



LIQUORZEIT

Newsletter der DGLN

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

ein Ziel des neu gewählter Vorstands ist es die Kommunikation unter den Mitgliedern zu verbessern, aber auch gleichzeitig über Neuigkeiten informieren. Wir hoffen mit diesem Newsletter, der zunächst erstmal den Arbeitstitel „Liquorzeit“ trägt, dazu beizutragen. Gerne können Sie an diesem Prozess teilhaben und Vorschläge und Meinungen unter den Rubriken: Meinung, Journalscreen, Ringversuch, der interessante Fall an markus.otto@uni-ulm.de zu senden.

In der ersten Ausgabe des Journalscreens befassen wir uns mit drei klassischen Themen: Gibt es neue Marker bei Neurodegenerativen Erkrankungen? Wie diagnostiziere ich eine Neurosarkoidose? Sollte man die automatische Zellzählung in der Routinediagnostik einsetzen?

Insbesondere der letzte Beitrag birgt doch etwas Sprengstoff in sich, da gelegentlich ohne Wissen der behandelnden Ärzte auf die automatische Zellzählung umgestiegen wird. Jeder Neurologe weiß, welcher Mechanismus bezüglich der Folgeuntersuchungen und Therapie bei einer Zellzahl von 30 Zellen pro Mikroliter abläuft. Also hier ein eindeutiges Plädoyer für die Qualität in der Diagnostik.

Auf eine interessante Diskussion
Markus Otto

INHALT

Gibt es neue Marker bei Neurodegenerativen Erkrankungen?	1
Veranstaltungen	2
Wie diagnostiziere ich eine Neurosarkoidose?	3
Sollte man die automatische Zellzählung in der Routinediagnostik einsetzen?	4
Verleihung des Liquorpreises der DGLN	4
Neue Mitglieder der DGLN	5
Impressum	5

TDP-43 im Liquor von Patienten mit Frontotemporaler Lobärdegeneration und Amyotropher Lateralsklerose

Steinacker P, Hendrich C, Sperfeld AD, Jesse S, von Arnim CA, Lehnert S, Pabst A, Uttner I, Tumani H, Lee VM, Trojanowski JQ, Kretzschmar HA, Ludolph A, Neumann M, Otto M. TDP-43 in cerebrospinal fluid of patients with frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. Arch Neurol 2008; 65: 1481-7.

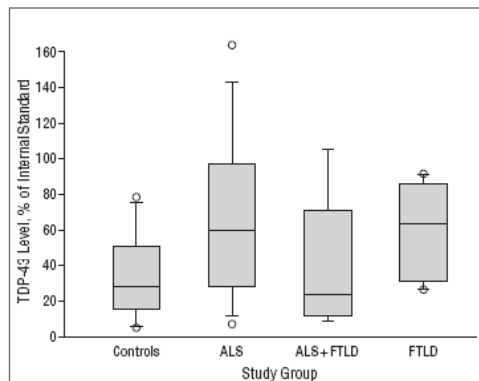
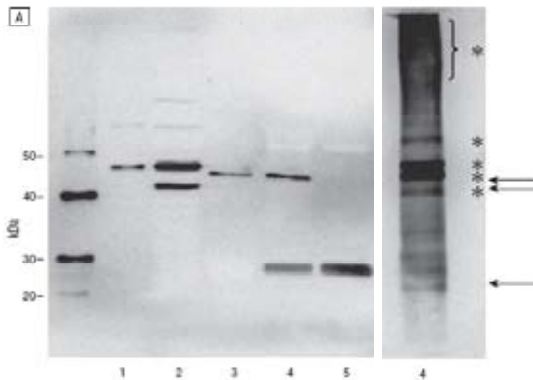
Neurodegenerative Erkrankungen können zunehmend anhand Ablagerungen, die sich im Gehirn dieser Patienten finden, charakterisiert werden. So finden man aggregiertes Prionprotein bei der Creutzfeldt-Jakob Krankheit, Amyloid- und Tauprotein-Aggregate bei der Alzheimer Demenz. Nachdem man schon länger trotz der sehr unterschiedlichen Symptomkombination von Frontotemporaler Lobardegeneration (FTLD) und der Amyotrophophen Lateralsklerose (ALS) aufgrund neuropathologischer Ähnlichkeiten einen Zusammenhang zwischen FTLD und ALS propagiert hatte, wurde 2007 von Frau Prof. Manuela Neumann (Zürich) publiziert, dass die charakteristischen Ablagerungen bei diesen beiden Erkrankungen dasselbe Protein in den charakteristischen ubiquitin-positiven Ablagerungen enthalten: das TAR-DNA binding protein 43, TDP-43. Dies wird als weiteres Indiz angesehen, dass FTLD und ALS zwei Ausprägungen innerhalb eines Erkrankungsspektrums darstellen.

