese und zur Berechnung einer spezifischen intrathekalen Antikörpersynthese.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

0,5 ml Liquor und Serum, bei 4°C mindestens 1 Woche stabil, Einfrieren für IgG problematisch

Methoden (kontrollpflichtig nach RiLiBÄK!):

Immunchemische Nephelometrie auf Nephelometerautomaten. Turbidimetrische Verfahren sind bis auf wenige Ausnahmen (IgG im Liquor von Kindern) ebenfalls empfindlich genug.

Selten sind noch die Rocket-Elektrophorese oder die Immundiffusion (Mancini-Technik) gebräuchlich. Liquor- und Serumproben (verdünnt) sollen im selben analytischen Lauf auf denselben Standard bezogen analysiert werden. Damit stellen die Liquor/Serumquotienten auch Methoden-unabhängige Werte dar.

Qualitätskontrolle:

Maximal zulässige Abweichungen für Einzelwerte im Liquor nach RiLiBÄK Nov. 2003:

Albumin: Unpräzision: 8%, Unrichtigkeit: 11%, Abweichung Einzelwert: 27%

IgG: Unpräzision: 7%. Unrichtigkeit: 10%, Abweichung Einzelwert: 24%

Empfehlung der DGLN für maximal zulässige Abweichungen der IgG- und Albuminquotienten:

Unpräzision: 10 %, Unrichtigkeit: 10 %, Abweichung des Einzelquotienten: 30 %

Zertifizierte Kontrollen in Liquormatrix mit 2 verschiedenen, extern ermittelten methoden-abhängigen Sollwertlagen vorgeschrieben; Verdünnung von Serumkontrollen nicht mehr zulässig!

Referenzwertebereich:

Albumin- und IgG-Konzentrationen im Liquor hängen von der Höhe der jeweiligen Serumkonzentrationen und der individuellen Blut-Liquor Schrankenfunktion des Patienten ab. Eine klinisch relevante Auswertung sollte stets über Liquor/Serum-Quotienten durchgeführt werden:

Der Albuminquotient ist altersabhängig zu bewerten. Für Ventrikel- oder cisternalen Liquor gelten als Referenzbereich entsprechend niedrigere Werte. Ein normaler IgG-Quotient liegt unterhalb der hyperbolischen Diskriminierungslinie, die graphisch (Quotientendiagramm) oder numerisch definiert ist. Werte von Q_{IgG} die größer sind als diese Funktion sind Ausdruck einer intrathekalen Synthese. Das Ausmaß der intrathekalen IgG-Synthese ist als intrathekale Fraktion berechenbar oder im Quotientendiagramm ablesbar. Werte von $IgG_{IF} < 10\%$ werden nicht als Synthese angegeben.

Anmerkungen:

IgG Liquor/Serum Quotienten, die größer als der Albumin Liquor/Serum Quotient sind weisen, Ausschluss von Fehlern vorausgesetzt, grundsätzlich auf eine intrathekale IgG-Synthese hin. Bei $Q_{IgG} < Q_{Alb}$ sollten die Proben bei entsprechender Fragestellung (z.B. MS) mit der isoelektrischen Fokussierung auf oligoklonales IgG überprüft werden, ferner ggf. auch zur Plausibilitätsprüfung bei $Q_{IgG} > Q_{Alb}$. Diese Methode ist aus systematischen Gründen empfindlicher als die statistisch begründete Quotientendarstellung.

Beurteilung:

Eine intrathekale IgG-Synthese ist immer als pathologisch zu bezeichnen. Die klinische Relevanz (Akuität) ist aber nur mit anderen Parametern zusammen beurteilbar: Intrathekale Immunreaktionen klingen sehr langsam (über Jahre bis Jahrzehnte) ab und sind noch lange nach Heilung oder Abklingen der klinischen Symptome nachweisbar (insbesondere als oligoklonales IgG oder erhöhter Antikörper-Index). Ein erhöhter Albuminquotient ist neben der Zellzahl als ein Zeichen der Akuität des Prozesses interpretierbar.

IgA- und IgM in Liquor und Serum (59-61).

Indikation:

Ergänzung zum Grundprogramm zur Differentialdiagnose vor allem akut-entzündlicher neurologischer Erkrankungen.

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Wie für Albumin und IgG. Je nach Analysenmethode kann die IgA- und insbesondere IgM-Bestimmung in Liquor älter als 1 Woche oder nach Einfrieren beeinträchtigt sein, diese Problematik ist beim Enzymimmunoassay nicht gegeben.

Methoden (kontrollpflichtig nach RiLiBÄK!):

Enzymimmunoassay auf Mikrotiterplatten; Latex-verstärkter, immunchemisch-nephelometrischer Nachweis; immunchemisch-nephelometrische Endpunktbestimmung. Turbidimetrische Verfahren und Immundiffusion sind meist nicht empfindlich genug.

Qualitätskontrolle:

Maximal zulässige Abweichungen für Einzelwerte im Liquor nach RiLiBÄK Nov. 2003:

IgA: Unpräzision: 10%, Unrichtigkeit: 12%, Abweichung Einzelwert: 32%

IgM: Unpräzision: 9%, Unrichtigkeit: 13%, Abweichung Einzelwert: 31%

Empfehlung der DGLN für maximal zulässige Abweichung der IgA- und IgM-Quotienten:

Unpräzision: 10%, Unrichtigkeit: 10%, Abweichung Einzelquotient: 30%

Zertifizierte Kontrollen in Liquormatrix mit 2 verschiedenen, extern ermittelten, methoden-abhängigen Sollwertlagen vorgeschrieben; Verdünnung von Serumkontrollen nicht mehr zulässig!

Referenzwertebereich:

Normalerweise keine lokale Synthese. Eine Bewertung von IgA- und IgM-Werten im Liquor sollte ausschließlich über die Liquor/Serum Quotienten unter Bezug auf den individuellen Albuminquotienten durchgeführt werden. Eine unmittelbare Darstellung der IgA- und IgM-Synthese ist in den Quotientendiagrammen möglich. Die intrathekal synthetisierten IgA- oder IgM-Fractionen sind als Prozent der Liquor-Gesamtkonzentration an IgA- oder IgM dargestellt. Diese intrathekalen Fractionen IgA_{IF} und IgM_{IF} können auch numerisch ausgedrückt werden.

Anmerkungen:

Werte von IgA_{IF} oder IgM_{IF} < 10% werden nicht als Synthese angegeben.

Eine artefizielle Blutbeimengung kann bei niedrigem Albuminquotienten leicht eine IgM-Synthese oder auch IgA- Synthese vortäuschen.

Beurteilung:

Durch Vergleich der intrathekalen Fraktionen von IgG, IgA und IgM ergeben sich krankheitsspezifische Muster mit unterschiedlicher Häufigkeit eines der drei Parameter (61).

Besonders hervorzuheben ist die IgM-Dominanz bei Neuroborreliose oder die IgA-Dominanz bei Neurotuberkulose oder Hirnabszessen.

Oligoklonales IgG (1, 21, 29, 78).**Indikation:**

Empfindlicher Nachweis einer intrathekalen IgG Synthese. Grundprogramm der Liquordiagnostik. Nachweis/Ausschluss einer intrathekalen IgG Synthese mit isoelektrischer Fokussierung (IEF) ist Bestandteil der Diagnosekriterien bei Multipler Sklerose.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

Liquor und Serum (simultan entnommen) bis zu einer Woche im Kühlschrank aufbewahrbar. Zur längeren Lagerung bei -20 bis -70°C einfrieren. Postversand ist möglich.

Methode:

Es besteht ein internationaler Konsens (1), dass die isoelektrische Fokussierung die höchste Empfindlichkeit für den Nachweis oligoklonaler Banden besitzt. Die IEF wird sowohl im Makro- (78) als auch im Mikromaßstab (21) durchgeführt. Weitere Unterschiede bestehen bei der Detektion der oligoklonalen Banden: A) Detektion mit allgemeiner Proteinfärbung, z.B. Coomassiefärbung (nach Anreicherung) oder Silberfärbung (unkonzentrierter Liquor);

B) Detektion durch spezifischen IgG Nachweis, z.B. Immunfixation (21) oder Immunoblotting (29). Bei allen Methoden müssen Liquor- und Serumproben auf gleichen IgG-Gehalt eingestellt und im gleichen Gel nebeneinander analysiert werden.

Referenzwertebereich:

Keine oligoklonalen Banden im Liquor, die nicht auch im Serum nachweisbar sind.

Anmerkungen:

Obwohl Hämoglobin bei der allgemeinen Proteinfärbung durch die ausschließliche Lage bei pH 7 - 7,5 und die ungewöhnliche Breite der Banden unschwer von den viel schärferen und überwiegend im stärker alkalischen Bereich lokalisierten oligoklonalen IgG Banden abzugrenzen ist, empfiehlt es sich doch in jedem Fall, die Anwesenheit von Hämoglobin mittels Teststreifen zu überprüfen. Für Proteinfärbungen wird man mindestens zwei Banden nur im CSF fordern, um die mögliche Miterfassung eines basischen Nicht-IgG Proteins zu vermeiden. Aber auch bei der Immundetektion von IgG werden überwiegend 2-3 Banden zugrunde gelegt, um schwache, klinisch meist nicht relevante, Immunreaktionen auszuschließen. Im Einzelfall kann jedoch auch eine einzelne (deutliche) Bande von Bedeutung sein.

Beurteilung:

Europäischer Konsens (1):

Typ 1: Normaler Befund (polyklonal)

Typ 2: Oligoklonale Banden im Liquor

Typ 3: Oligoklonale Banden im Liquor, zusätzlich identische Banden in Liquor und Serum

Typ 4: Identische oligoklonale Banden in Liquor und Serum

Typ 5: Monoklonale Banden in Liquor und Serum; IgG Paraprotein

Der Nachweis oligoklonalen IgGs ist sehr empfindlich (1-3% oligoklonales IgG im CSF Gesamt-IgG) aber diagnostisch unspezifisch. Oligoklonale Banden werden bei akut entzündlichen Prozessen erst nach einigen Tagen mit Beginn der humoralen Immunreaktion nachweisbar, können aber auch noch Jahre nach einem hinreichend behandelten oder ausgeheilten neuroimmunologischen Prozess nachgewiesen werden. Die große Häufigkeit des Nachweises oligoklonaler Banden bei Multipler Sklerose (hohe klinische Sensitivität mit 95-98%) bedingt die Bedeutung dieser Methode für die Diagnostik der MS. Prospektive Studien bei einer Opticus Neuritis zeigen, dass der Nachweis oligoklonalen IgGs eine hohe prognostische Bedeutung hat. Nur in sehr seltenen Fällen kann der initiale Liquor noch keine Banden aufweisen.

II. Spezialuntersuchungen mit gesicherter bzw. ergänzender diagnostischer Bedeutung

Immunzytologie maligner Zellen (Liquor) (10, 35, 37, 76)

Indikation:

Ergänzende Methode zur morphologischen Beurteilung bei:

unbekanntem Primärtumor oder morphologisch zweideutigem Befund, sowie zur

DD lymphozytäre Entzündung/niedrig-malignes Lymphom.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

Einige mL blutfreier Liquor (ca. 5000 Zellen pro Ansatz); Zellen innerhalb 2 Stunden präparieren.

Alternativ Versand von Aceton-fixierten und luftgetrockneten Präparaten an Speziallaboratorien.

Methode:

Immunfluoreszenz bzw. Peroxidase- oder APAP-Markierung auf Adhäsionsobjektträgern, bei hoher Zellzahl auch Durchflusszytometrie. Antikörper: siehe Anmerkung.

Referenzwertebereich:

Keine malignen Zellen nachweisbar.

Anmerkungen:

Auswahl der Antikörper abhängig von Anamnese, morphologischem Befund und verfügbarer Zellzahl.

Cave: Verschleppung von Epithelien (z.B. Haut) oder leukämischer Zellen aus Blut.

Karzinome: Cytokeratine, CEA, EMA, NSE, Thyreoglobulin, PSA, Melanom: HMB 45, S-100.

Leukämien und Lymphome: allgemein TdT, CD34,

T-Zell-assoziiert: CD1a, CD2, CD5, CD3, CD4, CD8, CD7,

B-Zell-assoziiert: CD19, CD20, CD10, CD22, CD5, CD23, IgM, Kappa, Lambda.

Myeloisch: CD117, CD13, CD14, CD33, CD64, CD65s, MPO, Lysozym

Primäre Hirntumoren: Vimentin, GFAP, Neurofilament (jedoch selten Liquoraussaat).

CD45 als Pan-Leukozyten-Antigen zur Unterscheidung von Nicht-Leukozyten

Beurteilung:

Nachweis atypischer epithelialer Zellen dringend karzinomverdächtig. Bei Lymphom- oder Leukämiezellen muss der entsprechende monoklonale oder unreife Immunphänotyp nachgewiesen werden; cave: verschleppte Epithelien oder oligoklonale Reaktionen mit Leichtkettenverschiebung.

B-Zell-Lymphome (insgesamt häufiger):

Nachweis der Monoklonalität durch Leichtkettenrestriktion, evtl. Coexpression von CD5 und/oder CD10, ggf. weitere Antigene nach Immunphänotyp der Primärerkrankung.

