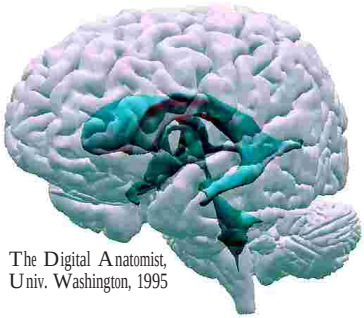


The Digital Anatomist, Univ. Washington, 1995

4. Liquor-Symposium

1997, Leipzig

→ *Inhaltsverzeichnis*

→ *Leonardo writes*

Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie (DGLN)

Abstraktband

Leonardo da Vinci, 1508

Herausgeber:

Vorstand der DGLN:

Dr. S. Scharein, Vorsitzende
Dr. U. Wurster, Stellv. Vorsitzender
Dr. E. Linke, Sekretär
Dr. R. Lehmitz, Schatzmeister

Bedeutung der Leichtketten bei entzündlichen ZNS-Erkrankungen 1
Adelmann M

PCR in Urin und Liquor bei Borreliose 3
Bamborschke S, Herpel S

Neurologische Manifestationen der Lyme-Borreliose im Kindesalter:
Diagnostik und Therapie 4
Hobusch D

Unterschiedliches Liquorprofil bei der FSME und Neuroborreliose 5
Kaiser R

Ventrikelliquor bei Blutungen in die Liquorräume 7
Kleine TO, Zilow G

Probleme und Besonderheiten in der Diagnostik des ventrikulären Liquors . . . 9
Kluge H, Mater E, Kalff R

Neuroborreliose - Klinische und therapeutische Entscheidungen 10
Kölmel HW

Liquorveränderungen bei Patienten mit Neuritis nervi optici
- Prognostische Bedeutung? 12
Lehmitz R, Höppner J, Beck R, Potemkowski A, Benecke R

Präanalytik und Analytik von Zellen des Liquor cerebrospinalis:
Beitrag zu zytologischen und immunzytologischen Methoden 13
Lehmitz R, Kleine T0

Die „MRZ-Reaktion" in der Routinediagnostik der
Enzephalomyelitis disseminata 15
Linke E, Zimmermann K

Doppelinfektion durch Borrelia burgdorferi und FSME
- ein weiterer Fallbericht 16
Linke E, Reinhöfer J, Buhr HJ

Aktivitätsmarker bei Therapiestudien der Multiplen Sklerose (MS) 17
Mix E

Immunmonitoring bei Interferon Beta-lb-therapierten Patienten
- FACS-Analysen ICAM-1 und -3 positiver Zellen 18
Oschmann P, Bauer R, Tofighi J, Engelhardt B, Schiel C, Kraus J, Hornig C, Kern A, Traupe H, Dorndorf W

Intrathekale Synthese spezifischer Antikörper bei Neuroborreliose:
Vergleich von Immunoblot, indirektem Immunfluoreszenztest und ELISA 19
Oschmann P, Schäfer C, Wellensiek HJ, Zebandt S, Dorndorfl W

Durchflußzytometrische Bestimmung der Interferon-gamma-Produktion
in Blut-Lymphozyten bei Patienten mit Multipler Sklerose 20
Petereit HF, Bamborschke S

Optimierung verschiedener DNA/RNA-Präparationsmethoden zum
Nachweis von Borrelien-Nucleinsäuren im Liquor cerebrospinalis 21
Rolfs A

Aktuelle Liquordiagnostik der Alzheimer-Krankheit 22
Rösler N, Wichart I, Jellinger K

Struktur und Tätigkeitsspektrum deutscher Liquorlaboratorien 23
Scharein S

Aktivitätsmarker bei der Multiplen Sklerose und
akutem Guillain-Barré-Syndrom 25
Sindern E, Ossege LM

Stellenwert von erregerspezifischen Antikörpersynthesen für die
Diagnostik von neurologischen Erkrankungen 27
Spitzner S, Lehmitz E

Qualitätskontrolle der JCV-PCR:
Ergebnisse einer europäischen Ringstudie 28
Weber T, Klapper PE, Cleator GM, Bodemer M, Lüke W, Knowles W, Cinque P, Van Loon AM, Grandien M, Hammarin AL, Ciardi M, Bogdanovic G

Acetylcholinrezptor-Antikörper und Kalziumkanal-Antikörper in der
Differentialdiaqnose der Myasthenia gravis versus Lambert Eaton Syndrom . 29
Wick M

Identifikation von Liquor in Sekreten 30
Wurster U

Apoptose als selektiver Zelleliminationsmechanismus 31
Zettl UK

Bedeutung der Leichtketten bei entzündlichen ZNS-Erkrankungen

Adelmann M.
Krankenhaus Weilmünster, Neurologische Klinik

Entzündliche Erkrankungen des ZNS gehen einher mit der Produktion von Immunglobulinen im ZNS. Ein Bestandteil dieser Immunglobulinmoleküle sind die sog. Leichtketten (κ,λ). Somit lag es nahe, die Bedeutung von Leichtketten für die Diagnostik entzündlicher Erkrankungen des ZNS zu untersuchen.

Ziel dieser Untersuchung war es, zu ermitteln, ob mit Hilfe einer nephelometrischen Bestimmung der Leichtketten Patienten mit entzündlichen Erkrankungen des ZNS von Patienten mit unauffälligem Liquorprofil unterschieden werden können. Weiterhin sollten Parameter etabliert werden, die eine lokale Leichketten-Produktion im ZNS anzeigen sowie die Gütekriterien Spezifität und Sensitivität für diese Parameter ermittelt werden.

Zur Auswertung wurden insgesamt 528 konsekutiv gesammelte Liquor-/Serumproben verwendet. Die Leichtketten wurden nephelometrisch bestimmt (Beckman Array 360). Benutzt wurde ein Antikörper (Beckman), der sowohl freie als auch gebundene Leichtketten nachweist. Bestimmt wurden sowohl Kappa (κ)-, als auch Lambda -Leichtketten (λ). Ermittelt wurden neben den Konzentrationen der Leichtketten im Liquor und Serum die entsprechenden Quotienten und entsprechend dem IgG-Index ein Kappa-Index, ein Lambda-Index sowie eine Kombination aus dem IgG-Index und dem Kappa-Index (Gκ-Index). Aus der Analyse der Kontrollgruppe (n=280) wurde ein Wert oberhalb der 99. Perzentile als pathologisch festgelegt. (Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software Winstat V3.01 und Sigmastat V2.0. Sämtliche Tests erfolgten auf dem 99%-Niveau [$\alpha = 0.01$]).

Es fand sich eine sehr gute lineare Korrelation zwischen der IgG-Konzentration im Liquor und der Konzentration an Kappa-Leichtketten im Liquor (r=0.99). Die nachfolgende Tabelle zeigt zusammengefaßt die statistische Auswertung der untersuchten Parameter hinsichtlich der Differenzierung, "Kontrolle" / "entzündlicher Liquor". Beste Sensitivität fand sich für eine gemeinsame Beurteilung von IgG-Index und Gκ-Index, sowie die Bestimmung der lokalen IgG-Produktion nach REIBER. Bei unbehandelten Neuroborreliosen fanden sich stets hohe λ-Konzentrationen im Liquor (im normalen Liquor stets unterhalb der Nachweisgrenze). Hinsichtlich der Leichtketten-Profile können einzelne Erkrankungen voneinander differenziert werden. Bei einigen Patienten mit entzündlichen ZNS-Erkrankungen konnte durch die Bestimmung der Leichtketten bereits eine lokale Immunreaktion nachgewiesen werden obwohl die anderen Liquorparameter noch keine Antikörper-Produktion nachweisen konnten.

Parameter	*P*	*Sensitivität*	*Spezifität*	*Grenzwert 99. Perzentile*
$\kappa_{(L)}$	*< 0.001*	*42*	*99.2*	*7.49*
Q_{κ}	*< 0.001*	*44*	*99.2*	*7.16*
$\lambda_{(L)}$	*< 0.001*	*31*	*99.6*	*5.0*
$\kappa/\lambda_{(L)}$	*< 0.001*	*31*	*99.2*	*1.49*
κ- Index	*< 0.001*	*13*	*99.2*	*1.55*
Gκ- Index	*< 0.001*	*60*	*98.9*	*4.09*
$IgG_{(loc)}$	*< 0.001*	*52.2*	*99.6*	*0*
$\kappa_{(S)}$	*0.842 (n.s.)*			
$\kappa/\lambda_{(S)}$	*0.725 (n.s.)*			
IgG - Index	*< 0.001*	*67*	*97.8*	*0.65*
IgG - Index + Gκ- Index		*76*	*98.0*	

Die Bestimnung der Leichtketten mit Hilfe der Nephelometrie ist eine einfache, in der Praxis leicht durchführbare Methode. Durch die Bestimmung einer lokalen Leichtketten-Produktion im ZNS können mit hoher Spezifität Patienten mit entzündlichen ZNS-Erkrankungen identifiziert werden. Durch Senkung der Nachweisgrenze darf eine höhere Sensitivität erwartet werden.

zum Inhaltsverzeichnis

PCR in Urin und Liquor bei Borreliose

Bamborschke S. und S. Herpel
Universität Köln, Klinik für Neurologie

Einleitung:

Der kulturelle Erregernachweis ist bei Borrelieninfektionen schwierig und in der Praxis ohne Bedeutung. Deshalb erfolgt die Diagnosesicherung im allgemeinen serologisch im Blut und bei Verdacht auf eine Neuroborreliose durch Nachweis einer spezifischen intrathekalen Antikörpersynthese. Serologische Tests haben jedoch Nachteile bei Frühstadien der Erkrankung, atypischen Verläufen und bei Therapie- und Verlaufskontrollen. Deshalb erscheint es sinnvoll, die PCR als hochempfindlichen Erregernachweis einzusetzen. In der vorliegenden Studie soll die Wertigkeit der PCR in Liquor und Urin bei Patienten mit einer Borrelieninfektion untersucht werden.