Sehr wenig ist zum Zeitpunkt über TDP-43 bekannt: Es ist ein nukleäres Protein und spielt eine wichtige Rolle beim Pre-mRNA splicing und bei transkriptionaler Repression. So weiß man nun z.B. daß Mutationen im TDP-43 und im FUS/TLS, einem weiteren DNA/RNA-bindenden Protein, eine frühzeitige Degeneration von Motoneuronen triggern, so dass angenommen wird, dass Änderungen im RNA processing ein Schlüsselereignis in der Pathogenese der ALS sind.

Uns hat interessiert, ob TDP-43 im Liquor von Patienten des FTLD-ALS Spektrums nachweisbar ist und ob es – wie in den neuronalen Ablagerungen – pathologisch verändert ist, und insbesondere, ob eine Quantifizierung hilfreich sein kann bei der Diagnose. Wir untersuchten Liquor von 12 FTLD, 15 ALS, sowie 13 Kontrollpatienten. Da ca. 15% der ALS Patienten im Verlauf zusätzlich FTLD bekommen und umgekehrt, wurden neun Patienten mit ALS+FTLD

und drei Patienten mit ALS und frontaler Disinhibition, aber ohne FTLD, eingeschlossen. Diese Liquores wurden mit Western Blot analysiert, wobei verschiedene anti-TDP-43-Antikörper verwendet wurden.

Unsere wesentlichen Ergebnisse sind in der Abbildung zusammengefasst.



Mit käuflichen Antikörpern lässt sich TDP-43 in je 50µl Liquor von allen gestesteten Patienten als einzelne Bande nachweisen. Zusätzlich findet sich eine Kreuzreaktivität mit der leichten Kette der IgGs. Es findet sich nicht das charakteristische Muster aus hyperphosphoryliertem und trunziertem TDP-43, wie es für TDP-43 beschrieben ist, das aus Hirngewebe aufgereinigt wurde. Blots mit C- und T-Terminus spezifischen Antikörpern könnten aber vermuten lassen, dass das TDP-43 im Liquor N-terminal verkürzt ist. Densitometrische Quantifizierung der Blots unserer Patientenkohorten zeigen, dass es eine Tendenz zu erhöhten Werten bei ALS und FTLD gibt, die Patienten mit ALS+FTLD aber eher Werte im Kontrollbereich zeigen.

Unsere Schlussfolgerungen sind, dass Messung von TDP-43 nicht hilfreich ist in der Diagnose oder Prognose im ALS-FTLD-Spektrum, womöglich aber bei der Subklassifikation von ALS oder FTLD von Nutzen sein kann.

NACHGEFRAGT

LZ: Gegenwärtig können Sie also nicht die Messung von TDP-43 mittels Immunoblot empfehlen?

Dr. Steinacker: In Studien kann die Messung interessant sein, aber aufgrund des hohen Überlappungsbereichs der Patientenkohorten ist das sicher nichts für die Routine.

LZ: Wann wird ein ELISA für das TDP-43 zur Verfügung stehen?

Dr. Steinacker: Hieran arbeiten ein paar Gruppen und mittlerweile gibt es auch erste Publikationen hierzu. Ob diesen Ergebnissen zu trauen ist, muss abgewartet werden, da die gegenwärtigen Antikörper ungeeignet zu sein scheinen, aufgrund der Kreuzreaktivität zu den Immunglobulinen.

Frau Dr. rer. nat. Petra Steinacker: Akademische Rätin an der Neurologischen Klinik in Ulm mit dem Arbeitsschwerpunkten Neurochemie bei Neurodegenerativen Erkrankungen, Physiologie von 14-3-3 Proteinen und Prionprotein. Für diese Arbeit erhielt Frau Dr. Steinacker den Felix-Jerusalem-Preis der DGM.