T-Zell-Lymphome:

Hochmaligne: Unreifer Immunphänotyp mit Fehlen mancher Antigene reifer T-Zellen, ggf. Coexpression von CD1a sowie CD4 und CD8 oder Restriktion auf CD4 oder CD8.

Niedrigmaligne: Abgrenzung gegenüber Reizpleozytose kann problematisch sein. Restriktion auf CD4 oder CD8, einzelne Antigene können fehlen.

CDR3 spezifische Analyse der B-Zellklonalität

Indikation:

Methode zur Differenzierung einer monoklonalen neoplastischen von einer reaktiv entzündlichen B-Zellantwort im Liquor. Sie basiert auf der PCR-basierten Fragmentanalyse der innerhalb des für die Schwereketten von Immunglobulinen kodierenden Genlokus gelegenen CDR3 Region, die nach selektiver somatischer Rekombination während der B-Zellontogenese in jedem einzelnen B-Lymphozyten hinsichtlich ihrer Länge und Nukleotidsequenz differiert. Die CDR3 spezifische Klonalitätsanalyse ergänzt die Diagnostik von primären und sekundären Non Hodgkin Lymphomen des ZNS, die überwiegend B-Zell-Lymphome darstellen. Sie hat insbesondere dann einen Stellenwert, wenn nach zytomorphologischen Kriterien eine Differenzierung zwischen neoplastisch entarteten und reaktiv transformierten Lymphozyten nicht zweifelsfrei gelingt bzw. die immunphänotypische Charakterisierung

der Liquorzellen bei Liquorproben mit geringer Gesamtzellzahl und niedrigem Anteil morphologisch suspekter Zellen limitiert ist.

Präanalytik:

1-2 ml nativer Liquor, Verwendung der aus den sedimentierten Liquorzellen extrahierten Gesamt-DNA für die PCR-basierte Fragmentanalyse.

Methode:

Amplifikation der CDR3 Zielsequenz unter Verwendung Fluoreszenz-markierter CDR3 Konsensus-Primer und anschließende Separation der Amplifikate durch hochauflösende Kapillarelektrophorese in einer automatischen Sequenzierapparatur. Darstellung der Fragmente als Peak(s) definierter Länge in einem Elektropherogramm. In ausgewählten Fällen Anwendung der CDR3 spezifischen Klonalitätsanalyse auf Einzelzell-Ebene.

Referenzwertebereich:

Entzündlich reaktiv transformierte B-Lymphozyten expandieren von B-Zellen unterschiedlicher klonaler Herkunft und haben variable CDR3-Regionen. Während der PCR-Reaktion entstehen Amplifikate unterschiedlicher Länge, die sich im Elektropherogramm als polyklonales Fragmentmuster darstellen. Ist im Liquor eine neoplastische B-Zellpopulation vorhanden, haben alle B-Zellen eine identische CDR3-Region, sodass nur ein einzelnes monoklonales, seltener, in 20-30%, auch ein biklonales Fragment generiert wird.

Anmerkungen und Beurteilung:

- Bei Patienten mit systemischen B-Zell-Malignomen und Leukämien mit klinischem und/oder liquorzytologischem Verdacht auf eine meningeale Beteiligung Detektion eines monoklonalen oder biklonalen Fragmentmusters in ca. 60% der Fälle. Bei Wertung von Proben, bei denen ein prominenter peak auf einem oligoklonalen Hintergrund in der Fragmentanalyse generiert wird (Hinweis auf eine Überrepräsentation eines einzelnen B-Zell-Klones bei leichter unspezifischer reaktiver B-Zell-Aktivierung) positives Ergebnis in ca. 80% der Fälle.
- Bei primären ZNS-Lymphomen Nachweis einer B-Zell-Mono- oder Biklonalität im Liquor in ca. 40% der Fälle. Bei HIV-infizierten oder aus anderen Gründen immundefizienten Patienten mit ZNS-Lymphom spielt eine EBV-Infektion in der Pathogenese des Lymphoms eine entscheidende Rolle. Diese Lymphome sind daher meist polyklonal und die Klonalitätsbestimmung kann keinen entscheidenden diagnostischen Beitrag leisten zur Unterscheidung einer ZNS-Infektion von einem ZNS-Lymphom.
- Bei erregerbedingten Infektionen, Vaskulitiden und akuten oder chronischen Demyelinisierungserkrankungen des ZNS fast ausschließlich oligo- oder polyklonales Muster und somit differentialdiagnostische Abgrenzung dieser Erkrankungen zum ZNS-Lymphom.
- **Beachte:** Monoklonalität ist kein Malignitätsmarker per se. Sie kann vorgetäuscht werden bei abklingenden Infektionen oder bei sehr niedriger Zellzahl. In diesen Fällen ist jedoch die Monoklonalität in mehreren unabhängigen PCR-Reaktionen nicht reproduzierbar. Daher können falsch positive

Reaktionen fast immer identifiziert werden, sofern man für die Auswertung die Ergebnisse von mindestens 3 unabhängigen Reaktionen heranzieht.

Aktivierter B-Lymphozyten (62, 72).

Indikation:

Nachweis eines immunologisch aktiven Prozesses im ZNS bei niedriger Zellzahl. Die Methode hat Aussagekraft für die Diagnose entzündlicher Erkrankungen (chronisch und akut) im ZNS. Bei viralen und bakteriellen Meningitiden können aktivierte B-Lymphozyten trotz niedriger Zellzahlen bereits in den ersten Tagen nach Auftreten neurologischer Symptome gefunden werden. Differenzierung nach IgG-, IgA- und IgM-Klassen als differentialdiagnostische Hilfe (72).

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Relativ frischer Liquor mit intakten Zellen. Innerhalb 2 Stunden nach Entnahme Präparat herstellen.

Methodik:

Die Zellen des Liquors werden durch Zytozentrifugation angereichert, dann luftgetrocknet und in Methanol fixiert. Die Objektträger werden dann jeweils 30 Minuten in eine Carrageenanlösung getaucht, in der sich mit alkalischer Phosphatase konjugierte Antikörper befinden. Die enzymatische Farbreaktion mit Astraneufuchsin nach Naphtol AS-BI Phosphat ergibt eine rötliche Zytoplasmafarbe der positiven Zellen gegenüber der blauen Kernfärbung mit Hämalaun. Unspezifische Kreuzreaktionen mit Oberfläche nimmunglobulinen werden durch die Verwendung von Methanol als Fixierungsmittel sowie durch Triton X100 in der Antikörperlösung vermieden. Zum Nachweis von intrazytoplasmatischen Immunglobulinen werden mit alkalischer Phosphatase konjugierte F(ab)₂ Fragmente von IgG-Antikörpern der Ziege gegen menschliches Immunglobulin G, A oder M verwendet. Somit kann keine unspezifische Bindung an Fc-Rezeptoren erfolgen.

Referenzwertebereiche:

Als aktivierte B-Zellen werden nur diejenigen Zellen bezeichnet, die eine homogene rote Färbung des Zytoplasmas zeigen. Eine nur randständige Färbung der Zellen ist nicht ausreichend. Als pathologischer Grenzwert werden 0,1% aktivierte B-Zellen der Gesamtlymphozytenzahl festgestellt.

Anmerkungen:

Als aktivierte B-Lymphozyten werden B-Lymphozyten bezeichnet, bei denen ein immunzytochemischer Nachweis von intrazytoplasmatischen Immunglobulinen gelingt. Geringe Mengen von intrazytoplasmatischen Immunglobulinen lassen sich in allen Stadien der B-Lymphozyten nachweisen. Signifikante, immunzytochemisch nachweisbare Mengen werden jedoch erst in Zellen gefunden, die durch Antigenkontakt und/oder dem Zusammenspiel von Lymphokinen aktiviert wurden. Der Nachweis dieser Zellen im Liquor deutet somit auf einen immunologisch aktiven Prozess im Bereich des ZNS hin.

Beurteilung:

Die höchsten Werte aktivierter B-Lymphozyten wurden mit bis zu 25% bei Patienten mit Neuroborreliose gefunden. In der Regel steigt hierbei die Anzahl der aktivierten B-Lymphozyten in der ersten Woche an, um dann langsam im Laufe von 10 bis 14 Tagen nach Beginn wieder abzufallen. Persistieren hohe Werte über die Dauer von 3 Wochen, so handelt es sich meist um schwere klinische Verläufe. Bei Patienten mit HIV-Infektionen können aktivierte B-Zellen eine entzündliche Beteiligung des ZNS schon im Krankheitsstadium Walter Reed I zeigen. Die Differenzierung nach IgG, IgA und IgM in positive Zellen erlaubt eine Zuordnung zu bestimmten Krankheitsgruppen. So finden sich häufig bei der Borrelien-induzierten Meningopolyneuritis Bannwarth alle drei Klassen positiv mit Dominanz der IgM-Klasse (72). IgG- und IgA-positive Zellen dominieren bei bakteriellen und viralen Meningitiden. Bei der Multiplen Sklerose finden sich meist IgG-positive Zellen. Bei primär nicht entzündlichen Erkrankungen des ZNS können aktivierte B-Lymphozyten bei neoplastischen Erkrankungen, wie Glioblastoma multiforme oder zerebralen Lymphomen, gefunden werden. Nicht gefunden werden sie bei Reizpleozytosen.

Lymphozytensubpopulationen bei lymphozytärer Liquorpleozytose (35, 37, 46).

Indikation:

DD Entzündung/niedrig maligne Lymphome mit ZNS-Befall. Charakterisierung der zellulären Immunantwort.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

Mehrere mL Liquor (5000 Zellen pro Testansatz). Zellpräparation innerhalb von 2 Stunden.

Methode:

Durchflusszytometrie, bei niedrigen Zellzahlen auch Objektträger-Technik (Immunfluoreszenz oder Immunzytochemie/Peroxydase- bzw. Phosphatase-gekoppelte Antikörper).

Referenzwertebereich
für Durchflusszytometrie (35), s. unten.

Anmerkungen:

Gesicherte Bedeutung für den Ausschluss bzw. Bestätigung von Lymphomzellinfiltration, Relevanz für die Differentialdiagnose von ZNS-Entzündungen noch unsicher.

Beurteilung:

Monoklonale oder unreife Lymphozyten sind Lymphom-verdächtig (s.a. Immunzytologie maligner Zellen). HIV-Enzephalitis: vermindertes CD4/CD8-Verhältnis. Autoimmunerkrankungen: vermehrt HLA-DR⁺, CD3⁺-T-Zellen oder CD5⁺-B-Zellen.

Liquorzellcharakterisierung mit Durchflusszytometrie (34, 35)

Indikation:

Zellulärer Immunstatus bei Entzündungen, Autoimmunerkrankungen und lymphoproliferativen Erkrankungen des ZNS.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

Frischer Liquor cerebrospinalis z.B. 3 - 5 mL Lumbal-Liquor. Lagerung bei Zimmertemperatur 1 bis 2 Stunden, in Eis nicht länger als 5 - 6 Stunden. Venöses EDTA-Vollblut (1 bis 2 mL), unmittelbar vor oder nach Liquorpunktion entnommen; Lagerung bei Zimmertemperatur nicht länger als 6 Stunden.

Methode:

Durchflusszytometrie mit Liquorproben: mit 100 µL frischem nativen Liquor bei Zellzahlen > 10/µL Leukozyten oder mit 50µL Liquorzellsuspension vom 200 xg Sediment frischer Liquorproben bei Zellzahlen < 10 Leukozyten/µL. 3-fache Zellmarkierung mit Fluoreszenz-Isothiocyanat-(FITC) und Phycoerythrin-(PE-) konjugierten monoklonalen Antikörpern (FL1,2) sowie mit LDS-751 (Nukleinsäurefärbung) (FL3). Analyse im Durchflusszytometer mittels Vorwärtsstreulicht (FSC), Seitwärtsstreulicht (SSC) und Fluoreszenz 1 (FL1, 515-545 nm), Fluoreszenz 2 (FL2, 564-606 nm), Fluoreszenz 3 (FL3, > 650nm).

Durchflusszytometrie von Blutproben: mit 50 bis 100 µL Vollblut; Doppelmarkierung mit FITS- und PE-markierten monoklonalen Antikörperreagenzien, Analyse nach Lysierung der Erythrozyten mit Lysereagenzien.

Referenzwertebereich (35):

T-Zellen (CD3⁺) 83 - 98%; T-Zellen (CD4/CD8-Ratio): 1,8 - 5,5; T-Helfer-Zellen (CD4⁺ CD3⁺): 52 - 82%; Zytotoxische T-Zellen (CD8⁺ CD3⁺): 13 - 35%; NK-Zellen (CD16⁺ CD56⁺ CD3⁻): 2 - 9%; Aktivierte (HLA-DR⁺, CD3⁺)-T-Zellen: 1 - 5%, Gesamt-B-Zellen (CD19⁺): 0 - 3%; davon (CD5⁺) B-Zellen: 0 - 20% der Gesamt B-Zellen. Keine monoklonalen oder unreifen Zellen nachweisbar.

Anmerkungen:

Vergleichende Untersuchungen in Liquor- und Blutproben erscheinen notwendig, da ein Blut-Liquor Zellgradient für Lymphozyten besteht und alle Lymphozyten im Liquor aus dem Blut stammen. Das Verhältnis CD4⁺/CD3⁺ ist abhängig von der Reinheit der verwendeten Antikörper. In älteren Liquorproben nimmt die Zahl abgestorbener Lymphozyten zu.