Methoden und Ergebnisse:

Es wurde ein spezifischer Abschnitt aus dem Flagellin-Gen von Borrelia burgdorferi amplifiziert. Die Methode erfaßte die Stämme sensu strictu, garinii und afzelii und hatte eine Empfindlichkeit von ca 10 fg Borrelien-DNA. Wir untersuchten mittels PCR insgesamt 227 Liquorproben und 186 Urinproben bei Patienten mit Verdacht auf eine Borrelieninfektion. Darunter waren 51 Patienten mit einer klinisch typischen und serologisch nachgewiesenen Neuroborreliose Bannwarth. Eine positive Liquor-PCR fand sich bei 16 dieser Patienten (31.3 %). Bei 4 zusätzlichen Patienten mit Liquorpleozytose und klinischen Zeichen eines M. Bannwarth konnte die Erkrankung nur durch eine positive Liquor-PCR gesichert werden. Bei 10 Patienten mit gesicherter Neuroborreliose wurden parallel Liquor- und Urin-PCR-Untersuchungen durchgeführt. Bei 1 Patienten fand sich ein positives Ergebnis in beiden Untersuchungen, bei 2 Patienten entweder im Liquor oder im Urin. Von den 176 Patienten, bei denen die Urin-PCR durchgeführt wurde, zeigten 8 ein positives Ergebnis. Dazu gehörten 3 Patienten mit Neuroborreliose, davon 1 mit Langzeitpersistenz des Erregers nach Penizillintherapie, 1 in Blut und Liquor seronegativer Patient mit klinischen Zeichen der Neuroborreliose, 3 Patienten mit Lyme-Arthritis und ein asymptomatischer seropositiver Patient nach Zeckenbiß. Alle 30 Kontrollpatienten mit anderen entzündlichen Erkrankungen des Nervensystems waren in Liquor und Urin PCR-negativ.

Schlußfolgerung:

Die PCR kann die herkömmlichen Antikörpertests für die Diagnose der Lyme-Neuroborreliose nicht ersetzen, ist aber ein wertvolles Zusatzverfahren insbesondere bei atypischen Fällen und zur Therapie- und Verlaufskontrolle.

zum Inhaltsverzeichnis

Neurologische Manifestationen der Lyme-Borreliose im Kindesalter: Diagnostik und Therapie

Hobusch D.
Universität Rostock, Kinder-und Jugend-Klinik

Eine der häufigsten Manifestationen der Lyme-Borreliose im Kindesalter im europäischen Raum ist die Neuroborreliose. Das klinische Spektrum umfaßt verschiedene Krankheitsbilder wie z. B. isolierte Hirnnervenparesen, Meningitis, fokale Enzephalitis und chronische Kopfschmerzen, z.T, in kombinierter Form. Meist handelt es sich um Facialisparesen und seröse Meningitiden. Die Diagnostik basiert auf anamnestischen Angaben, den klinischen Befunden - wobei meningitische Zeichen vielfach fehlen -, dem Ergebnis der Liquoruntersuchung sowie dem Nachweis spezifischer Antikörper im Liquor cerebrospinalis. Auf die diagnostische Wertigkeit der einzelnen unspezifischen und spezifischen Befunde wird eingegangen. Die Kombination Pleozytose mit Lymphozytendominanz, Schrankenstörung und eine vorherrschende zelluläre und intrathekale humorale IgM-Antwort sind unspezifische Liquorbefunde, die für das Vorliegen einer Neuroborreliose sprechen. Die Bestimmung des spezifischen Antikörperindex nach REIBER und der Westernblot sind für den Nachweis einer beweisenden intrathekalen, erregerspezifischen Antikörperbildung besonders geeignet. In Einzelfällen bleibt die Diagnostik wegen besonderer Befundkonstellationen und einer deutlichen Abhängigkeit der Befunde von Stadium und Dauer der Erkrankung schwierig. Für die Behandlung ist eine parenterale antibiotische Therapie unerläßlich. Als Mittel der ersten Wahl sind Cephalosporine der dritten Generation anzusehen.

zum Inhaltsverzeichnis

Unterschiedliches Liquorprofil bei der FSME und Neuroborreliose

Kaiser R.
Universität Freiburg, Neurologische Klinik

Die beiden in Europa wichtigsten durch Zecken übertragenen Erkrankungen des Nervensystems sind die Neuroborreliose (NB) und die Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME). Im Unterschied zur NB verläuft die FSME meist akut und geht mit hohem Fieber und Kopfschmerzen einher. Beiden Erkrankungen gemeinsam sind Paresen der Hirn- und Spinalnerven, enzephalitische und myelitische Syndrome. Die unterschiedliche Ätiologie und Dynamik der ZNS-Infektion läßt auch Unterschiede im Liquorprofil erwarten. Unter diesem Aspekt wurden verschiedene Liquorparameter bei 80 Patienten mit einer FSME und 73 Patienten mit einer NB hinsichtlich ihres Stellenwertes zur Differentialdiagnostik beider Erkrankungen analysiert. Verglichen wurde die Häufigkeit pathologischer Befunde und das Ausmaß der Veränderungen bei folgenden Parametern: Zellzahl und Zellbild, Blut-Liquor-Schrankenfunktion, intrathekale Immunglobulinsynthese (IgG, IgM, IgA), erregerspezifische Antikörpersynthese, Autoantikörper gegen neuronale Proteine in Serum und Liquor. Die Unterschiede in der Häufigkeit eines pathologischen Merkmals wurden mit dem Chi-Quadrattest, die Unterschiede in der Merkmalsausprägung im T-Test verglichen.

Eine Pleozytose fand sich bei der FSME ähnlich häufig wie bei der NB, die Zellzahlen im Liquor waren bei der NB jedoch deutlich höher als bei der FSME. Patienten mit einer FSME wiesen in den ersten Erkrankungstagen meist eine deutliche granulozytäre Pleozytose auf, bei der NB hingegen imponierten typischerweise aktivierte Lymphozyten und Plasmazellen.

Beide Infektionen führten bei etwa 80 % der Patienten zu einer vermehrten Durchlässigkeit der Blut-Liquor-Schranke. Das Ausmaß der Veränderung war bei Patienten mit einer NB jedoch signifikant stärker als bei der FSME. Patienten mit einer NB wiesen signifikant häufiger eine intrathekale IgG-Synthese auf, unabhängig davon, ob dieser Parameter qualitativ oder quantitativ bestimmt wurde. Eine IgM-Synthese fand sich bei beiden Diagnosegruppen ähnlich häufig, Patienten mit einer NB produzierten jedoch deutlich mehr IgM als solche mit einer FSME. Intrathekal gebildetes IgM zeigte bei der FSME immer ein poliklonales, bei der NB jedoch meist ein oligoklonales Verteilungsmuster. Eine IgA-Synthese fand sich bei der NB häufiger als bei der FSME, auch die Syntheserate lag bei der NB höher als bei der FSME.

Erregerspezifische IgM-Antikörper im Serum ließen sich bei 99 % der Patienten mit einer FSME, jedoch nur bei 40 % der Patienten mit einer NB nachweisen. Dagegen waren erregerspezifische IgG-Antikörper bei beiden Erkrankungen bei der Erstunter-

suchung in ca. 90 % nachweisbar. Die Bestimmung des erregerspezifischen Antikörperindexes ergab bei der FSME eine etwas höhere Sensitivität (IgM: 60 %, IgG: 79 %) als bei der NB (IgM: 50 %, IgG: 70 %). Unter Berücksichtigung beider Indices (IgG und/oder IgM) fand sich kein relevanter Unterschied zwischen beiden Erkrankungen (FSME: 82 %, NB: 84 %).

IgG-Auto-Antikörper gegen gliale und neuronale Proteine ließen sich sowohl im Serum als auch im Liquor häufiger bei der NB nachweisen. Bei den IgM-Reaktionen im Serum hingegen bestand kein Unterschied in der Nachweishäufigkeit zwischen beiden Erkrankungen.