VERANSTALTUNGEN

24.04.2010

4. Dresdner Liquorsymposium

16.-17.07.2010

6. Liquordiagnostikkurs in Ulm: Grundlagen und interaktive klinische Fallbeispiele
Neurologische Uniklinik im RKU

12.-16.09.2010

14th International Conference on Intracranial Pressure and Brain Monitoring in Tübingen,
www.icp2010.eu

23.-24.9.2010

Symposium der DGLN auf der DGN:

Teil 1: Labordiagnostik der Schlafstörungen

Teil 2: Frühdiagnostik der Multiplen Sklerose

Neurosarkoidose – gibt es neue diagnostische Ansätze?

Zajicek JP, Scolding NJ, Foster O et al. Central nervous system sarcoidosis – diagnosis and management. Q J Med 1999; 92: 103-117.
 Khoury J, Wellik KE, Demaerschalk BM et al. Cerebrospinal fluid angiotensin-converting enzyme for diagnosis of central nervous system sarcoidosis. Neurologist. 2009; 15: 108-111. Joseph FG, Scolding NJ. Neurosarcoidosis: a study of 30 new cases. JNNP 2009; 80: 297-304.

Bei der Sarkoidose handelt es sich um eine Systemerkrankung, am ehesten autoimmuner Genese, die mit einer Prävalenz von 50 bis 100 auf 100.000, vor allem bei Skandinaviern und Schwarzafrikanern, auftritt und in bis zu einem Drittel der Fälle mit einer Beteiligung des Nervensystems einhergeht.

Die Schwierigkeiten in der Diagnostik der Neurosarkoidose liegen darin, dass 1) die Sarkoidose bei Auftreten neurologischer Symptome in der Hälfte der Fälle unbekannt ist, 2) die Sarkoidose vielfältige klinische Erscheinungsformen haben kann, die mit anderen neurologischen Krankheitsbildern verwechselt werden können, und 3) kein klinischer oder Labortest zur Verfügung steht, der mit hinreichender Sensitivität und Spezifität die Diagnose Neurosarkoidose sichern kann.

Klinisch und bildmorphologisch bietet die Neurosarkoidose vor allen Dingen Anlass zur Verwechslung mit chronisch entzündlichen Erkrankungen des Nervensystems. Wie bei der multiplen Sklerose können beispielsweise spinale und okuläre Symptome auftreten. Kernspintomografisch findet man dabei häufig eine Leukenzephalopathie, die bildmorphologisch schwer von derjenigen bei multipler Sklerose zu unterscheiden ist. Auch die Liquorbefunde können Anlass zur Verwechslung geben, da bei beiden Erkrankungen oligoklonale Banden und eine MRZ-Reaktion auftreten können. Die Blut-Liquor-Schranke ist bei der Neurosarkoidose jedoch häufiger und in höherem Maße gestört als bei der multiplen Sklerose.

Die Neurotuberkulose bietet sowohl in ihrer granulomatösen als auch in der meningitischen Form Anlass zur Verwechslung mit einer Neurosarkoidose. Insbesondere können die Liquorbefunde wie Pleozytose, Eiweißerhöhung, Erniedrigung des Glukose-Quotienten, Laktat-Erhöhung und Zusammenbruch der Blut-Liquor-Schranke bei beiden Krankheitsbildern gefunden werden.

Schlussendlich kann die Neurosarkoidose bei meningitischer Form mit anderen Meningitiden, bei der granulomatösen Form mit Hirntumoren und bei Auftreten von Hirninfarkten mit Infarkten anderer Genese verwechselt werden.

Bislang fordern die klinischen Diagnosekriterien zum Nachweis einer sicheren Neurosarkoidose den histologischen Nachweis in einem Biopsat [Zajicek et al.].

Labortest wie die Bestimmung von Angiotensin-Converting Enzyme haben mit einer Sensitivität von 25-55% nur eine geringe Treffer-Quote [Khoury et al.].

Der lösliche Interleukin-2-Rezeptor (sIL-2-Rezeptor) als Marker der T-Zell-Aktivierung wurde bereits mehrfach als bei der Neurosarkoidose erhöht beschrieben. Allerdings ist

der Spiegel abhängig vom Aktivitätsgrad der Erkrankung und von einer Therapie mit Glukokortikoiden oder Immunsuppressiva. Eigene Untersuchungen weisen darauf hin, dass der sIL-2-Rezeptor im Liquor von Patienten mit Neurosarkoidose im Vergleich zu Gesunden, Multiple Sklerose- und Vaskulitis-Patienten erhöht sein könnte [zur Publikation eingereicht]. Die Serumwerte dagegen scheinen nicht aussagekräftig zu sein. Gegenüber der Neurotuberkulose sind die sIL-2-Rezeptorwerte im Liquor im Mittel niedriger, es bestehen aber Überlappungen in einem weiten Bereich der Messwerte.