Erregerspezifische Antikörper im Liquor und Serum (IgG-Klasse, ggf. auch IgM oder IgA) (16, 58).

Indikation:

Charakterisierung akuter Erkrankungen (Herpes-Virus und Zoster-Erkrankungen, opportunistische Infektionen und Borreliose) und Nachweis eines chronisch-entzündlichen Prozesses im ZNS (Multiple Sklerose, Autoimmunerkrankungen mit ZNS-Beteiligung, Opticus - Neuritis).

Methode:

Enzymimmunoassay auf Mikrotiterplatten. Je 2 Liquor- und Serumwerte werden synchron auf derselben Platte in entsprechender Verdünnung zusammen mit einer Standard-Verdünnungsreihe gemessen. Auswertung der willkürlichen Konzentrationseinheiten als spezifische Liquor/Serum-Quotienten, die auf QIgG oder auf den oberen Grenzwert (Q_{Lim}) des Referenzbereiches bezogen werden. Zumindest bei Borrelien ist wegen höherer Sensitivität auch die Bestimmung des IgM-AI, für VZV des IgA-AI empfehlenswert.

Referenzwertebereich:

AI-Werte zwischen 0,7 bis 1,3 sind normal. Klinisch definiert sind Werte $AI > 1,5$ als pathologisch zu bezeichnen. Werte $< 0,6$ sind theoretisch nicht zu erwarten, kommen aber in der Routine gelegentlich dennoch vor: Keine pathologische Bedeutung; jedoch Fehlersuche empfehlenswert.

Anmerkungen:

Auf die Verdünnungsechtheit im Testsystem ist besonders zu achten. Bei Proben von Patienten mit Autoimmunerkrankungen kann auf Kontrollantigen auf der Mikrotiterplatte nicht verzichtet werden. Ersatzweise muss die Verdünnungsechtheit überprüft werden.

Zur Beurteilung von erregerspezifischen Antikörpern sollten mindestens zwei verschiedene Parameter bestimmt werden, um eine entsprechende Qualitätskontrolle zu haben und auch um die Sensitivität bei grenzwertigen Befunden zu erhöhen.

Beurteilung:

Ein erhöhter Antikörper-Index bedeutet immer eine intrathekale Synthese, wobei eine Kreuz-reaktivität dabei nicht grundsätzlich ausgeschlossen ist, so dass z.B. eine gemessene intrathekale Borrelien-Antikörpersynthese auch einem erhöhten TPHA-AI-Wert entsprechen kann.

Chronisch-entzündlicher Prozess im ZNS: Bei Multipler Sklerose oder Autoimmunerkrankungen mit ZNS-Beteiligung wird mit bis zu 94% Häufigkeit eine intrathekale Synthese von Masern- und/oder Röteln- und/oder Zoster-Antikörpern gefunden, die bislang für andere chronische Erkrankungen des ZNS nicht berichtet wurde.

Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäuren mittels Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT, z.B.PCR, 3,5,6,8,54)

Indikation:

Nukleinsäure-Amplifikations-Techniken (NAT) sind Methoden zum direkten Erregernachweis. Sie basieren auf der selektiven und automatisierten Vervielfältigung Pathogen-spezifischer Genomabschnitte und kommen in der Liquoranalytik zur Anwendung bei V.a:

Virale Infektionen (hohe diagnostische Aussagekraft): Herpes simplex Virus Enzephalitis (HSV-1, Sensitivität $\geq 95\%$), Mollaret Meningitis (HSV-2, Sensitivität ca. 85%), Varizella Zoster Virus (VZV)- und Epstein Barr Virus (EBV)-Infektionen, einschließlich AIDS - assoziierte primär zerebrale Non Hodgkin Lymphome (Sensitivität 75-90%), Zytomegalievirus Enzephalitis (CMV, Sensitivität 80-90%), progressive multifokale Leukoenzephalopathie (JC-Virus, Sensitivität 75-90%), Enterovirusmeningitis (Sensitivität 90%), HIV-1 Infektion des Nervensystems

2. Bakterielle und parasitäre Infektionen (ergänzende diagnostische Aussagekraft): Tuberkulöse Meningitis (*Mycobacterium tuberculosis*, Sensitivität 50-90%), Neuroborreliose (*Borrelia burgdorferi*, Sensitivität $< 50-85\%$), bakterielle Meningitis bei antibiotischer Vorbehandlung (Sensitivität 85-95%), Morbus Whipple (*Tropheryma whippelii*, Sensitivität 70-80%), zerebrale Toxoplasmose (*Toxoplasma gondii*, Sensitivität ca. 50%)

Präanalytik:

1-2 ml nativer Liquor, 3-5 ml für TB-Analytik, bei langen Transportwegen Lagerung bei 4°C.

Methoden:

Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum qualitativen Nachweis von DNA-Viren (HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, CMV, JCV) sowie bakterieller und parasitärer DNA (*Mykobakterien*, *Borrelien*, *Tropheryma whippelii*, *Toxoplasma gondii*)

Reverse Transkriptase PCR (RT-PCR) zum qualitativen Nachweis von RNA-Viren (Enteroviren, HIV-1, HIV-2) sowie seltener und bei speziellen Indikationen

Multiplex-PCR zur simultanen Detektion bzw. Differenzierung viraler Erreger bzw. Differenzierung zerebraler Rundherde (z.B. bei AIDS Patienten EBV-assoziiertes primäres Non Hodgkin Lymphom versus zerebrale Toxoplasmose; Differenzierung HSV1/HSV2/VZV)

Real-time PCR wegen Geschwindigkeit des Nachweises vorzuziehen, wenn erforderlich.

NASBA (nucleic acid sequence based amplification) und bDNA (branched DNA) sind auch Technologien zur quantitativen Bestimmung der Erregermenge im Liquor.

Zu beachten ist die Kanzerogenität des für die Visualisierung der Amplifikate im Agarosegel erforderlichen Ethidiumbromid.

Referenzwertebereich und Beurteilung:

Der positive Nachweis Erreger-spezifischer Nukleinsäuresequenzen belegt in der Regel eine floride Infektion des Nervensystems. *T. whippelii* DNA findet sich auch im Liquor von neurologisch unauffälligen Patienten mit Morbus Whipple. Liquor von Patienten ohne ZNS-Infektion ist ansonsten steril.

Anmerkungen:

Voraussetzung für eine korrekte Interpretation von PCR-Befunden sind wegen der hohen Kontamination sanfälligkeit der Methode das Mitführen adäquater Positiv- und Negativkontrollen sowie zur Bestätigung der Spezifität des amplifizierten Materials die Hybridisierung des PCR-Produktes an eine DNA-Sonde mit Spezifität für die gesuchte mikrobielle Nukleinsäuresequenz oder die Nukleotidsequenz-Analyse der Amplifikate. Die Sensitivität der NAT-Testmethoden kann von Labor zu Labor variieren.

Identifikation von Liquor in Sekreten

1. β -2-(Tau)-Transferrin (2)

Indikation:

Nachweis von Liquor in Nasen-, Ohr oder Wundsekret (Liquorrhoe).

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Eine sichtbare Menge Nasen-, Ohr- oder Wundsekret (10-30 μ L) in geeignetem Gefäß (z.B. Eppendorfgefäß) luftdicht verschlossen versenden. Postversand nur mit Kühlung möglich. Paralleluntersuchung von Serum empfehlenswert, um abnorme Asialotransferrine z.B. bei Alkoholikern, Lebererkrankungen oder kongenitaler Glykosilierungsstörung zu erfassen

Methoden:

Nachweis von β -2-Transferrin (Asialotransferrin) (2): Immunfixationselektrophorese, evtl. auch isoelektrische Fokussierung.

Referenzwertebereich:

In Sekreten ohne Liquorbeimengung bei ansonsten Gesunden nur Serumtransferrin (glykosiliertes Transferrin) nachweisbar.

Anmerkungen:

Für β -2-Transferrin Analytik ist die Paralleluntersuchung von Patientenserum empfehlenswert, da Asialotransferrin auch im Serum insbesondere von Alkoholikern nachweisbar sein kann. β -2-Transferrin ist eine der im CDT (Carbohydrate deficient transferrin) enthaltenen Fraktionen.

Die früheren Untersuchungen von Glucose und Kalium als Screeningmethode sind heute obsolet.

Beurteilung:

Nachweis von Asialotransferrin in Sekreten, sofern nicht auch bereits im Serum vorhanden, gilt als beweisend für Liquorbeimengung.

2. β -Trace-Protein (Prostaglandin-D-Synthase, 2a, 15, 52a, 61a)

Indikation:

Nachweis einer Liquorrhoe

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

Wäßrige Sekrete aus Nase und Ohr bei entsprechender Anamnese, ggf. auch Wundsekret nach Op.;
Mindestmenge: 5 μ l

Methode:

Latex-verstärkte kinetische Nephelometrie 5 μ l Probe werden mit Verdünnungspuffer auf 500 μ l Gesamtvolumen verdünnt und sofort nephelometriert. Der Messbereich liegt zwischen 0,25 und 15,8 mg/l, die Nachweisgrenze bei 2,5 μ g/l.

Referenzwertebereich und klinisch definierte cut-off-Werte:

Untenstehende Tabelle zeigt die β -trace-Proteinkonzentrationen in verschiedenen Körper-flüssigkeiten Gesunder sowie von Sekreten von Patienten mit Liquorrhoe; die klinisch-relevanten cut-off-Werte werden, nicht identisch mit Referenzobergrenzen, kontrovers angegeben:

In einer Untersuchung an 140 Proben von Patienten mit klinischem Verdacht auf eine Liquorrhoe wurde die Sensitivität und Spezifität des Verfahres ermittelt. Als Referenzverfahren wurde die β -Trace-Bestimmung mit Hilfe eines Gel-Elektrophorese-Verfahrens, der sogenannten Rocket-Elektrophorese eingesetzt. Bei einer Spezifität von 100% hatte ein β -Trace-Wert von mindestens 6 mg/l eine Sensitivität von 92% für den Nachweis einer Liquorrhoe (52a).

In einer weiteren Untersuchung wurde ein Grenzwert von 1,31 mg/l evaluiert, der der 97,5% Perzentile der β -Trace-Werte im Nasensekret von 160 Probanden entsprach. Von 30 Patienten mit einer klinisch gesicherten Liquoristel hatten 28 einen β -Trace-Wert oberhalb des Grenzwertes von 1,31 mg/l. Die Spezifität wurde mit 100% angegeben (2a).

In einer dritten Untersuchung wird ein Grenzwert von 0,35 mg/l für den Nachweis einer Liquorrhoe vorgeschlagen (61a).

Eine Übersicht der bisher publizierten Ergebnisse zeigt die folgende Tabelle:

Autor	Serum	Liquor	Nasen-/ Ohrensekret	Liquorrhoe
Arrer 2002 (2a)	0,6 (0,12-1,44) n=116	19,6 (11,5-32,6) n=19	0,4 (0,22-1,69) n=160	-
Petereit 2001 (52a)	0,5 ± 0,2 n=34	11,1 ± 2,2 n=20	0,9 ± 1,1 n=107	16,9 ± 11,2 n=33
Reiber 2003 (61a)	0,6 (0,38-0,86) n=132	18,4 (9,4-29,2) n=132	0,016 (<0,003-0,12) n=29	2,4 (0,36-53,6) n=20

β -Trace-Protein in verschiedenen Körperflüssigkeiten und Sekret von klinisch gesicherter Liquorrhoe. Mittelwert \pm Standardabweichung in mg/l, Spannbreite in Klammern.

Anmerkungen:

Die Annahme eines Grenzwertes von 1,31 mg/l erscheint sicher im Sinne einer hohen Spezifität, d.h. die Zahl falsch positiver Labor-gestützter Diagnosen einer Liquorrhoe wird minimiert, wenngleich bei Annahme dieses Grenzwertes einige Serumproben und Sekrete fälschlicherweise als Liquorrhoe klassifiziert werden (siehe Tabelle). Insgesamt weist die Methode eine hohe Sensitivität auf. Liquorbeimengungen von 1-2% zu anderen Sekreten lassen sich nachweisen. Vorsicht ist bei Patienten mit einer verminderten glomerulären Filtrationsrate geboten, da in diesem Kollektiv die β -Trace-Werte im Serum erhöht sind, und so eine Liquorbeimengung vortäuschen können. Patienten mit einer eitrigen Meningitis weisen eine erniedrigte β -Trace-Konzentration im Liquor auf, so dass eine Liquorrhoe bei diesen Patienten unter Umständen dem Nachweis mittels β -Trace-Protein entgeht.

Beurteilung:

Die nephelometrische Bestimmung von β -Trace-Protein in wässrigen Sekreten, die verdächtig auf eine Liquorrhoe sind, ist ein schnelles, wenig aufwändiges und nicht invasives Verfahren zum Nachweis einer Liquorrhoe. Aufgrund des Risikos einer bakteriellen Meningitis bei Patienten mit einer unbehandelten Rhino- oder Otoliquorrhoe kommt dieser Untersuchung eine hohe klinische Relevanz zu. Da die bisher publizierten Referenz- und cut-off-werte je nach untersuchtem Kollektiv erheblich variieren (s.o.) bzw. überlappen, empfiehlt sich ggf. die Definition eines eigenen cut-off-Werts. Wenn, wie üblich, eine hohe Spezifität gefordert ist, kann der o.g. Wert von 1,31 mg/l als vorläufige Richtschnur dienen.