Zusammenfassend führt die NB zu einer stärkeren Entzündungsreaktion im Liquorkompartiment als die FSME, erkennbar an einer deutlicheren Schrankenstörung und einer häufigeren und stärkeren humoralen Immunreaktion.

zum Inhaltsverzeichnis

Kleine T.O. und Zilow G.
Universität Marburg, MZ Nervenheilkunde, Funktionsbereich Neurochemie
Universität Heidelberg, Institut f. Immunologie

Blutungen in die Liquorräume treten hauptsächlich bei Subarachnoidalblutungen und intrazerebralen Blutungen mit Ventrikeleinbruch auf. Hier werden Befunde von 150 Ventrikel-Drainage-Liquores zusammenfassend dargestellt. Normalerweise ist der Ventrikel(V)-Liquor eine zell- und proteinarme, klare und farblose Flüssigkeit, die sich vom Lumbal(L)-Liquor deutlich in seiner Zusammensetzung unterscheidet: z.B. in Zellzahl: V: 0-1; L: 0-5 Leukozyten/µl (Granulozyten und Erythrozyten sind normalerweise nicht im Liquor zu finden); im Gesamtproteingehalt: V: 50-180; L: 210-420 mg/l; im L-Lactatgehalt: V: 0,9-2,5; L: 1,5-2,1 (2,6) mmol/l. (Werte für Erwachsene). Der Gehalt von D-Lactat, einem spezifischen Bakterienmetaboliten, liegt normalerweise bei ≤ 0.1 (0.2) mmol/l. Hier sollen für die Liquordiagnostik wichtige Zeichen und Reaktionen kurz dargestellt werden:

Blutungszeichen: Frische Blutung (Alter ≤ 4h): Aussehen: rosa-trüb, entzellt: klar farblos bis xanthochrom, Bilirubinnachweis negativ, Erythrozytenzahl > bis >>> 1000/µl (abhängig von der Drainageeinstellung), Leukozytenzahl (≤ 1-2 pro 1000 Erythrozyten; - ältere Blutung (Alter > 4h): Aussehen: rosa-klar bis hämolytisch, Erythrozytenzahl >< 1000/µl, Leukozytenzahl ≥ 2 pro 1000 Erythrozyten; - alte Blutung (Alter > 3d): Aussehen: xanthochrom-klar, Bilirubinnachweis positiv, Erythrozytenzahl (<< 1000/µl, Leukozytenzahl ≥ 5/µl. - Es werden Mischformen dieser Blutungszeichen beobachtet, was eine exakte zeitliche Zuordnung der Blutung erschwert; die Sickerblutung weist alle drei Zeichen gleichzeitig auf.

Blut/Hirn-Schranken(BHS)-Durchlässigkeit: Der Eintritt von Blut in den V-Liquor imitiert einen (partiellen) Zusammenbruch der BHS-Funktion. Sein Ausmaß korreliert mit der Erythrozytenzahl: ca. 10 mg Gesamtprotein pro 1000 Erythrozyten/µl; Abweichungen weisen u.a. auf Hämolyse, Gewebszerstörung, Entzündungen hin.

Zelluläre Reaktionen: Aseptische Entzündung bei der älteren Blutung mit relativer Pleozytose (nach Abzug von ≥ 1-2 Leukozyten/µl pro 1000 Erythrozyten/µl) und granulozytärer Reaktion; L-Lactat erhöht (< 3,5 mmol/l), D-Lactat normal; - bakterielle Entzündung unterscheidet sich von aseptischer Entzündung durch D-Lactat ≥ 0,2 mmol/l, L-Lactat ≥ 3,5 mmol/l; Bakteriennachweis fakultativ; phagozytäre Reaktionen mit Erythrophagen bei frischen und älteren, Siderophagen bei älteren und alten Blutungen sind im Drainage-Liquor selten; - bakterielle Kontamination des Drainage - Systems mit Nachweis von Bakterien zeigen keine ausgeprägten zellulären und humoralen Reaktionen. - Hiervon schwer abzugrenzen sind Blutungen mit L-Lactat-Erhöh-

ungen von ≥ 3 mmol/l mit/ohne zelluläre Entzündungsreaktionen bei Infarkt oder Gefäßspasmen; erhöhte D-Lactatgehalte (≥ 0,2 mmol/l) zeigen bakterielle Erreger im ZNS an.

Aktivierung des Komplementsystems: Bei frischen und älteren Blutungen werden der klassische und der alternative Weg im V-Liquor aktiviert (Meßgröße: C1rsC1-Inaktivator > 0,3 kU/l bzw. C3b(Bb)P > 2 kU/l), [kaum im Blutplasma], mit 3-4facher Zunahme des C3-Spaltproduktes C3a-desArg, was mit dem Auftreten von Vasospasmen und vermehrter BHS-Durchlässigkeit in Zusammenhang steht.

Nachweis von Proteasenaktivität: Bei frischen und älteren Blutungen werden erhöhte Aktivitäten (> Blutplasma) im V-Liquor nachgewiesen, wie z.B. Serinproteasen und Cysteinproteasen, was eine Gewebeschädigung anzeigt.

Zusammengefaßt stellen Blutungen in die Liquorräume nicht eine einfache Mischung von Blut mit Liquor dar, sondern weisen spontane Veränderungen auf, die bei artifizieller Blutbeimengung nicht gefunden werden.

zum Inhaltsverzeichnis

Probleme und Besonderheiten in der Diagnostik des ventrikulären Liquors

Kluge H., Mater E. und Kalff R.
FSU Jena, Klinik f. Neurologie, Funktionsbereich Neurobiochemie und Klinik für Neurochirurgie

In Auswertung der Untersuchungen von über 250 ventrikulären Liquores mit Verläufen über bis zu 15 aufeinander folgenden Tagen können folgende Schlußfolgerungen gezogen werden :

1. Aufgrund der zur Gewinnung ventrikulären Liquors notwendigen chirurgischen Eingriffe (externe Ventrikeldrainagen etc.) auftretenden unspezifischen Reizsymptome, sowie möglichen geringgradigen Einblutungen und Materialunverträglichkeiten kann das Liquorzytogramm vor allem in Richtung hoher Granulozytenwerte so stark verschoben werden, daß der Verdacht einer bakteriellen Meningitis geäußert werden muß. Wegen der generell, zumeist in Kombinationen durchgeführten Antibiotika-Behandlung der Patienten von Anfang an, gelingt aber häufig kein mikrobiologischer Erregernachweis durch Anzüchtung. In Verlaufsuntersuchungen werden Beispiele für sowohl reine Reizpleozytosen erheblichen und damit eine Infektion möglich erscheinen lassenden Ausmaßes, als auch Pleozytosen mit gesichertem Erregernachweis vorgestellt. Die Beispiele deuten auf die diffizile Problematik.

2. Die Nutzbarkeit des Reiber-Schemas zur Beurteilung des humoralen Immunstatus auch für ventrikulären Liquor wird in Publikationen und Arbeitsanleitungen allgemein beschrieben. Im Idealfall ist dies auch nicht bestreitbar. Sehr häufig unvermeidbare praktische Aspekte stehen dem allerdings vielfach entgegen :

Die bedeutend niedrigeren normalen Ausgangskonzentrationen des Albumins und der Immunglobuline IgG, IgA und IgM im ventrikulären gegenüber dem lumbalen Liquor, sowie das viel geringere ventrikuläre Aufnahmevolumen können durch geringste, visuell nicht sichtbare Blutbeimengungen (häufig praktisch nicht vermeidbare artifizielle Blutanteile oder Mikroeinblutungen) derart verändert werden, daß ihre Auswertung im Reiber-Schema zu fehlerhaften Ausdeutungen führen kann. Ein Simulationsmodell und praktische Beispiele, vor allem die Liquor(ventr.)/Serum-Quotieten von IgM und IgA betreffend, werden vorgestellt.

Aus 1. und 2. ergibt sich die generelle Schlußfolgerung, daß bei Untersuchungen ventrikulärer Liquores die Korrespondenz zwischen Neurochirurgen / Intensivmediziner, Mikrobiologen und Liquoranalytiker nicht intensiv genug sein kann. Den Ergebnissen werden einleitend einige Grundlagenbetrachtungen vorangestellt.

zum Inhaltsverzeichnis

Kölmel H.W.
Klinikum Erfurt, Klinik für Neurologie

Die Neuroborreliose ist anhand ihres klinischen Bildes und ihres Laborbefundes leicht zu diagnostizieren, auch wenn ein Großteil der Patienten sich nicht an einen Zeckenstich erinnert und die dermatologischen Symptome entweder nicht auftreten oder schon abgeklungen sind. In Europa kommen als Erreger drei Borrelien-Spezies infrage, für neurologische Symptome wird besonders Borrelia garinii verantwortlich gemacht. Die Infektion durchschreitet klinisch drei Stadien, die nicht scharf voneinander getrennt werden können. Die Neuroborreliose macht sich erst Wochen nach dem Zeckenstich bemerkbar. Die sog. chronische Neuroborreliose oder Borreliose des Stadiums III manifestiert sich Monate nach dem Zeckenstich und in der Regel als Enzephalomyelitis. Am häufigsten werden das Bannwarth-Syndrom, die Meningitis - meist mit peripherer, nicht selten doppelseitiger Fazialisparese - oder die schmerzhafte Radikulitis beobachtet. Zahlreiche seltene Symptome haben das Spektrum der klinischen Möglichkeiten stark erweitert. So sind neuroopthalmologische, zerebrovaskuläre, muskuläre Symptome oder solche des peripheren Nervensystems beschrieben worden und haben Spekulationen ausgelöst, daß diese oder jene ätiologisch noch ungeklärte neurologische Erkrankung ebenfalls durch Borrelien hervorgerufen sei.

Viele Beschwerden - chronische Kopfschmerzen, Müdigkeit, Depression, Schmerzen, Mißempfindungen, Schwindel, Schlaflosigkeit - werden als Spät- oder als Postsyndrom der Borreliose zugerechnet. Eine sichere Zuordnung ist meist nicht möglich, häufig sind die Beschwerden nicht mehr als Zeichen der behandlungsbedürftigen Infektion sondern als Ausdruck einer bestimmten Psychopathologie zu werten. Auch letztere Patienten geben häufig unter einer erneuten Antibiotikagabe Beschwerdebesserung oder vorübergehende Beschwerdefreiheit an, was Betroffene und Selbsthilfegruppen in der Auffassung bestärkt, auch diese Symptome seien direkter Ausdruck der ungenügend behandelten Infektion.