Die neue Arbeit von Joseph und Scolding stellt erstmals die Wertigkeit verschiedener Diagnoseverfahren an für die Neurosarkoidose gegenüber [modifiziert nach Joseph & Scolding]. Dieser Tabelle ist zu entnehmen, dass die in Deutschland häufig verwendete Bestimmung des ACEs im Liquor nicht berücksichtigt wurde. Hier muss aber auch kritisch angemerkt werden, dass im Vergleich zur Originalbestimmung des ACEs und der intrathekalen Synthese des ACEs der Test-Kit in dieser Form nicht mehr existiert und mit den geänderten Test-Kits dieser Nachweis nicht vorliegt. Somit können wir die Bestimmung des ACEs im Liquor bei Verdacht auf Neurosarkoidose nicht generell empfehlen.

	Wahrscheinliche Neurosarkoidose	Definitive Neurosarkoidose
Ca 2+	10 %	k.A.
ACE (Serum)	29 %	17 %
Kveim Test	77 %	75 %
Rö.-Thorax	48 %	62 %
Extrakranielle Biopsie	88 %	ng
Hirnbioptie	100 %	100 %
Gallium 67-Szintigrafie	67 %	100% (n=1)
cMRI	88 %	100 %
Liquor (Zellzahl, Gesamteinweiß, Glukosequotient)	67 %	75 %

Literatur

Beitrag von: Priv.-Doz. Dr. Hela-F. Petereit, Klinik für Neurologie, Heilig Geist-Krankenhaus, Graseggerstr. 105, 50737 Köln, petereit@hgk-koeln.de

PD Dr. Hela-F Petereit hat über viele Jahre das Liquorlabor der Neurologischen Klinik der Universität Köln betrieben. Sie ist jetzt Chefärztin für Neurologie am Heilig Geist-Krankenhaus in Köln.

Automatisierte Liquorzytologie – Qualität zum Schnäppchenpreis?

Heller T, Nagel I, Ehrlich B, Bähr M, Strik HM. Automated CSF cytology with the Abbott CELL-DYN Sapphire™ system. Anal Quant Histol Cytol 2008, 30(3): 139-144
Strik H, Luthe H, Nagel I, Ehrlich B, Bähr M. Automated CSF cytology – limitations and reasonable applications. Anal Quant Cytol Histol 2005, 27:167-73.

Der Rationalisierungsdruck im Krankenhaus nimmt auch die Liquordiagnostik nicht aus. Die automatisierte Zählung und Differenzierung von Liquorzellen mit Zytometern wird durch die Hersteller lebhaft beworben. Verwaltungen erhoffen sich dadurch Kosteneinsparungen. Wir wollten wissen, ob die automatisierte Liquorzytologie zuverlässig und zeitsparend ist. Hierzu evaluierten wir Bayer Advia 120 und Abbot CELL-DYN Sapphire™, zwei für die Hämatologie gut eingeführte Zytometer mit Zusatzprogrammen zur Liquorzellzählung.

In zwei unabhängigen Studien ermittelten wir die Korrelation zwischen mikroskopischer und zytometrischer Liquorzellzählung und Differenzierung an jeweils gut 100 Proben. An ausgewählten Fällen analysierten wir, ob die automatisierte Zytometrie die korrekte Diagnose gestellt hätte.