Neuronenspezifische Enolase (NSE) im Serum (65).

Indikation:

Vor allem in Neuronen enthalten, daher unspezifischer Indikator neuronaler Schädigungen
Prognose der kortikalen Hirnschädigungen nach Hypoxien, Hirnblutungen, SHT oder Hirninfarkten, ggf. auch Status epilepticus und Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (siehe v.a.: Best. im Liquor), daneben tumorassoziertes Antigen v.a. beim kleinzelligen Bronchialkarzinom.

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Hämolysefreie Blutabnahme und umgehende, hochtourige Zentrifugation des Serums zur Eliminierung der Thrombozyten verhindert Kontaminationen mit den Alpha, Gamma-Enolase-Anteilen von Erythrozyten und Thrombozyten. Abnahme für die serielle Analyse: unmittelbar und alle 4-6 Stunden am 1. Tag, dann 1 x täglich.

Methode:

Enzymimmunoassay, spezifisch für Gamma-Enolase; jetzt auch verschiedene automatisierte, nicht-radioaktive Liganden-Immunoassays verfügbar.

Referenzwertebereich:

3 – 12,5 ng/mL bei Probanden. Klinisch relevante Obergrenze unter Berücksichtigung aller präanalytischen Fehlermöglichkeiten ist 30 ng/mL.

Anmerkungen:

Einzelwerte der NSE-Konzentration im Blut sind ohne Aussagekraft für die Prognose. Kurzfristige Erhöhungen bis 120 ng/mL werden selbst bei Elektrokrampf-Therapie beobachtet. Nur serielle Blutanalysen sind bewertbar; bei gleichzeitigem Bronchialkarzinom muss mit erhöhten Basalwerten gerechnet werden.

Beurteilung:

Aus der seriellen Abnahme der Blutproben ergeben sich bei Hypoxien (z.B. nach Herzstillstand und Reanimation) innerhalb weniger Stunden bis Tage Zunahmen der neuronenspezifischen Enolase bis über 400 ng/mL. Bei über 24 Stunden anhaltenden NSE-Werten im Blut von > 120 ng/mL wurden bislang keine Wiedergewinnung der verlorenen kortikalen Funktionen beobachtet. Bei Hirninfarkten ist vor allem mit dem sekundären Hirnödem ein sehr frühzeitiger NSE-Anstieg im Blut verbunden, der aber nicht in jedem Fall, je nach Ausmaß und Lage des Infarktes zu beobachten ist. Nach Schädelhirntrauma ohne Hypoxie oder nach Elektroschock-Therapie gehen die erhöhten NSE-Werte innerhalb von wenigen Stunden wieder auf Normalwerte im Blut zurück.

Protein S-100 B im Serum

Indikation:

Vor allem in Gliazellen enthaltenes Ca-bindendes Protein, daher unspezifischer Indikator von Gliaschädigungen und damit potentiell additive Information zur NSE als neuronalem Marker. Ergänzend zur NSE Prognosemarker des Hirnschadens nach generalisierter Hypoxie, SHT, Blutungen und ggf. Hirninfarkten; sensitivere Erkennung geringer Hirnschäden. Ggf. auch Status epilepticus und Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (siehe v.a.: Bestimmung im Liquor). Daneben tumorassoziiertes Antigen beim malignen Melanom.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

Serum, nicht Plasma: Ca-bindende Antikoagulantien wie z.B. EDTA führen zur Konformationsänderung von S-100 und damit einer präanalytischen Störgröße. Im Gegensatz zur NSE jedoch nicht hämolysseempfindlich.

Methoden:

RIA, mittlerweile auch automatisierte, nichtradioaktive Liganden- Immunoassays (z.B.LIA), erfassen die β -Untereinheit (ganz überwiegend S-100B als $\beta\beta$ -Form, z.T. auch S-100A als $\alpha\beta$ -Form).

Referenzbereich: < 0,1 ng/ml

Anmerkungen:

Wegen unterschiedlicher Verteilung in Gliazellen (s-100) sowie Neuronen (NSE), unterschiedlicher Reaktions- und Halbwertszeiten sowie auch präanalytischer Störgrößen kann im Einzelfall sowohl NSE als auch S100 der geeignetere Marker sein. Ähnlich wie bei der NSE sind v.a. bei schwereren Hirnschäden auch für S100 Verlaufsuntersuchungen sinnvoll; bei gleichzeitig vorliegendem Malignem Melanom muss mit erhöhten Basalwerten gerechnet werden.

Beurteilung:

Wegen kürzerer Reaktions- und Halbwertszeit (Maximum nach 1-2 d) andere Kinetik als bei der NSE, dadurch ggf. frühere und sensitivere Erkennung kleinerer Hirnschäden (auch als mit CT), evt. von forensischer Bedeutung. Prognostische Aussage bei schweren Hirnschäden ähnlich wie NSE, jedoch u.a. wegen schnellerer Kinetik noch schlechter dokumentiert, eine Persistenz von Werten >0,7 ng/ml >24 h soll mit schlechter Prognose assoziiert sein.

Hirneigene Proteine: NSE (28), Protein S-100 (51a), Tau-Protein (1a), β -Amyloid 1-42 (24a, 51a) und Protein 14-3-3 (80) im Liquor

Indikation:

Diagnostik primärer Demenzen vom Alzheimer-Typ sowie der Creutzfeldt-Jacob-Erkrankung
Die Analyse von Hirnproteinen ist differentialdiagnostisch nur auf dem Hintergrund eines Liquor-Grundprogramms und einer diagnostischen Fragestellung sinnvoll.

Serielle Bestimmungen von NSE und S-100 B im *Serum* zur Verlaufskontrolle und Prognose von generalisierten Hirnschäden u.a. in der Intensivmedizin und zu forensischen Zwecken: siehe separate Kapitel.

Präanalytik, Methoden und Referenzbereiche:

Allgemeine Präanalytik

Alle Liquor- und Serumproben uneingefroren (bei längerem Transport ggf. doch einfrieren, cave jedoch: NSE) schnellstmöglich an das Labor versenden, vorzugsweise PP-Röhrchen, sonst möglicherweise Verluste von β -Amyloid und Tau; Blut- bzw. hämolysefrei (sonst NSE falsch hoch).

Tau Protein

Tau Protein im Liquor ist bis eine Woche stabil (4 °C) (Einfrieren schadet nicht). Tau Protein darf nicht in Glasbehältern aufbewahrt werden, am besten in Polypropylen-Röhrchen. Zur DD CJD am besten zusammen mit Protein 14-3-3, für DD Alzheimer mit β -Amyloid 1-42 bestimmen.

Methode: ELISA

Referenzbereich (altersabhängig):

Mittelwert 200 pg/mL; <50J.: <300, 51-70J.: <450, >70J.: <500 pg/mL.

Klinisch orientierte cut-off-Werte: siehe unter Beurteilung

β -amyloid 1-42

Für β -amyloid die Liquorproben uneingefroren in Polypropylen-Gefäßen verschicken; zur DD Alzheimer am besten zusammen mit Tau-Protein bestimmen.

Methode: ELISA

Referenzbereich: >500 pg/ml, klinisch orientierte cut-off-Werte: siehe Beurteilung

S-100B

S-100 Werte in Liquorproben sind bis zu einer Woche (4 °C) stabil (Einfrieren schadet nicht); zur DD CJD am besten zusammen mit NSE bestimmen

Methoden: RIA, jetzt auch automatisierte nicht-radioaktive Ligandenassays (z.B. LIA) erfassen die β -Untereinheit, die ganz überwiegend als Homodimer $\beta\beta$ im Protein S-100B, zu <5% jedoch auch im Protein S-100A als Heterodimer $\alpha\beta$ vorkommt.

Liquor Referenzbereich: < 5 ng/mL

NSE (Neuronenspezifische Enolase, Gamma-Enolase)

Eingefrorene Liquorproben und Serumproben haben einen drastischen Verlust an NSE im immunchemischen Nachweis. Hämolyse und Thrombolyse im Serum ergeben erhöhte NSE-Werte, NSE im Liquor zur DD CJD am besten zusammen mit S-100 bestimmen.

Methoden: jetzt verschiedene automatisierte Liganden-Immunoassays

Liquor Referenzbereich: < 25 ng/mL

14-3-3

Das Protein ist im Liquor bis zu 1 Woche stabil (bei RT oder 4 °C). Die Probe kann normal ohne Einfrieren versandt werden (Einfrieren stört nicht). Analysen, soweit bekannt, gegenwärtig nur durch Prionenforschungsgruppe Göttingen auf der Basis einer gezielten Fragestellung (z.B. DD CJD versus andere Demenzen; telefonische Anmeldung Tel: 0551/39 84 54).

Methode: qualitativer Immunoblot

Referenzwert: nicht nachweisbar

Beurteilung:

14-3-3 Immunoblot

Bei den 14-3-3 Proteinen handelt es sich um eine in Neuronen vorkommende Proteinfamilie mit einem Molekulargewicht von etwa 30 kDa. Es sind zumindest 7 Isoformen bekannt, die als Dimer vorliegend, hochkonserviert in fast allen Spezies zu finden sind. Die genaue Rolle der 14-3-3 Proteine bei der CJD ist unklar. Insbesondere stellt sich die Frage, ob spezifische Isoformen bei der CJD hochreguliert sind, oder ob es sich hierbei „nur“ um einen Destruktionsmarker handelt. In dem zur Zeit verwendeten Immunoblotverfahren gegen alle Isoformen der 14-3-3 Proteine im Liquor ergab sich an 288 getesteten Patienten eine diagnostische Sensitivität von 94% und eine diagnostische Spezifität von 93%. Seit kurzem werden Patienten, welche die Kriterien einer möglichen CJD erfüllen und einen positiven Liquorbefund besitzen, unabhängig von ihrem EEG Befund als wahrscheinliche CJD Patienten eingestuft. Bei der neuen Variante der CJD (vCJD) findet sich bei der geringen Anzahl der untersuchten Patienten nur zum Teil ein positiver 14-3-3 Nachweis. Es muss beachtet werden, dass sich die oben beschriebene hohe diagnostische Sicherheit nur in der differentialdiagnostischen Abklärung einer sporadischen CJD gegenüber anderen Demenzen findet. Familiäre Formen spongioformer Encephalopathien sind dagegen

Protein 14-3-3- negativ. Positive Befunde können nämlich auch bei anderen akuten ZNS-Erkrankungen vorkommen (z.B. Encephalitis, akute Ischämie, Blutungen, Krampfanfälle).

Tau-Protein/ β -Amyloid

Das Tau-Protein ist ein wesentlicher Bestandteil der bei der Alzheimer Erkrankung vorkommenden intrazellulär gelegenen neurofibrillären Bündel. Mit dem zur Verfügung stehenden ELISA wird die Gesamt-Fraktion des Tau-Proteins im Liquor erfasst. Bei bisher allen untersuchten dementiellen Erkrankungen ist die Gesamt-Tau Fraktion im Liquor erhöht. Der mittlere Normwert liegt in der Gesamtschau der Veröffentlichungen unter 200 pg/mL. Bei dementiellen Erkrankungen finden sich Werte überwiegend zwischen 200 pg/mL und 1100 pg/mL. Diese Werte finden sich sowohl bei einer Alzheimer Erkrankung, wie auch bei einer Multiinfarktdemenz.

Eine kombinierte Beurteilung von Tau Protein mit β -Amyloid bei der DD Alzheimer Erkrankung anhand klinisch definierter cut-off-Werte ist notwendig, charakteristisch ist die gleichzeitige Verminderung von β -Amyloid (24a).

	Kontrollen vs AD	Neuropsych. ZNS Erkrankung vs AD	Non-AD Demenz vs AD
A- β 1-42	Cut-off = 643 pg/mL	Cut-off = 551 pg/mL	Cut-off = 556 pg/mL
Tau-Protein	Cut-off = 252 pg/mL	Cut-off = 293 pg/mL	Cut-off = 239 pg/mL

Wenn Tau Protein > 1400 pg/mL (Liquor) bei gleichzeitiger Erniedrigung von β -amyloid 1-42 (< 600 pg/mL)) ist die zusätzliche Analyse von 14-3-3 Protein sinnvoll. (CJD: Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung; bei CJD finden sich gelegentlich nur wenig erniedrigte β -amyloid-Werte).

In der differentialdiagnostischen Abklärung einer CJD ergab sich bei den bisher untersuchten Patienten bei einem cut-off Wert von 1400 pg/mL eine ähnlich hohe Sensitivität und Spezifität wie für das 14-3-3 Protein.

Neuronenspezifische Enolase (NSE)

Die Neuronenspezifische Enolase (NSE) ist ein 78 kDa Enzym der Glykolyse und in Neuronen oder neuroendokrinen Zellen lokalisiert. Im Liquor stammen 98% des Proteins aus dem ZNS. Pathologische Werte wurden in Serum und Liquor von Patienten mit Hirnischämien, Hirntumoren, Hirnblutungen und Hirntrauma gemessen. In der differentialdiagnostischen Abklärung einer CJD wurden bei einem Grenzwert von 35 ng/mL in 78% der Fälle erhöhte Werte gemessen, die Spezifität beträgt in dieser Gruppe 88%. Erhöhte Werte sind jedoch auch bei anderen ZNS-Erkrankungen mit Gewebedestruktion, abhängig von Lokalisation und Akuität, möglich.