Der Erreger läßt sich nur selten in Blut oder Liquor nachweisen. Serologische Untersuchungen unterstützen die klinische Diagnose, bestätigen sie allerdings nicht durchweg. Zu empfehlen sind ELISA und Westernblot. Die PCR hat eine hohe Spezifität, dafür jedoch eine nur mäßige Sensitivität. Bei der Interpretation der Befunde muß die hohe Durchseuchung berücksichtigt werden, die mit der ELISA-Methode je nach Risiko-Population zwischen 6 und 20% beträgt. Die Titer sinken nach erfolgreicher Therapie in der Regel, ihre Bewegungen sind aber so unberechenbar, daß sie

nicht als sicheres Erfolgskriterium der Therapie verwertet werden können. Auch eignen sie sich für die Entscheidung, ob eine Therapie überhaupt notwendig ist, kaum. Borrelienspezifische Banden im Westernblot und in der isoelektrischen Fokussierung können noch Jahre nach überstandener Infektion nachgewiesen werden und bleiben bei manchen Menschen als Seronarbe ein Leben lang.

Die Neuroborreliose soll zwar in vielen Fällen spontan ausheilen, sie nicht antibiotisch zu behandeln, ist aber falsch. Cephalosporine der dritten Generation haben sich als Mittel der ersten Wahl durchgesetzt. Die Behandlungszeit z.B. für Ceftriaxon 2g/die beträgt mindestens 14 Tage. Längere Behandlungszeiten - bis zu 28 Tagen scheinen sich wegen der gelegentlich beobachteten Therapieversager durchzusetzen. Verschiedene Therapieregime, etwa die der gepulsten Antibiotikagabe sind in Erprobung. Wir empfehlen eine Kontrolle der Liquorwerte 3 bis 6 Monaten nach der Therapie. Wird dann immer noch eine lymphozytäre Pleozytose beobachtet und sind die Antikörper im Liquor weiterhin hoch, sollte ein zweiter Therapiezyklus, möglicherweise mit höherer Dosierung und längerer Anwendung, durchgeführt werden.

zum Inhaltsverzeichnis

Liquorveränderungen bei Patienten mit Neuritis nervi optici - Prognostische Bedeutung?

Lehmitz R., Höppner J., Beck R., Potemkowski A. und Benecke R.
Universität Rostock Zentrum f. Nervenheilkunde,
Klinik f. Neurologie und Poliklinik, Augenklinik und Poliklinik,
Med. Akademie Szczecin Klinik f. Neurologie

Die monosymptomatische Neuritis nervi optici (NNO) ist oft klinische Erstmanifestation einer Multipien Sklerose (MS). Die Angaben zur Risikohäufigkeit variieren in der Literatur zwischen 11.5% - 85%. Auch die prognostische Wertigkeit entzündlicher Liquorveränderungen in der Akutphase einer NNO in Richtung der Manifestation einer MS wird unterschiedlich bewertet. Positive Korrelationen zwischen Nachweis oligoklonaler Banden im Liquor und Entwicklung einer MS wurden bereits beschrieben. Hingegen ist die prognostische Bedeutung der polyspezifischen lmmunantwort gegen neurotrope Viren (MRZ-Reaktion), wie sie beispielsweise bei bis zu 94% der MS-Patienten vorkommt, noch unklar.

Wir untersuchten 24 NNO-Patienten im Alter zwischen 15-52 Jahren, davon 21 Frauen und 3 Männer, im Akutstadium der Erkrankung ophthalmologisch, neurologisch, kernspintomografisch und liquorologisch. Bei 12 Patienten wurden weiterhin motorisch evozierte Potentiale (MEP) abgeleitet. Pathologische Liquorveränderungen zeigten sich bei 22 dieser Patienten. Dabei wiesen 17 Patienten oligoklonale Banden und 15 eine positive MRZ-Reaktion auf. Das zerebrale MRT war in 15 der Fälle unauffällig und wies bei 6 Patienten mehr als zwei demyelinisierende Herdbildungen auf.

Zusammenfassend läßt sich schließen, daß im Akutstadium der NNO häufiger entzündliche Liquorveränderungen als MS-typische MRT-Befunde zu erheben sind. Umfangreichere Studien lassen Rückschlüsse auf die prognostische Bedeutung von Liquorveränderungen einschließlich positiver MRZ-Reaktion für den Verlauf der Erkrankung erwarten.

zum Inhaltsverzeichnis

Präanalytik und Analytik von Zellen des Liquor cerebrospinalis: Beitrag zu zytologischen und immunzytologischen Methoden

*Lehmitz, R. und Kleine T.O.**

*Universität Rostock, Zentrum für Nervenheilkunde, Klinik für Neurologie und Poliklinik; *Universität Marburg, Zentrum für Nervenheilkunde, Funktionsbereich Neurochemie.*

Für die Liquorzytologie kommen heute hauptsächlich Zentrifugations- und Sedimentationstechniken zur Anwendung. Da Zellausbeuten und damit Differenzierungsergebnisse bzw. Verteilung der Zellpopulationen von der angewendeten Zellanreicherungstechnik abhängen, müssen für die einzelnen Verfahren spezifische Normalbereiche erarbeitet werden, die bei der zellulären Befundung zu berücksichtigen sind. Um vergleichbar und optimale Ergebnisse zu erhalten, sollten Präanalytik und Analytik der Liquorzellen standardisiert werden.

Hier werden die Standardbedingungen für die Zytozentrifugation mit der Hettich-Zytozentrifuge dargestellt, die sich in der Routine bewährt haben. Die Hettich-Zytozentrifugen-Technik wird mit der gebräuchlichen Sedimentkammer-Methode verglichen, wobei Zellausbeuten von kleiner 10% bei der Sedimentkammer-Methode im Vergleich zu größer 45% bei der Hettich-Zytozentrifugen-Technik hervorzuheben sind. Dies führt zu unterschiedlichen Differenzierungsergebnissen mit relativ höheren prozentualen Anteilen an Monozyten bei der ersteren und höheren Anteilen an Lymphozyten bei der zweiten Technik.

Eine Beschichtung der Objektträger mit Polykationen erbringt eine verbesserte Zellausbeute besonders für zellarme Liquorproben sowohl für die Sedimentkammer-Methode als auch für die Hettich-Zytozentrifugen-Technik. Allerdings erreichen die Zellausbeuten der Sedimentkammer-Methode nicht diejenigen der Hettich-Zytozentrifugen-Technik. Es wird ein Test zur Wirksamkeitsüberprüfung von selbst-beschichteten Objektträgern mit Erythrozyten als Indikatorzellen vorgestellt. Auf die zeitlich begrenzte Wirksamkeit von Polykationen-beschichteten Objektträgern wird hingewiesen.

In der immunzytochemischen Analytik von Liquorzellen (sowohl intrazellulär als auch zur Zellphänotypisierung) hat sich die Färbevorrichtung „Immunette“ (ProMedeus Immuntechnologie) für Zytozentrifugenpräparate mit Polykationen-beschichteten Objektträgern bewährt. Eine Vorrichtung erlaubt die parallele Bearbeitung von 10 Zytopräparaten.

Es werden zytologische Präparate (Standardfärbungen, Immunzytochemie) von mit der Hettich-Zytozentrifugen-Technik sowie mit der Sedimentkammer-Methode präparierten Liquorzellen bei entzündlichen und malignen Erkrankungen sowie bei ZNS-Blutungen präsentiert.

Zusammenfassung:

Die Hettich-Zytozentrifugen-Technik erscheint zur Standardisierung von Präanalytik und Analytik der Liquorzellen geeignet. Polykationen-beschichtete Objektträger bringen verbesserte Zellausbeuten. Zur Standardisierung der immunzytochemischen Analytik ist die Färbevorrichtung „Immunette“ geeignet. Hettich-Zytozentrifugen Technik und „Immunette“ bringen reproduzierbare Ergebnisse von guter Qualität, die Voraussetzung für eine eindeutige Befundung in der Liquorzytologie sind.

zum Inhaltsverzeichnis

Die „MRZ-Reaktion“ in der Routinediagnostik der Enzephalomyelitis disseminata

*Linke E., Zimmermann K.**

LFKH f. Psychiatrie u. Neurologie Stadtroda, Zentrallabor;
**Gemeinschaftspraxis f. Laboratoriumsmedizin, Liquorlabor, Arnsdorf.*