Trotz etwas unterschiedlicher Methodik waren die Ergebnisse beider Apparate gut vergleichbar: Während bei Zellzahlen über 100/ μ l die automatisierte Zellzählung noch gut mit der Mikroskopie korrelierte (jeweils $R \sim 0,98$), war die Präzision bei Zellzahlen unter 25/ μ l erheblich schlechter (jeweils $R \sim 0,61$). Blutbeimengung verschlechterte die Präzision deutlich. Die Fehlerrate für die wichtige Unterscheidung zwischen normalen und erhöhten Zellzahlen lag bei 14-21%. Die Differenzierung der Zelltypen war für polymorphkernige Granulozyten und Lymphozyten mäßig (R 0,6 bis 0,9), und korrelierte für Monozyten und Eosinophile nicht mit der Mikroskopie ($R < 0,1!$). Die Erkennung von Pathologien wie Tumorzellen, Siderophagen, Mitosen oder Erregern ist bei den getesteten Zytometern überhaupt

nicht vorgesehen. So wurde eine Meningeose und die Beimengung von Knochenmarkszellen nicht erkannt. Bei einer bakteriellen Meningitis wurde die Anzahl von Gesamtleukozyten und Granulozyten unterschätzt und die mikroskopisch sichtbaren massenhaften Bakterien nicht angezeigt.

Beide Arbeiten haben belegt, dass die Differenzierung der Liquorzellen nicht akzeptabel ist und pathologische Zellen nicht erkannt werden. Die mikroskopische zytologische Beurteilung ist also durch die Zytometer nicht zu ersetzen. Selbst die Bestimmung der Gesamtzellzahl ist mit einer Fehlerrate von 14-21% für die Unterscheidung zwischen normalen und erhöhten Zellzahlen nicht ausreichend präzise. Somit sind verlässliche Diagnosen mit dem Zytometer nicht zu stellen. Zudem sind die Einsparungsmöglichkeiten mit den Apparaten fraglich. Denn die mikroskopische Zellzählung benötigt insgesamt nicht mehr als 4 Minuten. Dagegen kann schon die Spülung der Kanäle des Zytometers zur Vorbereitung der Liquoranalyse bereits bis zu 10 Minuten dauern, in denen die Arbeitszeit der MTA ebenfalls gebunden ist. Somit ist das Einsparpotenzial durch die Zytometer sehr zweifelhaft, während mit einer Qualitätseinbuße bis hin zu forensisch bedeutsamen Fehldiagnosen fest gerechnet werden kann.

Beitrag von PD Dr. Strik

Zur Person: PD Dr. Strik hat über viele Jahre die Liquordiagnostik in Göttingen betrieben mit besonderer Expertise in der Zyotologie. Seit Ende 2009 ist er in der Universitätsklinik in Marburg als Oberarzt tätig.

Verleihung des Liquorpreises der DGLN

Verleihung des Liquorpreises der DGLN an Frau Dr. Joanna Dietzel (Greifswald) und Herrn PD Dr. Manuel Maler (Erlangen)

Frau Dr. Dietzel erhielt den Preis für ihre Arbeit: Nachweis von Beta-trace-Protein in Pleuraergüssen und Aszites: Konsequenz für die Diagnostik von Liquorfisteln. Autoren dieser Arbeit sind: J. Dietzel, A. Krebs, J. Lüdemann, D. Böttcher, M. Roser und A. Dressel (Greifswald).

Herr PD Dr. Maler wurde ausgezeichnet für die Arbeit: Nachweis komplexer A β -Peptidmuster in humanem Plasma. Autoren dieser Arbeit sind: M. Maler, H. Klafki, P. Spitzer, H. Esselmann, P. Lewczuk, J. Kornhuber, J. Wiltfang (Erlangen, Essen)



Prof. M. Otto, Dr. J. Dietzel, PD Dr. M. Maler (v.l., Foto: Dr. Becker, Berlin)

NEUE MITGLIEDER DER DGLN

Prof. Dr. Martin Stangel (Hannover)
PD Dr. Maria-Lieselotte Mlynek-Kersjes (Rheinberg)
Dr. Ute Warnke (Fraureuth)
Dr. Agnieszka Piotrowicz (Lübeck)
Dr. Tobias Böttcher (Woggersin)
Dr. Regine Ratke-Borchard (Göttingen)
Dr. Margret Schnegelsberg (Seesen)
Frau Marcella Hermans (Berlin)
Dr. Johannes Schlachetzki (Erlangen)
Dr. Hans-Ulrich Sorgenfrei (Gütersloh)
Dr. David Czell (Riedikon)

IMPRESSUM

Redaktion:

Prof. Dr. Markus Otto
Dr. Dr. Manfred Uhr
Dr. Hans-Jürgen Kühn
Dr. Manfred Wick

Layout:

Alice Wittschieber

Der Inhalt des Newsletters entspricht nicht immer der Meinung der DGLN.