S100 Protein

S100 ist ein vornehmlich im Nervensystem von Vertebraten vorkommendes saures Calcium-bindendes Protein mit einem Molekulargewicht von 21 kDa. Natives S100 Protein wird als Homo- oder Heterodimer mit den zwei isomeren Untereinheiten alpha und beta gefunden. Die S100 beta Proteinspiegel (ganz überwiegend S100B = $\beta\beta$) im Liquor von 135 Patienten, die im Rahmen der nationalen CJD-Studie

unter dem Verdacht auf eine CJD gesehen wurden ergaben bei einem Grenzwert von 4,2 ng/mL eine diagnostische Sensitivität von 84 % und eine Spezifität von 91 %. Nach Kongressberichten fanden sich bei den wenigen untersuchten Patienten mit vCJD erhöhte Werte im Liquor. Erhöhte Werte sind ähnlich wie bei der NSE auch bei anderen ZNS-Erkrankungen mit Gewebedestruktion, abhängig von Lokalisation und Akuität, möglich

Ferritin (Liquor) (75).

Indikation:

Ergänzende Methode zum Nachweis bzw. Ausschluss von ZNS-Blutungen, insbesondere älteren oder kleineren SAB; Prognose bei Herpes-simplex-Encephalitis (hämorrhagisch-nekrotisierende Form).

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

0,5 mL Liquor, bei 4°C mindestens 1 Woche stabil, ungekühlter Postversand möglich.

Methode:

ELISA oder Nephelometrie. Serum-Methoden sind nach Validierung grundsätzlich anwendbar.

Referenzbereich: < 10 ng/ml

Anmerkungen:

Ferritin wird auch im Normalzustand im ZNS synthetisiert. Über 98% des CSF-Ferritins stammt aus dem ZNS. Es ist also nicht sinnvoll L/S-Quotienten zu bewerten.

Beurteilung:

Hohe Spezifität und Sensitivität (ca. 95%) für SAB bei einem Grenzwert von 15 ng/mL. Geringer Anstieg auch bei artifizieller Blutung und akuter Zellesternktion (bis ca. 15 ng/ml). Höhere Werte auch bei Begleitblutungen bei HSV-Encephalitis und Tumoren, ferner bei bakterieller Meningitis.

Carcinoembryonales Antigen (CEA) (27, 56).

Indikation:

Verdacht auf eine intrathekale Metastase eines CEA synthetisierenden Carcinoms. Als Therapiekontrolle verwertbar. Nicht als Screening-Verfahren geeignet.

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Aufgrund der sehr niedrigen CEA-Konzentration im Liquor (1/1000 der Blutkonzentration) wird ein großes Liquorvolumen benötigt (2-3 mL).

Methode:

Enzymimmunoassay mit Antikörper-beschichteten Kugeln. Inkubation der Kugel in der rotierenden Liquorprobe (3 mL) (56).

Referenzwertebereich:

Liquor/Serum-Quotienten von $Q_{CEA} > Q_{Alb}$ sind in jedem Fall als pathologisch zu bezeichnen. Für eine genauere Auswertung kann das IgA-Quotientendiagramm verwendet werden, da CEA einen dem IgA ähnlichen, mittleren Molekülradius hat. Danach sind Q_{CEA} -Werte oberhalb der Diskriminierungslinie als Hinweis für eine intrathekale CEA-Produktion zu bewerten.

Anmerkungen:

CSF/Serum-Konzentrationsquotienten von CEA sind im normalen Liquor bei normalen Serumwerten oft nicht zu bestimmen trotz sensitivster Methoden.

Beurteilung:

Im Fall von Tumormetastasen im ZNS mit CEA-Produktion hängt das Ausmaß der im Liquor nachweisbaren CEA-Konzentrationen sehr stark von der Lage der Metastase bezogen auf den Liquorraum ab. Die Tatsache eines normalen CSF/Serum-Quotienten für CEA kann nicht als Ausschluss für eine Tumormetastase im

ZNS bewertet werden. Erhöhte Werte, z.B. $Q_{CEA} > Q_{Alb}$ sind jedoch ein eindeutiger Hinweis auf eine intrathekale Metastase. Primäre Hirntumoren produzieren kein CEA.

Paraneoplastische Anti-Neuronale-Antikörper (Anti-Hu, -Ri, -Yo, -Tr, -Ma1/Ma2, -CV2 bzw. CRMP 5, -Amphiphysin, ANNA-3) (14, 38, 47, 48,72a);

siehe auch Ak bei Myasthenen Syndromen und anti-GAD-Ak

Indikation:

Paraneoplastische Enzephalomyelitis, Sensomotorische Neuropathie, Kleinhirndegeneration, Opsoklonus / Myoklonus, Limbische Encephalitis, Hirnstammencephalitis; die Zuordnung zwischen Ak und klinischem Syndrom ist inzwischen sehr viel weniger eindeutig, bei den genannten können mit unterschiedlicher Häufigkeit mindestens 4 verschiedene Ak auftreten (72a)

Myasthene und Stiff-Person(SPS) -Syndrome sind (mit Ausnahme des selteneren LEMS, Thymom-assoziiertes MG und Amphiphysin-pos. SPS) überwiegend nicht paraneoplastisch.

Syndrom	Antikörper gegen onkoneuronale Antigene
Lambert-Eaton Syndrom	VGCC (spannungsabh. Calcium-Kanäle)
Subakute zerebelläre Degeneration	Yo (PCA-1), PCA-Tr, Ma-2, mGluR1 α , Ri, CV2, Amphiphysin
Opsoklonus/Myoklonus	Ri (ANNA-2), Hu(ANNA-1), Yo, Ma2

Limbische Enzephalitis	Hu (ANNA-1), Ma2, CV2, Amphiphysin, Ri
Hirnstammencephalitis	Hu (ANNA-1), Ma-2, Ri (ANNA-2)
Stiff-person-Syndrom	GAD, Amphiphysin, (Gephyrin)
PNP	Hu (ANNA-1), Amphiphysin, CV2, Ma-2
Ca-assoziierte Retinopathie	Recoverin (CAR)

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

1 mL Serum, bei ZNS-Symptomatik möglichst auch 3 Liquor. Normaler Postversand ohne Kühlung möglich.

Methoden:

a) Immunhistochemie oder IFT: Nachweis der Bindung von IgG Autoantikörpern im Serum oder Liquor

an Gefrierschnitten von Primaten- (evt. auch Nager-) Kleinhirnen oder -Hirnstamm über FITC- oder Peroxidase- markiertes Anti-IgG. Cave: Überlagerung durch ANA oder andere auto-AK; Paralleluntersuchung von nicht-neuronalem Kontrollgewebe wie zB. Hep-2-Zelle, Leber, Darm etc. empfehlenswert

Anti-Hu/Ri: Anfärbung der Zellkerne mit Aussparung der Nukleoli, auch zytoplasmatische Fluoreszenz; Anti-Yo: Granuläre Anfärbung des Zytoplasmas von Purkinje-Zellen. Anti-Ma2: Punktierte nukleoläre Fluoreszenz z.B. im Hirnstamm, anti-CV-2: Fluoreszenz der Oligodendroglia.

b) Western-Blot: Isolierung von Purkinje-Zellen aus menschlichem Kleinhirn über Dichtegradientenzentrifugation. Auftrennung der Purkinje-Zellproteine in der SDS-Elektrophorese und Transfer auf Nitrocellulosemembran; inzwischen häufiger auch rekombinante Antigene. Nachweis von IgG Autoantikörpern im Serum oder Liquor über ihre Bindung an Antigene mit z.B. 35-40 kD (Anti-Hu), 34-38 kD und 62-64 kD (Anti-Yo) und 55 und 80 kD (Anti-Ri), 66 kD

(antiCV-2). Inzwischen auch kommerzielle Immunoblots mit z.T. zusätzlichen Spezifitäten (anti-Amphiphysin, -Hu, -Ri, -Yo; z.T. -Ma2, -CV-2; z.T. noch unzureichend evaluiert: Spezifität?)

Referenzwertebereich:

- a) Immunhistochemie und IFT: Keine Bindung an Zellkerne von Neuronen oder Cytoplasma von Purkinje-Zellen. Titer methodenabhängig (Serum Immunhistochemie: <1.400, IFT< 1:60; im Nativliquor: nicht nachweisbar)
- b) Keine Reaktion mit den oben genannten Proteinantigenen.

Anmerkungen:

Cave: Überlagerung durch andere auto-Ak wie ANA, AMA etc. im IFT bzw. Immunhistochemie, auch in diesem Fall Immunoblot erforderlich.

Paraneoplastische Antikörper stellen eine Kreuzreaktion der gegen den systemischen Tumor (Hu: meist kleinzelliges Bronchial-Carcinom; Yo: überwiegend gynäkologische Tumoren; Ri: Mamma-Carcinom, kleinzelliges Bronchial-Ca, Ma-2: meist Hoden-Tu) gerichteten Antikörper mit neuro-nalen Antigenen dar. Die Existenz eines Tumors wird in über der Hälfte der Fälle erst nach dem Auftreten der neurologischen Symptomatik festgestellt. Häufig liegt eine lymphozytäre Reaktion im Liquor und eine lokale IgG-Synthese mit Produktion der antineuronalen Antikörper vor.

Beurteilung:

Zur Zeit ist die Nomenklatur der antineuronalen Antikörper nicht einheitlich. Bei der histochemisch orientierten Klassifikation (38) werden die Bezeichnungen Anti-Neuronale-Nukleäre-Antikörper (ANNA) Typ 1 für Anti-Hu und ANNA Typ 2 für Anti-Ri, sowie Anti-Purkinje-Zell-Antikörper (APCA-1) für Anti-Yo benutzt. Positive Befunde in der Immunhistochemie sollten grundsätzlich über den Western Blot abgesichert werden (14, 48), da die histologischen Reaktionsmuster nicht immer eindeutig sind und vor allem bei Kollagenosen mit ubiquitären Antikörpern Interpretationsprobleme auftreten können. Mit Immunoblot eindeutig bestätigte Subtypen weisen jedoch eine höchste diagnostische Spezifität für ein paraneoplastisches Syndrom auf (Übersicht: 72a). Wenn Banden mit anderen Molekulargewichten angefärbt sind, können bei positiver Immunhistochemie bisher nicht näher klassifizierte Varianten vorliegen

Glutamatdecarboxylase II-Antikörper (GADII-Ak) (9, 20, 44).

Indikation:

Überwiegend nicht-paraneoplastisches Stiff-Person-Syndrom, vor allem bei Typ I-Diabetes
Jedoch momentan keine eindeutige Empfehlung bezüglich Methodik möglich (teilweise zu insensitiv; sensitive quantitative Methoden trennen im Serum nicht zwischen Diabetikern mit und ohne neurologische Symptomatik bzw. nicht zwischen Zielantigenen, siehe unten)

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

Lumballiquor und Venenblut ohne Zusätze; Zentrifugation des Blutes innerhalb von 2 Std. Liquor und Serum können 24 Std. bei 4 - 10°C,
kann unbegrenzt bei - 20°C aufbewahrt werden.

Methoden:

Qualitativ: Immunfluoreszenz auf Kleinhirn (67kD?)- und Pankreas-Inselzell(65kD)-Schnitten: bei niedrigen Titern und im Liquor zu insensitiv

Immunoblot trennt 65kD- und 67 kD-Antigen: nicht evaluiert, gegenwärtig nicht zuverlässig kommerziell verfügbar

Quantitativ: Nichtkompetitiver RIA oder ggf. ELISA (RIA immer noch spezifischer; sensitive Erfassung von 65kD-Ak, jedoch mit 67kD kreuzreaktiv)

Referenzwertebereich:

Serum qualitativ: nicht nachweisbar; quantitativ: stark methodenabhängig

Liquor: Bewertung nach Antikörper-Index (58); keine lokale Synthese nachweisbar.

Anmerkungen:

GAD II-Antikörper gehören zur IgG-Klasse und werden auch zur Diagnostik des IDDM verwendet; Zielantigen beim Stiff-person-Syndrom ist die Glutamatdecarboxylase der Gamma-Aminobutyrat (GABA)-produzierenden Neuronen. 2 Größenklassen bekannt: Diabetiker haben primär Anti-65kD-Ak; die neurologische Symptomatik soll vor allem mit anti-67kD assoziiert sein.

Beurteilung:

Bei Diabetes Mellitus, Typ I, bzw. Verwandten davon, ggf. im Serum ebenfalls positiv, allerdings mit niedrigeren Titern (primär anti-65kD), somit aus dem Serum gegenwärtig keine sichere Trennung zwischen Diabetes mit und ohne neurologische Symptomatik möglich. Bei klinisch gesichertem Stiff-Person-Syndrom spricht ein positiver Befund eher gegen eine paraneoplastische Genese. Eine lokale Synthese im Liquor sollte allerdings nur bei neurologischer Symptomatik vorkommen.

Antikörper bei Myasthenen Syndromen (76a)

1. Acetylcholin-Rezeptor-Antikörper (AChR-Ak, Serum) (70).

Indikation:

Diagnose und Verlaufsbeurteilung der Myasthenia gravis, Thymom.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

1 mL Serum; bei 4°C mindestens 1 Woche stabil, ungekühlter Postversand möglich.