Die polyspezifische Synthese erregerspezifischer Antikörper im ZNS, inzwischen weithin als „MRZ-Reaktion“ bekannt, steht offenbar mit dem pathologischen Substrat der MS der autoimmunologisch verursachten Demyelinisierung von ZNS-Arealen im Zusammenhang und besitzt auf diese Weise eine höhere Spezifität als allgemein-entzündliche Veränderungen. Realitätsferne Vorstellungen vieler Anforderer über das Erscheinungsbild der MRZ-Reaktion einerseits und die Gefahren der Fehlinterpretation bestimmter Befundkonstellationen bildeten den Hintergrund für eine Analyse der MRZ-Reaktion in der Routine-Liquordiagnostik. Es zeigt sich, daß mit einer so von den meisten Einsendern erwarteten ZNS-eigenen AK-Synthese aller drei Erreger - Masern, Röteln, Varizellen - nur in 17% aller MS-Fälle zu rechnen ist. Die Kombination zweier Antikörperindex-Erhöhungen kann dagegen mit 42% wesentlich häufiger erwartet werden. Die Kombination erhöhter VZV- und Röteln-AI-Werte sowie die monospezifische Röteln-AI-Erhöhung kommen im Rahmen von gesicherten MS-Erkrankungen allerdings deutlich seltener als andere Kombinationen vor. Eine besondere Problematik der differentialdiagnostischen Befundbewertung ergibt sich für alle die Fälle, die als monospezifische ZNS-eigene Antikörpersynthesen imponieren. Die ungeprüfte Einordnung aller AI-Erhöhungen nur eines Erregers als positive MRZ-Reaktion birgt die Gefahr in sich, vor allem floride und subakute spezifische Infektionen zu übersehen. Dies gilt unseres Erachtens insbesondere für die solitäre VZV-AI-Erhöhung in Kombination mit einer für MS weniger typischen oder einer mehrdeutigen klinischen Symptomatik. Erst nach Befundergänzung durch die Serologie der erregerspezif. IgM oder auch IgA-Antikörper sowie einer kritischen Prüfung der klinischen Symptomatik, sollte die einzelne AI-Erhöhung als positive MRZ-Reaktion im Sinne einer polyspezifischen Reaktion gewertet werden. Es ist zu prüfen, ob diesem Sachverhalt entsprechend in den Liquorbefunden das Vorliegen von „komplett positiver“ oder „teilpositiver“ MRZ-Reaktionen mitgeteilt werden sollte. Wenn davon ausgegangen wird, daß die polyspezifische Antikörpersynthese im ZNS ein spezifisches Zeichen der Aktivierung des immunologischen Netzwerkes durch den chronisch verlaufenden Autoimmunprozeß bei MS oder verwandten Erkrankungsprozessen ist, muß der positiven MRZ-Reaktion auch bei jenen MS-Verdachtsfällen ein besonderes diagnostisches Gewicht beigemessen werden, bei denen weitere charakteristische Liquorveränderungen, wie oligoklonale Banden oder immunkompetent geprägte Zellbilder fehlen. Ergänzend wird das Erscheinungsbild der MRZ-Reaktion in der Kombination mit anderen wesentlichen liquordiagnostischen Parametern - intrathekale Ig-Synthesen, Nachweis oligoklonaler Banden, der Zellzahl und dem Zellbild besprochen.

zum Inhaltsverzeichnis

Doppelinfektion durch Borrelia burgdorferi und FSME - ein weiterer Fallbericht

Linke E., Reinhöfer J. und Buhr H.J.**
LFKH f. Psychiatrie und Neurologie Stadroda, Liquorlabor;
**Laborpraxis Greiz*

Hendrik S., ein 7-jähriger in Südthüringen wohnhafter, normal entwickelter Knabe kam vier Tage nachdem nacheinander Appetitlosigkeit, Antriebsminderung, erhöhtes Schlafbedürfnis, schließlich diffuse Kopfschmerzen und später im Hinterkopf und Nackenbereich lokalisierte Schmerzen aufgetreten waren, zur stationären Aufnahme. Auslösend für die Überweisung in eine Kinderklinik waren schließlich das Hinzukommen subfebriler Temperaturen bis max. 37,8 C und vor allem ein temporäres Nichtreagieren auf Ansprache. Zeitgleich mit der stationären Aufnahme stellte sich ein leichter Meningismus ein, der zusammen mit einem allgemein verändertem EEG die Indikation zur Durchführung einer LP komplettierte. Der pathologische Liquorbefund beschrieb eine Meningoencephalitis (ZZ=54 Mpt/l mit 56 % Lymphozyten, 6 % neutroph. Granulozyten, 2 % aktiv. Lymphozyten; 41 %-ige intrathekale IgM-Synthese),deren Ursache recht schnell einer Borrelieninfektion des ZNS zugeordnet werden konnte (Borr.b.-IgM-AI=3,6, Borr.b.-IgG-AI=0,8). Die gleichzeitig durchgeführte FSME-Diagnostik ergab überraschend einen suspekten erregerspezif. IgG-Antikörperindex von 1,4 und einen erhöhten erregerspezif. IgM-AK-Titer im Serum, welch letzterer das Vorliegen einer zeitgleichen floriden FSME-Infektion nahelegte. Das inzwischen eingetretene mittelschwere Krankheitsbild besserte sich im Verlauf der zweiten Behandlungswoche während der Therapie mit Rocephin sowie zahlreichen begleitenden symptomatisch-therapeutischen Maßnahmen. Die nach eingetretener Rückläufigkeit der klinischen Symptomatik und beginnender Stabilisierung des Allgemeinzustandes 9 Tage nach der Erst-LP durchgeführte Kontroll-LP erbrachte einen weiteren pathologischen Liquorbefund (ZZ=20 Mpt/l mit 100 % Lymphozyten; 22%ige intrathekale IgM-Synthese) und bestätigte den serologischen Befund einer Doppelinfektion mit ZNS-Beteiligung auf eindrucksvolle Weise (Borr.b.-IgM-AI=6,0, Borr.b.-IgG-AI= 2,9; FSME-IgG-AI=2,7, FSME-IGM-AK im Serum weiterhin positiv). Eine 11 Wochen nach Erkrankungsbeginn bzw. 6 Wochen nach abgeschlossenem Krankenhausaufenthalt durchgeführte weitere Kontroll-LP bestätigte die übrigens defektfreie Sanierung der Meningoencephalitis (ZZ=2 Mpt/l mit 60 % Lymphozyten, mit 8 % grenzwertige intrathekale IgM-Synthese) ließ aber auch im Rahmen eines "nachhängenden" Liquorrestbefundes nochmals die wahrscheinlich durchgemachte Doppelinfektion deutlich werden (Borr.b.-IgM-AI=2,0, Borr.b.-IgG-AI=0,9; FSME-IgG-AI=3,9, FSME-IGM-AK im Serum nicht mehr nachweisbar). Für die Gesamtbeurteilung der Erkrankung ist es nicht unwichtig, daß "mindestens eine Woche" vor Erkrankungsbeginn ein Insekten-(Zecken?)Stich mit kreisförmiger Rötung am Hinterkopf und wenige Tage vor Erkrankungsbeginn ein zweiter unklarer Zeckenstich im Brustbereich erinnert wird. Als erheblich komplizierend für eine sichere Interpretierung der vorliegenden Befunde erweist sich der nachträglich bekannt gewordene Abschluß einer vollständigen FSME-Immunisierung des Kindes einen knappen Monat vor Krankheitsbeginn.

zum Inhaltsverzeichnis

Aktivitätsmarker bei Therapiestudien der Multiplen Sklerose (MS)

Mix E.
Universität Rostock, Klinik für Neurologie

Die Suche nach objektiven Kriterien der Therapiewirksamkeit bei der MS stellt ein noch immer nicht befriedigend gelöstes Problem dar. Charakteristische Zeichen der Prozeßaktivität finden sich im Kernspintomogramm, so z.B. für die gestörte Blut-Hirn-Schrankenfunktion, die Demyelinisierung, den Axonenverlust, die Gliose und (mit Einschränkungen) die Remyelinisierung. Daneben gibt es zahllose sogenannte Surrogatmarker der Prozeßaktivität, die mit der Immunreaktion gegen die Nervenscheide in Verbindung stehen. Von ihnen haben die folgenden derzeit eine gewisse praktische Bedeutung: Rezeptoren für Wachstumsfaktoren (IL2, Transferrin) auf Lymphozyten, Adhäsionsmoleküle auf Immunzellen und Endothelien (ICAM 1/3, VCAM, E-Selektin), proinflammatorische (TNFα, IFNγ, IL12) und antiinflammatorische (TGFβ, IL10) Zytokine, Makrophagenmarker (MRP 8/14, HMSE), Makrophagenstoffwechselprodukte (Reaktive Sauerstoffmetabolite, Neopterin), Astrozytenmarker (S100ββ), IFNα/β-induzierte Proteine (MxA-Protein), β_2-Mikroglobulin, Apoptose-relevante Proteine (Fas, bcl-2), Matrix-Metalloproteinasen (Gelatinase MMP-9) und Myelinabbauprodukte (MBP). Die meisten der genannten Markersubstanzen können sowohl zellgebunden als auch gelöst im Liquor oder Blut (einige auch im Urin) nachgewiesen werden.

Wir haben in einer Phase-III-Studie mit IFNβ-lb (BETAFRON^R, Schering) den Aktivierungsmarker IL2-Rezeptor-α-Kette (CD25) mittels Flußzytometrie auf T-Lymphozyten ($CD3^+$), B-Lymphozyten ($CD19^+$), Fetaltyp-T-Lymphozyten ($\gamma\delta^+$CD-3 $^+$) und Fetaltyp-B-Lymphozyten ($CD5^+CD19^+$) im peripheren Blut bestimmt. 2 Gruppen von MS-Patienten mit schubförmigem Verlauf wurden zu 8 Zeitpunkten untersucht (Tag 1, 5, 15, 31, 60, 90, 180 und 270 nach Therapiebeginn): (1) Verumgruppe (N=8) mit 2-tägiger Gabe von 8 Mill. Units IFNβ und (2) Placebogruppe (N=4) mit dreimonatiger Placebogabe und ab Tag 90 Therapie wie in der Verumgruppe. Die wesentlichen Ergebnisse in der Verumgruppe waren: (1) Signifikanter Abfall der aktivierten T-Lymphozyten in der Verumgruppe bis Tag 90, danach Rückkehr zu den Ausgangswerten, (2) signifikanter Anstieg der aktivierten B-Lymphozyten ab Tag 90, (3) signifikante Zunahme der Fetaltyp-B-Lymphozyten nach Tag 31 und der aktivierten Fetaltvp-B-Lymphozyten nach Tag 90, (4) relativ stabile intraindividuelle Fetaltyp-T-Lvmphozyten-Spiegel mit generell geringer CD25-Expression, aber punktuellen CD25-Expressionsgipfeln. In der Placebogruppe wurden keine signifikanten Änderungen der gemessenen Zellparameter gefunden. Die Befunde deuten wir als Ausdruck einer reversiblen Suppression der T-Zell-Immunität und langfristiger Stimulierung der Fetaltyp-Lymphozyten, besonders vom B-Zelltyp, durch IFNβ.

Das Beispiel illustriert, daß systemisch wirksame MS-Therapien auch systemische Reaktionen auslösen, die im Blut detektiert werden können. Um zu einem "goldenen Standard" der Therapiebeurteilung zu gelangen, sind aber noch weitere parallele Markeruntersuchungen in Blut und Liquor in Synopsis mit den MRT-Befunden erforderlich.

zum Inhaltsverzeichnis

lmmunmonitoring bei Interferon Beta-lb-therapierten Patienten - FACS-Analysen ICAM-1 und -3 positiver Zellen

P.Oschmann, R.Bauer*, J.Tofighi*, B.Engelhardt#, C.Schiel*, J.Kraus*, C.Hornig“, A. Kern+, H. Traupe+, W. Dorndorf**

**Neurologische Universitätsklinik Gießen; #Max-Planck-Institut Bad Nauheim, Abt. Molekulare Zellbiologie; +Neuroradiologische Abteilung der Universitätsklinik Gießen; “Neurologische Klinik Weilmünster*

ZIEL: In der vorliegenden Untersuchung soll die Expression von ICAM-1 und -3 auf der Oberfläche von Leukozyten im Blut als Aktivitätsparameter bei Interferon Beta-lb (Betaferon®) therapierten Patienten untersucht werden.

METHODIK: Seit März 1996 wurden 28 Pat. mit schubförmig remittierender MS in die Studie aufgenommen. Alle Pat. hatten in den letzten 24 Monaten mindestens zwei Schübe. Vor Therapiebeginn und im weiteren Verlauf im Abstand von 3 Monaten wurden ICAM-1 und ICAM-3 positive T-Zellen (CD3), B-Zellen (CD19) und Monozyten (CD14) mittels FACS-Analyse bestimmt. MRT-Untersuchungen sind im 6-Monats-Abstand geplant.

RESULTATE: Die bisherige Verlaufsuntersuchung von 19 Pat. unter Interferon beta-lb-Therapie zeigte, daß 29 % der Pat. im ersten Untersuchungsintervall (3 Monate) einen Schub erlitten. Im weiteren Verlauf (3 - 6 Monate) sank die Häufigkeit der Schübe auf 14 %. Bei den FACS-Analysen zeigte sich ein Anstieg der relativen Fluoreszenzintensität von ICAM-1 auf T-Zellen bei Pat. ohne Schub von 3,89 auf 4,32 (n.s.) in den ersten 3 Monaten. Im Gegensatz dazu nahm die Expression von ICAM-1 auf T-Zellen bei Pat. mit Schub von 3,70 auf 3,59 leicht ab (n.s.). Im Beobachtungsintervall zwischen 3 und 6 Monaten war ein signifikanter Anstieg (p=0,019) der Expression von ICAM-1 auf T-Zellen bei Pat. ohne Schub auf 5,35 zu verzeichnen. Bei zwei Pat. mit Schub zeigte sich ein gegenläufiger Verlauf bezüglich der ICAM-1-Expression. Bei den Monozyten fand sich tendenziell ein ähnlicher Verlauf (n.s.) wie bei den T-Zellen. Für ICAM-1-positive B-Lymphozyten sowie ICAM-3-positive T- und B-Zellen und Monozyten ergab sich bis jetzt keine Korrelation zur Aktivität der Erkrankung.

ZUSAMMENFASSUNG: Unsere vorläufigen Ergebnisse deuten darauf hin, daß das Monitoring der relativen Expression von ICAM-1 auf T-Zellen im Blut zur Beurteilung der Krankheitsaktivität und somit möglicherweise zur Kontrolle einer Interteron beta-lb-Therapie nützlich ist.

zum Inhaltsverzeichnis

lntrathekale Synthese spezifischer Antikörper bei Neuroborreliose: Vergleich von Immunoblot, indirektem Immunfluoreszenztest und ELISA

P. Oschmann l), C. Schäfer 1), H. J. Wellensiek 2), S. Zebandt l), W.Dorndorf l)

Justus-Liebig-Universität Gießen Neurologische Klinik l) und Institut für Mikrobiologie 2)

Es wurde die Sensitivität vier verschiedener serologischer Techniken zum Nachweis einer intrathekalen Synthese Borrelia burgdorferi-spezifischer Antikörper in 369 Liquor-Serum-Paaren von 183 Patienten mit Neuroborreliose getestet. Die Bestätigung einer lokalen Synthese Borrelia burgdorferi-spezifischer Antikörper erfolgte entweder durch Nachweis eines erhöhten Antikörper-Index (AI) (positiv: IFT, IFT-abs: > 4, ELISA: > 1,5) oder durch Nachweis einer Antikörperbande, die nur oder aber stärker im Liquor nachweisbar war im Vergleich zum Serum, das auf den IgG-Gehalt des Liquors verdünnt wurde (Immunoblot). In Abhängigkeit vom Testsystem lag die Sensitivität zwischen 50 bis 87 % vor Beginn der Therapie. Häufig war die spezifische Immunantwort zu Beginn auf das Liquor (z.B. ELISA 18 %) oder Blutkompartiment (z.B. ELISA 24 %) beschränkt. Der Vergleich von ELISA und Immunoblot ergab identische Resultate in 141 von 176 Liquorproben (80 %). In 11 % war eine lokale Synthese nur nachweisbar durch den Antikörper-Index und in 8 % mit dem lmmunoblot. Beide Techniken waren sensitiver als der IFT und IFT-abs. Identische Resultate lagen seltener vor mit 59 % (Immunoblot/IFT) bzw. 65 % (ELISA/IFT).

Zusammenfassend kann der Sonicat-ELISA zur Bestätigung einer Neuroborreliose empfohlen werden. In ELISA-negativen Fällen ist es empfehlenswert, einen Immunoblot durchzuführen, falls eine Neuroborreliose vom behandelnden Neurologen in Erwägung gezogen wird.

zum Inhaltsverzeichnis

Durchflußzytometrische Bestimmung der Interferon-gamma-Produktion in Blut-Lymphozyten bei Patienten mit Multipler Sklerose.

Petereit H.F. und Bamborschke S.
Universität Köln, Klinik für Neurologie und Psychiatrie

Einleitung: Das proinflammatorische Zytokin Interferon gamma ist im Blut und im Serum von Patienten mit Multipler Sklerose erhöht. Die parenterale Gabe von Interferon gamma führt bei Patienten mit Multipler Sklerose zu Krankheitsschüben. In einer Pilotstudie konnten wir bereits zeigen, daß die immunmodulatorische Therapie mit Interferon beta zu einer Verminderung der Interferon gamma Produktion in der frühen Behandlungsphase führt. Hier stellen wir nun die Ergebnisse einer Langzeituntersuchung von 38 Patienten mit schubförmig verlaufender Multipler Sklerose vor.

Methode: Bei 30 Patienten mit schubförmig-remittierender Multipler Sklerose wurde vor (M0) und viertel-jährlich während der Therapie (M3-24) mit Interferon beta (8 MIU subkutan alle 2 Tage) der prozentuale Anteil der Interferon gamma produzierenden CD3 + Blutlymphozyten an allen CD3 + Lymphozyten bestimmt. Die Messung erfolgte nach 17 stündiger Stimulation mit Ionomycin und Phorbolester durchflußzytometrisch.

Ergebnisse: Nach 3 und 6 Monaten der Behandlung war der über alle Patienten gemittelte Wert der Interferon gamma produzierenden Lymphozyten im Vergleich zum Ausgangswert abgefallen. In einer Untergruppe von 19 Patienten, bei denen die Einstellung auf Interferon beta ohne eine Kortikosteroid-Komedikation erfolgte, war dieser Abfall der Interferon gamma Produktion signifikant (MW/SD M0: 13,77/9,58; M3: 5,83/4,59; M6: 3,57/3,07, $p < 0.05$). Nach 9 und 12 Monaten zeigte sich ein erneuter Anstieg der mittleren Interferon gamma Produktion (M9: 9,7/9,59, M12: 12,23/8,20). Die Zahl der Krankheitsschübe lag im Monat 3 bei 3,7%, im Monat 6 bei 14,3 %, im Monat 9 bei 21,1% und im Monat 12 bei 11,8% der Patienten.

Diskussion: Unsere Ergebnisse legen nahe, daß eine niedrige Schubrate mit geringer Interferon gamma Produktion einhergeht, während eine vermehrte Interferon gamma Produktion von einer vermehrten Schubaktivität begleitet wird. Der in dieser Untersuchung ermittelte zeitliche Verlauf der Interferon gamma Produktion unter Interferon beta Therapie steht im Einklang mit klinischen Beobachtungen (klinische Wirksamkeit frühestens nach 3 bis 6 Monaten, Bildung neutralisierender Antikörper mit einem Gipfel bei 12 Monaten).