Methode:

Radiorezeptor-Assay mit I 125-Bungarotoxin- markierten Acetylcholin-Rezeptor-Präparationen aus Humanmuskel oder Myosarkomzellen (in house) nach Lindstroem, jetzt auch mindestens 2 kommerzielle Methoden mit gleichem Prinzip

Referenzwertebereich:

Methodenabhängig: <0,25 bis < 0,4 nmol/L Bungarotoxinbindung.

Anmerkungen:

Bei in-House-Methoden ist die Standardisierung zwischen unterschiedlichen Rezeptorpräparationen schwierig; für die Verlaufsbeurteilung ist ggf. Reanalyse von Vorproben erforderlich, kommerzielle Methoden erweisen sich als chargenstabiler.

Beurteilung:

Nahezu 100% Spezifität für Myasthenie; Sensitivität ca. 95% für generalisierte M.G.; Sensitivität ca. 75% für oculäre M.G (Sensitivität ebenfalls methodenabhängig)

2. Titin-Antikörper (Serum)**Indikation:**

Paraneoplastische (Thymom-assoziierte) Myasthenie

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

0,5 mL Serum, bei 4°C mindestens 1 Woche stabil, ungekühlter Postversand möglich

Methode:

ELISA mit Einpunktkalibration; Werte werden als Ratio OD Probe/ OD Kalibrator angegeben

Referenzbereich:

<0,9, grenzwertig 0,9-1,8

Beurteilung:

Klinisch optimierte cut-off-Werte müssen noch definiert werden, insbesondere bei Patienten <60 Jahren besteht eine gehäufte Assoziation mit Thymomen, dann gehäuft auch Myositis neben der Myasthenie vorhanden

3. Ak gg. Muskel-spez. Rezeptor-Tyrosinkinase (MuSK-Ak, Serum, 23a)**Indikation:**

Sog. seronegative Myasthenia gravis (SNMG), Abklärung Myasthener Syndrome insbesondere bei Fehlen von AChR- oder VGCC-Ak

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

1ml Serum, bei 4° C mindestens 1 Woche stabil, ungekühlter Postversand möglich

Methode: Radiorezeptor-Assay mit I 125-markiertem Rezeptor

Referenzbereich: <0,05 nmol/l

Beurteilung:

Sehr hohe Spezifität für die bisher "seronegative" Myasthenia gravis, jedoch werden nur ca. 40-50% der SNMG-Fälle erfasst, gleichzeitiges Vorliegen von AChR-Ak oder eines Thymoms sehr unwahrscheinlich.

4. Calcium-Kanal-Ak (VGCC, voltage gated calcium channel antibodies, 38a)

Indikation:

Lambert-Eaton-Syndrom (LEMS), kleinzelliges Bronchial-Ca. mit neuromuskulärer Symptomatik

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

1 mL Serum, bei 4°C mindestens 1 Woche stabil, ungekühlter Postversand möglich

Methode:

Radiorezeptor-Assay mit I-125-Conotoxin-markierten Ca-Kanal-Präparationen

Referenzbereich:

< 20 pmol/L Conotoxinbindung, 20-40pmol/L grenzwertig

Beurteilung:

Spezifität nahezu 100%; Sensitivität >80%, grenzwertige Befunde u.a. bei anderen Autoimmun- oder Paraneoplastischen Erkrankungen, kleinzelliges Bronchial-Ca ohne neurologische Symptomatik oder bei ALS

Kalium-Kanal-Antikörper (VGKC, voltage gated kalium channel antibodies)

Indikation:

Erworbene Neuromyotonie, neuromuskuläre Übererregbarkeit, paraneoplastische Syndrome bei Thymom oder Bronchialkarzinom, dort Abgrenzung gegenüber myasthenen Syndromen (siehe auch AChR- und Kalzium-Kanal-Ak)

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

1 ml Serum, bei 4°C mindestens 1 Woche stabil, ungekühlter Postversand möglich

Methoden:

Immunfluoreszenz auf Xenopus-Oozyten, Radiorezeptor- oder Radiopräzipitationsassays mit α -Untereinheiten von Kalium-Kanälen aus humanem Frontalhirn oder auch rekombinant

Referenzbereich: nicht nachweisbar

Anmerkungen:

Sensitivität stark methodenabhängig

Beurteilung:

Sensitivität bei erworbener Neuromyotonie 65-100%; erhöhte Titer können methodenabhängig auch sporadisch bei anderen Erkrankungen vorkommen.

Anti-Gangliosid-Antikörper (v.a anti-GM1/GM2 und anti-GQ1b, jeweils -IgG,-IgM) (52).**Indikation:**

Periphere Neuropathien; hauptsächlich multifokale motorische Neuropathie und Miller-Fisher-Syndrom, Guillain-Barré Syndrom (GBS), teilweise in Abgrenzung gegen Polyneuropathie und Amyotrophe Lateralsklerose (ALS).

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Material: 1 mL Serum, bei 4°C mindestens 1 Woche stabil, ungekühlter Postversand möglich

Methode:

Bestimmung der Anti-Gangliosid-Antikörper im Serum mittels ELISA-Technik oder Immunoblot

Referenzwertebereich:

ELISA: methodenabhängig; Immunoblot: nicht nachweisbar

Anmerkungen:

Ergebnisse und Sensitivität stark methodenabhängig, da gegenwärtig keine Standardisierung.

Beurteilung:

Nach Literaturmitteilungen können deutlich erhöhte Anti-Gangliosid Antikörper-Titer (vor allem GM1 vom IgM-Typ) insbesondere bei der multifokalen motorischen Neuropathie (50-90%) gefunden werden, wogegen beim GBS und Polyneuropathien hohe Titer seltener auftreten (5-30%, dort eher GM1 vom IgG-Typ). Die klassische ALS sollte Ak-negativ sein. Bei sensiblen Neuropathien hohe Titer in < 5% auf, bei Normalpersonen in < 1%. Die polyspezifische Immunreaktion bei GBS lässt eine vermehrte anti-GM1-Synthese als diagnostisch unspezifische Netzwerkreaktion interpretieren. Für das Miller-Fisher-Syndrom sind dagegen GQ -1b-Ak mit hoher Sensitivität und Spezifität richtungsweisend.

Myelin-Antikörper (einschl. MAG-Ak = Myelin-ass.Glykoprotein-Ak)**Indikation:**

Insbesondere demyelinisierende, jedoch ggf. auch unklare axonale PNP, v.a. bei bekannter monoklonaler Gammopathie (insbesondere vom IgM-Typ, sowohl MGUS als auch maligne)

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

0,5 ml Serum, bei 4°C mindestens 1 Woche stabil, ungekühlter Postversand möglich

Methoden:

Suchtest: Indirekte Immunfluoreszenz auf Schnitten peripherer Nerven; Bestätigung für MAG-Ak: Elisa oder Immunoblot; ggf. Immunfixation zur Bestätigung des Paraproteins

Referenzwertebereich: jeweils nicht nachweisbar

Anmerkungen:

Im Immunfluoreszenztest müssen Ak gegen Myelinscheiden und Axone unterschieden werden.

Beurteilung:

Pathogenetisch relevant für demyelinisierende Polyneuropathien sind vor allem Myelin-Ak vom IgM-Typ, insbesondere wenn sie anti-MAG- Eigenschaft besitzen oder im Rahmen einer monoklonalen IgM-Gammopathie auftreten. Andere im Suchtest nachweisbare, auch axonale Ak vor allem der IgG- und IgA- Klasse haben nicht die gleiche Spezifität, können im Einzelfall jedoch diagnostisch relevant sein

Phospholipid (anti-Cardiolipin- und β 2 Glykoprotein I-Antikörper) (22).**Indikation:**

Unerklärte Thromboseneigung vor allem zerebraler Gefäße bei jüngeren Patienten oder SLE; Diagnose des „Phospholipid-AK-Syndroms“.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

0,5 mL Serum, bei mindestens 4°C 1 Woche stabil, ungekühlter Postversand möglich.

Methode:

RIA oder ELISA.

Referenzwertebereiche (methodenabhängig):

Cardiolipin-AK: IgG-AK < 12 U/mL; IgM-AK < 6 U/mL.

Beta-2-GlykoproteinI-AK(IgG und IgM): <5U/mL, 5-8 U/mL grenzwertig

Anmerkungen:

Cardiolipin-AK sind Screeningmethode, Beta-2-GlykoproteinI-AK sind wesentliche Cofaktoren mit höherer Spezifität.

Handelsübliche Cardiolipin-Assays basierten bisher auf der Standardisierung nach Harris, dennoch erhebliche Unterschiede zwischen verschiedenen Methoden. Teste erfassen nicht alle Phospholipid-AK (ggf. zusätzlich Lupus-Antikoagulanzen bestimmen). Eine neue internationale Standardisierung

(„ Sapporo- oder Koike-Standards „) ist in Vorbereitung.

Beurteilung:

Deutlich erhöhte Cardiolipin-IgG-Antikörper-Titer (>20 U/mL) gelten als Risikofaktor für arterielle und venöse Thrombosen. Vorkommen sowohl primär als auch Begleitphänomen bei SLE. Relevanz von erhöhten Cardiolipin-IgM-Antikörpern unsicher, diese kommen auch passager bei verschiedenen Infektionen vor. Höheres Risiko bei gleichzeitig nachweisbaren Beta-2-Glykoprotein I-AK. Bei nachgewiesenem- Phospholipid-Ak-Syndrom ist

Eine Kollagenose-Diagnostik empfehlenswert (DD primär-sekundär). Diagnostisch falsch-negative Befunde sind möglich, da nicht alle Phospholipid-Antikörper durch die Tests erfasst werden.

Kupferstoffwechsel bei Morbus Wilson (4, 8, 40).

Indikation:

Diagnose Morbus Wilson; auch V.a. akute oder chronische Intoxikation

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

1,5 mL Serum und 3 mL eines gut gemischten 24-Std-Sammelurins, zusätzlich ggf. 5 mL EDTA-Blut für Molekulargenetik und 10 mg Leberbiopsat

Methoden:

Kupfer im Serum und 24h-Urin, Coeruloplasmin im Serum:

Die Kupferbestimmungen erfolgen mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS), Coeruloplasmin wird nephelometrisch bestimmt.

Molekulargenetik:

Nachweis der Hauptmutation His1069Gln (etwa 1/3 Homozygote) sowie Auffindung anderer Mutationen durch Gensequenzierung

Radiokupfertest: Nach i.v.-Injektion von 1 MBq ⁶⁴Cu/kg Körpergewicht wird die Kinetik des Einbaus von Radio-Kupfer in Coeruloplasmin in Relation zur Gesamtserum- und Albuminaktivität über 26 Stunden gemessen. Auswärtige Patienten müssen inkl. An- und Abreise für 3 Tage stationär aufgenommen werden.

Referenzwertebereich:

Cu im Serum: 11 - 22 µmol/L; Coeruloplasmin: 0,18 - 0,45 g/L

Beide Parameter können während der Schwangerschaft und bei hormoneller Kontrazeption physiologisch deutlich erhöht sein.

Freies Cu: <10% (kann aus Cu und Coeruloplasmin abgeschätzt werden)

Cu im Urin: < 1,0 µmol/d.

Cu im Leberbiopsat <100µg/g TG, bei M.Wilson > 250µg/g TG

Bei über 100 bekannten Mutationen ist die Molekularbiologie sehr aufwendig und weitgehend auf Hauptmutation (s.o.) bei Betroffenen und Familienangehörigen beschränkt

Anhand der Aktivitätsverläufe im Radiokupfertest erfolgt die Zuordnung zu den Kategorien

a) gesund, b) heterozygoter Merkmalsträger, c) Morbus Wilson.

Anmerkungen:

Weitere Analytik zur Diagnosesicherung: Radiokupfertest!

Der RCT ist spezifisch für M. Wilson und medikamentenunabhängig. Interferenzen messtechnischer Natur sind durch Applikation anderer Isotope möglich. Der RCT ist in einer Spezifität und Sensitivität der Leberkupferbestimmung mindestens ebenbürtig und deshalb vorzuziehen. Auf eine Testdurchführung vor dem 4. Lebensjahr sollte verzichtet werden. Bisher wurden weder falsch positive noch falsch negative Zuordnungen bekannt. Selbst Acoeruloplasminämien ohne M. Wilson sind ebenso wie andere Kupferstoffwechselstörungen sicher abgrenzbar.

Beurteilung:

Etwa 80-90 % aller Patienten mit Morbus Wilson haben erniedrigte Cu- und Coeruloplasminwerte im Serum. Erniedrigungen auch beim Menkes-Syndrom (nur männliche Kinder) sowie bei schweren Nieren- und Lebererkrankungen möglich. Bei hämolytischen Krisen kann das Serum-Cu auch erhöht sein. Unbehandelte Patienten mit manifestem Morbus Wilson haben erhöhte Urinkupferausscheidungen (bis 5 µmol/d). Kinder und Patienten im präklinischen Stadium haben häufig normale Urinausscheidungen. Erhöhte Leberkupferwerte finden sich auch bei Erkrankungen mit Gallenstau.

Langkettige Fettsäuren, VLCFA (25).

Indikation:

Bei Verdacht auf Adrenoleukodystrophie und Adrenomyeloneuropathie.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

1,0 mL Serum, Standardabnahme. Postversand ist möglich.