Schlußfolgerungen: Die Verlaufsmessung Interferon gamma produzierender Lymphozyten könnte ein geeigneter Indikator der biologischen Wirksamkeit einer Interferon beta Therapie sein.

zum Inhaltsverzeichnis

Optimierung verschiedener DNA/RNA-Präparationsmethoden zum Nachweis von Borrelien-Nucleinsäuren im Liquor cerebrospinalis

Rolfs A.
Universität Rostock, Neurologische Klinik und Poliklinik

Die Neuroborreliose (NB) ist trotz verschiedener Fortschritte in der mikrobiologischen Diagnostik noch immer eine Erkrankung des Zentralnervensystems, die in der Interpretation der Liquorbefunde erhebliche Probleme aufwerfen kann. Verschiedene DNA-Amplifikationsmethoden, z.B. die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) sind hier in der Lage wertvolle Zusatzinformationen zu geben, bzw. sogar in Einzelfällen den entscheidenden diagnostischen Hinweis zu liefern. Allerdings ist trotz mittlerweile ca. fünfjähriger Erfahrung mit dieser Methodik in der Borrelien-Diagnostik insbesondere die Standardisierung, die Auswahl der Nukleinsäure-Präparation und der Primersequenzen etc. noch immer schlecht definiert.

Im Laufe der letzten 5 Jahre wurde der Liquor cerebrospinalis von 135 Patienten aus dem Berliner und Rostocker Großraum mit einem plausiblen Verdacht auf eine NB mittels einer PCR untersucht. Dabei bestand bei 48 Patienten aufgrund der klinischen, anamnestischen und laborchemischen Befunde ein dringender Verdacht (Gruppe 1) und bei 77 Patienten aufgrund einer laborchemischen Konstellation (IFA: IgG > 1.256 im Serum, > 1:64 im CSF; IgM > 1:16 im Serum und unverdünnten CSF; WB: CSF IgM positive oder CSF > Serum) ohne sicheren klinischen Bezug ein hinreichender Verdacht (Gruppe 2). Der CSF von 63 Patienten, die zur diagnostischen Klärung von nicht-entzündlichen Erkrankungen (Kopfschmerz, Bandscheibenprolaps etc.) lumbalpunktiert wurden, diente als Kontrolle (Gruppe 3). Die DANN-Extraktion erfolgte in allen Fällen im parallelen Vergleich für drei Methoden (alkalische Lyse, Silica-Beads, Phenol-Chloroform) spätestens sechs Stunden nach erfolgter Punktion. In allen Materialien wurde die PCR für drei verschiedene Genregionen (OSPA, FLA, rib) durchgeführt.

Alle Kontroll-Materialien (Gruppe 3) waren in allen Untersuchungen PCR negativ. 31/48 Patienten der Gruppe 1 waren in mindestens einer Genregion positiv, wobei sich eindeutige Unterschiede für die drei untersuchten Genregionen aufzeigen ließen (PCR_{rib} >PCR OSPA > PCR_{FLA}). 18/77 Patienten der Gruppe 2 waren PCR-positiv. Bei vier Patienten, bei denen aufgrund einer antibiotischen Therapie retrospektiv mit hoher Wahrscheinlichkeit die Diagnose einer NB gestellt wurde, waren PCR-DNA negativ, aber zwei von ihnen in einer parallel durchgeführten RNA-PCR positiv.

Aus der Studie lassen sich für die Borrelien-PCR zur Diagnose einer NB folgende Empfehlungen ableiten: 1. Der CSF darf mit derzeitigen Abnahmemethoden zu Erlangung reliabler Befunde bis zur DNA-Präparation nicht älter als sechs Stunden sein; eine Silica-Träger-Präparation ist anderen Methoden deutlich überlegen. 2. Die Sensitivitäten unterschiedlicher PCR-Systeme sind z.T. beträchlich; das PCR_{rib} und PCR_{OSPA}-System erbrachten die besten Ergebnisse. In einzelnen Fällen scheint die Verwendung von RNA als Matrix erhebliche Vorteile zu bringen. 3. Bei Berücksichtigung der beschriebenen methodischen Verfahren ist die klinische Sensitivität und Spezifität als gut einzustufen. Bei initial positiven Resultaten eignet sich die PCR als guter Verlaufsparameter.

Aktuelle Liquordiagnostik der Alzheimer-Krankheit

Rösler N., Wichart I. und Jellinger K.
Ludwig Boltzmann-Institut für klinische Neurobiologie, Wien

Neben der Hilfe beim Ausschluß entzündlicher und neoplastischer Ursachen eines dementiellen Syndroms konzentriert sich die aktuelle Liquorforschung zur Alzheimer-Krankheit auf Korrelationen zwischen den folgenden hauptsächlichen neurobiologischen Korrelaten der Erkrankung und entsprechenden Liquorbefunden [Rösler et al.: Clin. Neurosci. 49 (Suppl. 1), 36-37, 1996]: 1. Synapsenpathologie (z.B. Chromogranin A, Hirnganglioside, Apolipoprotein E), 2. Amyloidpathologie (Amyloid-Präkursorprotein, β-Amyloidprotein), 3. degenerative Veränderungen aszendierender Projektionssysteme (z.B. cholinerge, serotonerge, peptiderge Systeme), 4. chronische immunologische Prozesse (z.B. Interleukin-6), 5. neurofibrilläre Degeneration (pathologisch hyperphosphoryliertes Mikrotubulus-assoziiertes Protein Tau).

Eine Reihe der untersuchten Substanzen zeigt einen beträchtlichen Überlappungsbereich der gemessenen Liquorkonzentrationen mit anderen (neurodegenerativen) Erkrankungen. Das Tau-Protein hat sich als der bisher vielversprechendste Kandidat als *intra vitam*-Marker der Alzheimer-Krankheit erwiesen. In einer eigenen Arbeit [Rösler et al.: J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 60, 237-238, 1996] an 16 Patienten mit 'wahrscheinlicher' Alzheimer-Krankheit nach den NINCDS-ADRDA-Kriterien fand sich eine hochsignifikante Erhöhung von Total-Tau (326 pg/nil, $p<0{,}005$) sowohl im Vergleich zu älteren Depressiven (142 pg/ml) als auch zur Gruppe anderer neurologischer Erkrankungen ohne kognitive oder mnestische Störungen (193 pg/ml) und zu jüngeren (90 pg/ml) und älteren Kontrollpersonen (117 pg/ml).

Probleme der weiteren Sicherung dieser Ergebnisse bestehen angesichts der relativen Seltenheit von Liquorproben, die nach internationalen klinischen Diagnosekriterien der Alzheimer-Krankheit dokumentiert sind. Darüber hinaus sind gleichzeitige Messungen mehrerer Substanzen wünschenswert, um über die Erstellung von Befundprofilen die neurobiochemische Unterstützung der Diagnose der Alzheimer-Krankheit und möglicherweise auch seltenerer neurodegenerativer Syndrome (z.B. progressive supranukleäre Paralyse, kortikobasale Degeneration) zu ermöglichen. Hieraus ergibt sich, daß die weitere nationale und internationale Entwicklung eines 'cerebrospinal fluid banking' nötig ist.

zum Inhaltsverzeichnis

Scharein S.
KKH Prignitz, Neurologische Abteilung, Wittenberge

Einleitung: 1993 und 1994 wurde im Auftrag der DGN eine Umfrage an 289 deutschen neurologischen Kliniken bzw. Einrichtungen mit neurologischen Abteilungen durchgeführt, um einen Überblick zu geben, über Art und Umfang neurochemischer Untersuchungen, die in eigenen Labors der Kliniken bzw. in Fremdlabors durchgeführt werden.

Methode: In einem Erhebungsbogen wurde gefragt nach der Verfügbarkeit eines eigenen Liquor/neurochemischen Labors, sowie nach Art und Anzahl neurochemischer Untersuchungen: Gesamteiweiß, Immunglobuline, isoelektrische Fokussierung, Zytologie, immunzytologische Spezialfärbungen, Antikonvulsiva, Tumormarker, neurotrope Viren, Muskelenzyme, Muskelhistologie.

Ergebnisse: Ein eigenes Liquor-/neurochemisches Labor ist v.a. in Kliniken mit Notfall- und Akutdiagnostik vorhanden, so verfügen fast alle neurologischen Universitätskliniken, die auch mit einer eigenen Intensivstation ausgestattet sind, über ein eigenes Labor (91%). Das gleiche gilt für neurologische Abteilungen an allgemeinen Krankenhäusern (46%). In neurologischen Rehabilitationskliniken, die i.allg. nicht an die Notfalldiagnostik angebunden sind, verfügen nur 18% über ein eigenes neurochemisches Labor.