Methode: (25)

Referenzwertebereich:

C 22:0 - 34-96 µmol/L; C 24:0 - 22-83 µmol/l; C 26:0 - 0,22-1,31 µmol/l; Ratio C-24/C-22 - 0,32-1,19;
Ratio C-26/C-22 = 0,003-0,021.

Beurteilung:

Für die Beurteilung wird gegenüber Einzelfettsäurebefunden günstiger das Verhältnis der Fettsäuren

untereinander herangezogen (s.o.) Dieses ist dann i.a. sehr stark erhöht.

Phytansäure (Serum) (26).

Indikation:

Nachweis, Verlaufskontrolle des M. Refsum (Phytansäure- Δ^5 -Hydroxylase fehlt).

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Serum, nüchtern, hämolysefrei, ungekühlter Postversand.

Methode: Kapillargaschromatographie.

Referenzwertebereich: 1 -5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (0,4 - 0,6 $\mu\text{mol}/\text{L}$).

Anmerkungen:

Bestimmung bei Erwachsenen nur nach Vorliegen einer Liquoreiweißerhöhung und entsprechender klinischer Symptomatik. Zur Charakterisierung atypischer und grenzwertiger Formen des Refsum-Syndroms empfiehlt sich die ergänzende Bestimmung von Pristansäure und Picolinsäure als Marker des peroxisomalen Stoffwechsels mittels GC/MS

Beurteilung:

Hohe Spezifität und Sensitivität, ausgenommen bei stark lipämischen Seren.

Arylsulfatase A (7, 55).

Indikation:

Verdacht auf Metachromatische Leukodystrophie. Differentialdiagnose von Sphingolipidosen.

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Bestimmung vorzugsweise aus Leukozyten, hierfür 4 ml EDTA-Blut, alternativ auch 0,5 mL Serum oder Urin. Tiefgefrorenes Serum kann noch nach mehreren Wochen zur Bestimmung benutzt werden.

Methode:

Enzymatische Spaltung von Nitrocatecholsulfat

Referenzwertebereiche:

Leukozyten: 30-158 nmol/h/mg Protein; Serum: 3,6-9,4 nmol/h/ml; Urin.: 41-178nmol/h/ml

Anmerkungen:

Lipämische Seren sind für die Messung ungeeignet; häufig falsch hohe Werte.

Beurteilung:

Erniedrigt oder fehlt bei Metachromatischer Leukodystrophie. Erhöht häufig während der Schwangerschaft und Wundheilung, bei Entzündungen, Vergiftungen, Tumoren, Leukämie.

Hexosaminidase B (42, 55).

Indikation:

Differentialdiagnose der Sphingolipidosen. Fehlt bei GM2-Gangliosidose.

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

5 mL Spontan-Urin. Möglichst innerhalb von 2 Stunden zentrifugieren und bestimmen.

Methode:

Enzymatische Spaltung von 4 Nitrophenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminid.

Referenzwertebereich: 1,5 - 29,8 U/L

Vitamin-B 12 im Serum (11, 24).

Indikation:

Verdacht auf Vitamin-B 12-Mangel bei:

Chronischen Magenerkrankungen mit Atrophie der Korpuschleimhaut, Intrinsic-Faktor-Mangel bei Sub-, An-Azidität, Zustand nach partieller / totaler Magenresektion, Erkrankungen des terminalen Ileus, funikuläre Spinalerkrankung, perniziöser Anämie, schweren chronischen Lebererkrankungen, schweren Nierenerkrankungen, Resorptionshemmung durch Colchicin (langfristig), nutritiver Mangel, Befall mit Fischbandwurm.

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Serum innerhalb von 8 Stunden abarbeiten, danach Aufbewahrung im Kühlschrank, über 24 Std hinaus Lagerung bei -20°C.

Methode:

Kompetitiver Enzymimmunoassay nutzt paramagnetische Partikel als Festphase und einen innovativen Chemilumineszenz-Nachweis zur quantitativen Bestimmung des Vitamin-B 12-Spiegels im Serum.

Referenzwertebereich:

Normalwert i.S.: 185 – 940 pg/ml

Anmerkungen:

Der Vitamin-B 12-Wert im Serum ist diagnostisch nur verwertbar, wenn längere Zeit vor der Blutentnahme keine parenterale Vitamin-B 12-Zufuhr erfolgte.

Beurteilung:

Unterschreiten des Referenzbereiches zeigt die Vitamin-B 12-Hypovitaminose und deren quantitatives Ausmaß an, auch im unteren Referenzbereich ist ein sog. metabolischer oder latenter Vitamin B12-Mangel möglich; ggf. Bestimmung der Methylmalonsäure im Urin empfehlenswert

Folsäure im Serum (11, 24).**Indikation:**

Verdacht auf Folsäuremangel z.B. bei:

Megaloblastärer Anämie, allgemeiner Unterernährung (Alkoholiker), Malabsorptionssyndrom, Jejunumresektion, Langzeitmedikation mit Phenytoin, Phenobarbital, Daraprim, langfristig oraler Antibiotikagabe, besonders Sulfonamide, Erkrankungen mit starker Zellproliferation, Hämoblastosen, gesteigerter Erythropoese bei chronisch hämolytischer Anämie, Psoriasis, exfoliativer Dermatitis, nachgewiesenem Vitamin-C-Mangel oder DD Vitamin B12-Mangel

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

Serum innerhalb von 8 Std verarbeiten, lagern bei 2 - 8°C, sonst Lagerung bei -20°C, hämolytische Seren dürfen nicht verwendet werden.

Methode:

Kompetitiver Enzymimmunoassay nutzt paramagnetsiche Partikel als Festphase und einen innovativen Chemilumineszenz-Nachweis zur quantitativen Bestimmung des Folsäurespiegels im Serum.

Referenzwertebereich:

Nach neueren Erkenntnissen nach Homocystein-Konzentrationen optimiert und nach oben korrigiert:

Normalwert: 4,4 - 16,9 ng/ml

grenzwertig: 2,5 - 4,4 ng/ml

vermindert: < 2,5 ng/ml

Anmerkungen:

Um die Ätiologie einer megaloblastären Anämie abklären und richtig behandeln zu können, ist die gleichzeitige Bestimmung von Folsäure und Vitamin-B 12 sinnvoll.

Beurteilung:

Unterschreiten des Referenzbereiches zeigt empfindlich einen latenten Mangelzustand an, obwohl die Größe des Folsäurespeichers durch den intraerythrozytären Folsäuregehalt widerspiegelt wird. Im unteren Referenz- oder Graubereich ist ggf. mit einem sog. metabolischen Folsäuremangel zu rechnen, ggf. Bestimmung von Homocystein empfehlenswert.

Aminosäureprofil in Liquor und Plasma

Indikation:

Angeborene Störungen des Aminosäurestoffwechsels bzw. Transporterstörungen (Schrankenfunktion), Diagnostik und Verlaufskontrolle

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

Jeweils 0,5 ml Plasma und blutfreier Liquor, kein Serum, für Transport einfrieren

Methoden:

Isokratische HPLC nach Enteiweißung und Verdünnung; Detektion mittels Tandem-Massenspektrometrie

Referenzbereiche:

Plasma (altersabhängig): je nach Aminosäure 0,1 - 12 mg/dl

Liquor: je nach Aminosäure 0,02 – 8 mg/dl

Anmerkungen und Beurteilung:

Beurteilung muss abhängig von Alter und Fragestellung erfolgen, bei Transporterdefekten bzw. ZNS-Beteiligung bevorzugt Liquor/Plasma-Konzentrationsverhältnisse relevant

III. Methoden im Forschungs- und Erprobungsstadium, mit umstrittener Relevanz oder nicht-standardisierter Methodik

Antikörper-sezernierende Zellen (ASZ) und Zytokin-sezernierende Zellen (ZSZ) im Liquor (13, 39, 41, 51, 69).

Indikation:

Diagnostik und Verlaufsbeurteilung neurotroper Infektions- und Autoimmunerkrankung (humoraler und zellulärer Immunstatus).

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

15-20 mL frischer Liquor wird zentrifugiert (200 g, 10 min), das Sediment in Kulturmedium (mit 10% fetalem Kälberserum) aufgenommen und auf $4-6 \times 10^4$ mononukleäre Zellen (MNZ)/mL eingestellt.

Methode:

ASZ: Immunospotassay (ELISPOT) nach Czerkinsky et al. (13) in einer Modifikation unter Verwendung von Nitrozellulosemembranen (39).

ZSZ: Immunospotassay in der Modifikation von Olsson et al. (51) Spontane ZSZ und in vitro Antigen-stimulierte ZSZ können ermittelt werden. Es sind eine indirekte (Vorinkubation in Polystyrolplatten) und eine direkte Variante (Inkubation und Detektion in Nitrozelluloseplatten) möglich.

Referenzwertebereich:

ASZ: IgG-ASZ: 2-20/10⁴ MNZ; IgM-ASZ: 0-4/10⁴ MNZ;
IgA-ASZ: 0-6/10⁴ MNZ.

ZSZ: Interferon-Gamma (IFN)-sezernierende T-Zellen:

spontan: 9-15/10⁵ MNZ; gegen MBP: 0-20/10⁵ MNZ; gegen PLP: 0/10⁵ MNZ.

Anmerkungen:

ASZ: Die Normwertebereiche wurden an organisch gesunden Probanden mit muskulärem Spannungskopfschmerz ermittelt. Spezifische IgG-ASZ, z.B. gegen Myelinkomponenten (MBP, MAG, PLP, MOG) und Borrelien, wurden bei diesen Probanden nicht gefunden. Die Methode sei sensitiver als Nachweismethoden für freie Antikörper (ELISA, RIA).

ZSZ: Die spontane Zytokinsekretion ist Ausdruck zellulärer Aktivierung. Der Test kann prinzipiell für alle Zytokine angewendet werden. Antigen-reaktive T-Zellen wurden bisher meist über IFN-Gamma-Sekretion ermittelt. Dabei stellt die Zahl spontaner ZSZ, deren Spezifität gegen dasselbe Antigen gerichtet ist, das zur in-vitro-Stimulation verwendet wurde, einen Unsicherheitsfaktor dar. Liquorwerte übersteigen Blutwerte häufig um das 50-100fache.

Beurteilung:

ASZ: Bei Autoimmunerkrankungen und Infektionskrankheiten des ZNS, wie MS, Neuroborreliose, tuberkulöse und Virusmeningitiden (Masern, HSV, HIV) und Toxoplasmose, steigt die Zahl der totalen IgG- und IgM-ASZ über den Normbereich an und erreicht im Liquor 10-50fach höhere Werte als im Blut. Spezifische IgG-ASZ werden nachweisbar und persistieren bei chronischem Verlauf. Exakte Angaben zur Spezifität und Sensitivität können noch nicht gemacht werden. Beide liegen, z.B. bei tuberkulöser Meningitis, höher als für den ELISA (39).

ZSZ: Es handelt sich um eine Methode zur Reaktivdiagnostik bei Autoimmunerkrankungen und Infektionskrankheiten des ZNS. Die Methode ist sensitiver als der Nachweis freier Zytokine im Liquor, da letztere in-vivo gebunden und/oder abgebaut werden können. Es gelang mit ihr erstmals Masern- und Mumps-reaktive T-Zellen im Liquor nachzuweisen. Zur Spezifität und Sensitivität können z.Z. noch keine exakten Angaben gemacht werden.

Freie und Immunglobulin(Ig) gebundene oligoklonale Leichtketten (1, 19, 21).

Indikation:

Empfindlicher und spezifischer Nachweis oder Ausschluss einer Immunreaktion im ZNS.

Methode:

Isoelektrische Fokussierung (IEF) von Liquor- und Serumproben, spezifische Immunfixation von

freien und/oder gebundenen lambda- und kappa-Leichtketten, Silberfärbung, Serum- und Liquorproben werden auf gleichen Ig-Gehalt eingestellt und im gleichen Gel nebeneinander analysiert. Neuerdings ist auch eine quantitative nephelometrische Methode verfügbar.

Referenzwertebereich:

Gleiches Bandenmuster in Serum und Liquor eines Probanden (ohne Auftreten identischer, stärker ausgeprägter Banden). Quantitative Methode ist nicht evaluiert.

Beurteilung:

Die Beurteilung erfolgt durch Vergleich der Bandenmuster von Serum- und Liquorprobe eines Probanden, sowie durch Vergleich der Bandenmuster aller Proben eines Gels. Bereits der Nachweis einer zusätzlichen spezifischen lambda- oder kappa-Bande im Liquor spricht für eine Ig-Synthese im ZNS. Die Detektion gebundener und/oder freier leichter Ketten erscheint empfindlicher als die alleinige Detektion der schweren Ketten. Der Nachweis freier leichter Ketten im Liquor wird bezüglich der differentialdiagnostischen Bedeutung bei chronischen Erkrankungen des ZNS diskutiert.

Zirkulierendes interzelluläres Adhäsionsmolekül-1 (cICAM-1) (23, 63, 71).

Indikation:

Aktivitätsparameter bei MS.

Abnahmebedingungen:

1 mL Serum und 1 mL Liquor ausreichend; Kühlung innerhalb von 24 Stunden nach Abnahme nötig.

Methode:

Kommerziell erhältliche Sandwich-ELISA mit vorbeschichteten Platten.

Referenzwertebereich:

Serum: 150 - 400 ng/mL; Liquor: < 0,3 ng/mL.

Beurteilung:

Bisherige Untersuchungen an über 500 Patienten haben gezeigt, dass sich erhöhte Liquorspiegel von cICAM-1 nur bei Patienten mit entzündlichen Erkrankungen des Zentralnervensystems finden ließen. Darüberhinaus konnte gezeigt werden, dass bei schubförmig verlaufender MS cICAM-1 während des Schubes im Blut und Liquor ansteigt.

Phosphohexoseisomerase (PHI) (50, 79).

Indikation:

Verdacht auf primäre oder sekundäre Hirntumoren.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

0,3 mL nicht hämolytisches Serum, 0,3 mL CSF (ohne lysierte Erythrozyten, da diese viel PGI enthalten).

Methode:

Kinetische Messung der Enzymaktivität über NADPH Zunahme im optischen Test (H.U. Bergmeyer: Methoden der enzymtischen Analyse).

Referenzwertebereich:

bei 25°C: Serum < 109 U/L; CSF < 9,3 U/L.

Anmerkungen:

Einfacher, automatisierbarer Test. Korrekturrechnung erst bei ausgeprägten Schrankenstörungen und hohen Aktivitäten im Blut. Auch zur Unterscheidung von bakteriellen und viralen Meningitiden brauchbar. Synonyme Namen: Phosphoglucoseisomerase (PGI) und Glucosephosphat-isomerase.

Beurteilung:

Hohe Sensitivität für Hirnmetastasen bei Carcinomen (z.T. auch für zytologisch nicht fassbare), mittlere für lymphoproliferative Erkrankungen, mäßige für primäre Hirntumore. Gut geeignet zur Therapie/Verlaufskontrolle.

Beta-2-Mikroglobulin (Liquor) (43).

Indikation:

ZNS-Befall bei Leukämie und Lymphomen, ZNS-Befall bei HIV-Infektion.

Abnahmebedingungen/Präanalytik:

Bei 4°C mindestens 1 Woche stabil, 0,5 mL Liquor, ungekühlter Postversand möglich.

Methode:

Serummethoden auch für Liquor anwendbar. ELISA oder RIA; auch nephelometrische Methoden mit Latexverstärkung.

Referenzwertebereich:

< 1,8 mg/L.

Anmerkungen:

Da bereits im Normalzustand im ZNS eine Beta-2-Mikroglobulinproduktion stattfindet, ist eine schrankenabhängige Auswertung der zu über 90% aus dem ZNS stammenden Liquorfraktion nicht sinnvoll.

Beurteilung:

Keine Spezifität für maligne Prozesse. Eine sichere Unterscheidung entzündlicher und maligner Zellinfiltrate ist nicht möglich. Ein Normalbefund erhöht jedoch die Ausschlusswahrscheinlichkeit.

β -Trace-Protein (Prostaglandin-D-Synthase)

siehe auch unter „Nachweis von Liquor in Sekreten „

Methode: Nephelometrie

Weitere Potenzielle Anwendungsmöglichkeiten (experimentelles Stadium):

1 Differenzierung zwischen purulenter und seröser Meningitis:

β -Trace-Protein zeigt im Gegensatz zu den anderen aus dem ZNS stammenden Proteinen (wie z.B. Tau, NSE oder S100) einen 11-fachen Anstieg des ventrikulolumbalen Gradienten, was darauf hinweist, dass der größte lumbale Anteil des β -Trace-Protein nicht aus dem Plexus choroidius, sondern aus spinalen Leptomeningen stammen muss. Bei meningealen Erkrankungen wie z.B. bakteriell-eitrigen und tuberkulösen Meningitiden werden erniedrigte β -Trace Liquorwerte gefunden. Bei viralen oder nicht-eitrigen Meningitiden sind β -Trace Konzentrationen im Liquor dagegen unverändert.

1 Indikator für Meningopathie?

Erniedrigte β -Trace-Protein Konzentrationen im Liquor bei Patienten mit idiopathischem NPH könnte auf das Vorliegen einer Meningopathie hindeuten. Diese Resultate sind aufgrund der noch zu geringen Fallzahlen als präliminär anzusehen.

1 Einfluss auf Schlafrhythmus:

Im Tierexperiment ist mehrfach ein Zusammenhang zwischen β -Trace-Protein Konzentrationen und dem Schlafrhythmus nachgewiesen worden.

Auch beim menschlichen Schlaf scheint β -Trace eine Rolle zu spielen: im Serum von Normalprobanden zeigt β -Trace zirkadiane Änderungen, wobei es zu signifikanten nächtlichen Anstiegen kommt, die durch Schlafentzug unterdrückbar sind.

Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) im Liquor.

Indikation:

Nachweis von Neurosarkoidosen.

Abnahmebedingungen / Präanalytik:

In der Regel muss Liquor 100-fach konzentriert werden. Serum wird unverdünnt eingesetzt.

Methode:

Verschiedene, nicht-standardisierte Aktivitätsbestimmungen von ACE im Liquor und Serum
Mit entsprechend unterschiedlichen Referenzwerten. Einheiten in nmol/min/mL bzw. U/l.

Referenzwertebereich:

ACE-Werte im Liquor sind grundsätzlich vom Albuminquotienten abhängig, da normal nur ca 70% (Bereich 10 - 90%) des Liquor-ACEs aus dem ZNS stammen. Bei normalem Liquorfluss ($Q_{Alb} = 2 - 8 \cdot 10^3$) ist die ACE-Aktivität 0,24 - 1,8 nmol/min/mL im Liquor. Referenzwertebereich im Serum ist 62 - 167 nmol/min/mL.

Pathologische ACE-Werte im Liquor aufgrund vermehrter intrathekaler Freisetzung sind gegeben, wenn $ACE > 1,6 + 0,06 \cdot Q_{Alb}$ [nmol/min/mL].

Anmerkung:

Es wird der Absolutwert von ACE im Liquor auf den Albuminquotienten bezogen, da mit reduziertem Liquorfluss die aus dem Blut stammende CSF-Fraktion ansteigt. Damit wird verhindert, dass ACE-Erhöhungen bei Blut-Liquor Schrankenfunktionsstörungen (z.B. Meningitis) falsch interpretiert werden. Die Darstellung der ACE CSF/Serum-Quotienten als Funktion des Albuminquotienten wäre theoretisch richtiger, ist aber aufgrund behandlungsbedingter (Cortison) Schwankungen der Serumwerte in der Praxis nicht so gut geeignet. Es wurden Neurosarkoidose-Fälle als auch andere neurologische Erkrankungen beobachtet, die oberhalb des Referenzbereiches liegen. Der Parameter ist also für Neurosarkoidose unspezifisch.

Beurteilung:

Für die Beurteilung einer systemischen Sarkoidose ist folgendes zu berücksichtigen: Kinder haben bis zur Pubertät höhere Serumwerte als Erwachsene mittleren Alters, mit zunehmendem Alter fallen die ACE-Werte ab. Bewertung immer nur in Zusammenhang mit der klinischen Symptomatik, da auch bei anderen Erkrankungen erhöhte Serumwerte gefunden werden (z.B. M. Gaucher, Lepra, TBC, Primär - biliäre Zirrhose, alkoholische Lebererkrankungen, Hyperthyreose, Diabetes mellitus). Aus der absoluten Höhe des Serumwertes können keine prognostischen Schlüsse gezogen werden, aber zur Therapiekontrolle im Verlauf hilfreich sein.

Für den Nachweis einer Neurosarkoidose ist ACE im Liquor nur bei einer klaren differentialdiagnostischen Fragestellung hilfreich. Die Abwesenheit von erhöhten hirnabhängigen ACE-Fractionen im Liquor schließt eine Neurosarkoidose nicht aus (geringe klinische Sensitivität neben Unspezifität).

IV. LITERATURVERZEICHNIS

Übersichtsartikel, Bücher und Buchbeiträge

Klinische Relevanz der Liquordiagnostik

- K Felgenhauer: Nervensystem. In: Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage, H Greiling, AM Gressner (Hrsg), Schattauer Stuttgart, 1995.
- K Felgenhauer: Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen. In: Labor und Diagnose, 5. Auflage. L Thomas (Hrsg), TH-Books, Frankfurt/Main 1998, p.1341-1359
- K Felgenhauer, W Beuche: Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen. Thieme, Stuttgart 1999
- TO Kleine: Neue Labormethoden für die Liquordiagnostik. Thieme, Stuttgart 1980.
- H Prange, A Bitsch (Hrsg): Bakterielle ZNS-Erkrankungen bei systemischen Infektionen. Steinkopff, Darmstadt, 1998
- H Reiber: Die diagnostische Bedeutung neuroimmunologischer Reaktionsmuster im Liquor cerebrospinalis. Lab med 1995;19:444-462.
- N. Rösler, I Wichart, KA Jellinger: Aktuelle klinisch-neurochemische Diagnostik der Alzheimer-Krankheit. JLabMed 2002; 26: 139-148
- RM Schmidt: Der Liquor cerebrospinalis. Untersuchungsmethoden und Diagnostik. Band 1 + 2. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1987, 2. Auflage.
- H Tumani, K Felgenhauer. Pathophysiologie und Pathobiochemie des Liquor cerebrospinalis. In : Integrative Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, H.Renz (Hrsg.), Walter de Gruyter, Berlin 2003
- H Tumani, M Wick: ZNS und Nervensystem. In: Das Labor-Diagnose-Buch, WG Guder, NolteJ 2004 (in press)
- M Wick, A Fateh-Mohadam: Liquordiagnostik. In: Klinische Neurologie. D Pongratz (Hrsg), Urban & Schwarzenberg, München 1992, p 136-165
- U Wurster: Liquoranalytik. In: Diagnostik in der Neurologie. H Schliak, HC Hopf (Hrsg). Thieme Verlag, Stuttgart 1988, p. 212-236.
- UK Zettl, R Lehmitz, E Mix (Hrsg): Klinische Liquordiagnostik. Walter de Gruyter, Berlin 2003

Blut-Liquor-Schrankenfunktion

- J Brettschneider, A Claus, S Süßmuth, J Kassubek, H Tumani. Isolated blood-CSF-barrier dysfunction: prevalence and associated diseases. J.Neurol. 2004, in press
- K Felgenhauer, M Holzgraefe, HW Prange (Eds.): CNS barriers and modern CSF diagnostics. VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1993
- H Reiber: Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) - a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. J Neurol Sci 1994;122:189-203.
- H Reiber: The hyperbolic function: a mathematical solution of the protein flux/CSF flow model for

blood-CSF barrier function. *J Neurol Sci* 1994;126:240-242.

H Reiber: Biophysics of protein diffusion from blood into CSF: The modulation by CSF flow rate. In: *New Concepts of a Blood-Brain Barrier*. J. Greenwood, D. Begley and M. Segal (eds). Plenum Press Comp London p. 219-227.

H Reiber: Evaluation of blood-CSF barrier function and quantification of the humoral immune response within the CNS. In: *CSF Analysis in Multiple Sclerosis*. P Livrea (ed). Springer-Verlag Italia Srl. 1996.

Zytologie

HW Kölmel: *Liquor-Zytologie*. Springer Verlag, Berlin 1978.

H Kluge, V Wiczorek, E Linke, K Zimmermann, OW Witte: *Atlas der praktischen Liquorzytologie*, (im Druck)

M Oehmichen: *Cerebrospinal Fluid Cytology. An Introduction and Atlas*. Georg Thieme Publ., Stuttgart 1976.

RM Schmidt: *Atlas der Liquorzytologie*. Johann Ambrosius Barth, Leipzig, 1978

RM Schmidt: *Der Liquor cerebrospinalis. Untersuchungsmethoden und Diagnostik*. Band 1 + 2. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1987, 2. Auflage.

Neurologisch relevante Autoantikörper

R Voltz: Paraneoplastic neurological syndromes: an update on diagnosis, pathogenesis and therapy. *Lancet Neurology* 2002; 1: 294-305

M Wick: Autoantikörperdiagnostik bei myasthenen Syndromen – Methodik und klinische Bedeutung. *JLabMed* 2002; 26:149-152

Qualitätskontrolle und Beurteilungskriterien:

M Andersson et al.: Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *JNNP* 1994; 57: 897-902

TO Kleine: Qualitätskontrolle in der Liquordiagnostik: Anmerkungen zur Analyse von Proteinen und Interpretation von von Liquor/Serum-Konzentrationsquotienten sowie zu Formeln bei der Diagnostik der Blut/Liquor-Schranken-Funktion und intrathekalen Immunglobulinproduktion. *JLabMed* 2004; 28: 6-13

H Reiber: External quality assessment in clinical neurochemistry: survey of analysis for cerebrospinal fluid (CSF) proteins based on CSF/serum quotients. *Clin.Chem.* 1995; 41: 256-263

H Reiber et al.: Quality assurance for cerebrospinal fluid protein analysis: international consensus by an internet-based group discussion. *ClinChemLabMed* 2003; 41: 331-337

Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. *Deutsches Ärzteblatt* 2001, 98:2747-2759

Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriums-
medizinischer Untersuchungen. Deutsches Ärzteblatt 2003; 100: 2775-2778

Zitierte Literatur:

Eine umfassende Wiedergabe der z.T. kontroversen Original-Literatur würde den Rahmen der vorliegenden Methodenübersicht sprengen. Literaturhinweise auf Anfrage beim Herausgeber.