Anzahl der neurologischen Kliniken mit und ohne neurochemisches Labor:

Kliniktyp	*Gesamt*	*Mit eigenem Labor*	*Ohne eigenes Labor*
Uni	*35*	*29 (83%)*	*6 (17%)*
Neuro. AKH	*91*	*18 (20%)*	*73 (80%)*
Nerv. AKH	*10*	*7 (70%)*	*3 (30%)*
Neuro. PKH	*39*	*18 (46%)*	*21 (54%)*
Neuro. Reha	*22*	*4 (18%)*	*18 (82%)*
Neuro. FK	*26*	*9 (35%)*	*17 (65%)*
Gesamt	*223*	*85 (38%)*	*138 (62%)*

Universitätskliniken mit einem eigenen Liquor-/neurochemischen Labor führen 3/4 (74%) der benötigen Untersuchungen auch selbst durch, wogegen neurologische Abteilungen an allgemeinen Krankenhäusern mit eigenem Liquorlabor nur 1/3 der Untersuchungen selbst durchführen. Nur in 17 % aller Fälle reicht das Zentrallabor der Gesamtklinik aus, um die benötigten Untersuchungen durchzuführen. In der überwiegenden Mehrheit (44%) müssen diese Kliniken neben dem Zentrallabor auch noch

externe Labors in Anspruch nehmen. Die anderen neurologischen Kliniken oder Abteilungen (Nerv.AKH, Neuro.PKH, Neuro.Reha, Neuro.FK) lassen dagegen einen größeren Anteil ihrer Untersuchungen von externen Laboratorien durchführen, unabhängig davon, ob sie ein eigenen Labor haben oder nicht. Neurologische Kliniken mit eigenem Labor zeichnen sich durch eine spezialisierte neuroimmunologische Diagnostik, insbesondere des Liquors aus, wogegen in Abteilungen und rehabilitativen Einrichtungen ohne ein eigenes Labor, die Screening- und Verlaufsuntersuchungen überwiegen. Das Vorhandensein eines eigenen neurochemischen Labors erhöht nicht in undifferenzierter Weise die Anzahl neurochemischer Untersuchungen, sondern spiegelt im wesentlichen den Bedarf an spezialisierter Liquor- und neuroimmunologischer Diagnostik wider.

zum Inhaltsverzeichnis

Aktivitätsmarker bei der Multiplen Sklerose und akutemGuillain-Barré-Syndrom

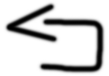
Sindern E. und Ossege L.M.
Ruhr-Universität, Neurologische Klinik; Berufsgenossenschaftliche Kliniken Bergmannsheil Bochum

Nach heutigem Kenntnisstand wird die MS als T-Zellvermittelte Autoimmunerkrankung angesehen. Beim GBS wird neben einer gestörten humoralen auch eine gestörte T-Zellimmunität vermutet. Die T-Zellen entfalten ihre Wirksamkeit über Zytokine. Die kurze biologische Halbwertzeit und die geringe Konzentration der Zytokine stellt ein Problem bei der Messung im Serum und Liquor dar. Die Methode der nicht radioaktiven in situ Hybridisierung bietet die Möglichkeit die mRNA der Zytokine auf Einzelzellniveau im Zellausstrich von mononukleären Blut- und Liquorzellen nachzuweisen. Wir stellten bei Patienten mit schubförmig-remittierender MS und akutem GBS im Blut und Liquor eine stärkere Expression von TNF-α und TGF-β1 mRNA fest, als bei Patienten mit anderen nicht entzündlichen neurologischen Erkrankungen (ANE). Im Verlauf des GBS zeigte sich mit Besserung der Klinik ein Abfall der TNF-α und ein Anstieg der TGF-β1 mRNA-Epression im Blut, was möglicherweise mit der Beendigung des Autoimmunprozesses im peripheren Nerven einhergeht. Bei MS konnte keine Korrelation der TNF-α und TGF-β1 mRNA-Expression und der Aktivität der Erkrankung, kontrolliert im Kontrastmittelverhalten im Kernspintomogramm, festgestellt werden.

Im Liquor stellten wir durchflußzytometrisch einen deutlich höheren Prozentsatz durch Antigenkontakt aktivierter CD4/CD29 positiver T-Lymphozyten als im Blut fest ($P<0{,}0001$). Dies war nicht spezifisch für MS und GBS, sondern zeigte sich auch bei ANE und Patienten mit viraler Meningitis. Daraus ergibt sich indirekt, daß überwiegend aktivierte CD4-positive Lymphozyten die Bluthirnschranke überwinden und in den Liquorraum bzw. in das ZNS gelangen. Naive CD4/CD45RA positive Zellen waren entsprechend im Liquor nur in einem geringen Prozentsatz zu finden. Bei Patienten mit aktiver MS fanden wir im Liquor verglichen zum Blut relativ mehr CD4/CD29 positive T-Lymphozyten als bei Patienten ohne aktive MS ($P=0{,}005$). Die Anreicherung CD4/CD29 positiver Zellen im Liquor während eines Schubes kann einerseits auf eine Migration der aktivierten Zellen aus dem Blut in den Liquor, andererseits auf eine klonale Expansion aktivierter CD4 positiver Zellen nach weiterer Antigenstimulation im Liquorkompartment zurückgeführt werden.

Bei dem Durchtritt der aktivierten T-Zellen aus dem peripheren Blut über die Blut-Hirn-Schranke in das ZNS spielen Adhäsionsmoleküle eine wesentliche Rolle. Die intrathekale Freisetzung des Adhäsionsmoleküls VCAM-1 (VCAM-1 Index) korrelierte bei MS-Patienten mit dem Anteil CD4/ CD29 positiver Lymphozyten im Liquor

(p<0,001). Im Blut waren die VCAM-1 Werte bei MS in Abhängigkeit zur Aktivität der Erkrankung und im Vergleich zu ANE und gesunden Kontrollen nicht unterschiedlich. In Längsschnittuntersuchungen über ein halbes Jahr zeigte sich ein signifikantes Anstieg des VCAM-1 im Blut unter einer Therapie mit IFN-βlb (p<0,001). Möglicherweise handelt es sich um einen neuen Wirkungsmechanismus des IFN-β1b. Lösliches VCAM-1 könnte kompetitiv die Bindung des membrangebundenen VCAM-1 blockieren, wodurch die Emigration von T-Zellen erschwert wird. Ggf. kann lösliches VCAM-1 als Therapiemarker unter IFN-β1b herangezogen werden.



zum Inhaltsverzeichnis

Stellenwert von erregerspezifischen Antikörpersynthesen für die Diagnostik von neurologischen Erkrankungen

Spitzner S. und Lehmitz E.
Universität Rostock, Zentrum f. Nervenheilkunde, Klinik f. Neurologie und Poliklinik

Für den Nachweis einer spezifischen Antikörpersynthese im ZNS hat sich die Auswertung nach dem Quotientendiagramm (Antikörper - Index) zum Nachweis akuter Infektionen mit einer monospezifischen Immunreaktion bzw. einer chronisch - entzündlichen Reaktion mit polyspezifischer Immunreaktion bewährt.

Es wurden 176 Liquor-Serum-Paare auf erregerspezifische Antikörper-Synthese analysiert. Untersucht wurden Patienten mit Multipler Sklerose (MS) (n=46), Opticus Neuritis (ON) (n=24), entzündliche ZNS - Erkrankungen (n=27), Cephalgien (n=8), cerebrovaskuläre Erkrankungen (n=9), degenerative Erkrankungen des ZNS (n=7), Wirbelsäulenveränderungen (n=7), Myopathien (n=4), Hirnnervenfunktionsstörungen (n=3), „andere" neurologische Erkrankungen (n=22) und psychosomatisch-psychiatrische Erkrankungen (n=19). Die Untersuchung auf eine Masem-, Röteln-, Varizella - Zoster - Antikörpersynthese (MRZ- Reaktion) war bei MS in 87 % der Fälle positiv (davon MRZ 28 %; MR, RZ, MZ 38%; M,R,Z 34%). Patienten mit einer ON zeigten in 63 % eine positive MRZ - Reaktion (davon MRZ 7%; MR,RZ,MZ 53%; M;R;Z 40%). In 6 Fällen konnte die Antikörperdiagnostik zur Diagnosefindung bei erregerbedingter entzündlicher Erkrankung beitragen. Bei 13 Patienten aus den Gruppen „cerebrovaskuläre Erkrankungen", „Wirbelsäulenveränderungen", „degenerative Erkrankungen des ZNS", „andere neurologische Erkrankungen" und „psychosomatisch-psychiatrische Erkrankungen" sind erregerspezifische Antikörpersynthesen ermittelt worden (4x Z, HSV; 2x HSV, 2x Z; 2x R; 1x MRZ; 1x M; 1x Toxoplasma). In diesen Fällen konnten die Befunde nicht dem Krankheitsbild zugeordnet werden. Es kann vermutet werden, daß diese Antikörpersynthesen auf frühere Infektionen des ZNS zurückzuführen sind ,da sich Antikörpersynthesen insbesondere bei starken humoralen Reaktionen z.T. noch nach Jahren nachweisen lassen. Unter den Patienten mit Himnervenfunktionsstörungen, Cephalgien und Myopathien ergaben sich keine Hinweise auf eine Antikörpersynthese im ZNS. Der hohe Anteil der positiven MRZ - Reaktionen bei einer MS unterstreicht die Bedeutung dieser Untersuchung für die Diagnose einer chronisch entzündlichen Reaktion im ZNS. Diese Reaktion ist nicht spezifisch für die MS, da Autoimmunerkrankungen mit ZNS - Beteiligung diese Reaktion ebenfalls zeigen. Mit Sicherheit ist die positive MRZ - Reaktion spezifischer für einen chronisch - entzündlichen Prozeß als der Nachweis von oligoklonalem IgG; allerdings mit etwas niedrigerer Sensitivität. Die MRZ - Reaktion hat besonderen Stellenwert bei atypischen Verläufen einer MS. Interessant ist die Häufigkeit der positiven MRZ - Reaktion bei der isolierten ON, ein Befund der die pathogenetische Verwandschaft mit der MS unterstreicht.

zum Inhaltsverzeichnis

Qualitätskontrolle der JCV-PCR: Ergebnisse einer europäischen Ringstudie

T. Weber[1], P.E. Klapper[2] , G.M. Cleator[2] , M Bodemer[3] , W. Lüke[4], W. Knowles[5] , P Cinque[6] , AM Van Loon[7] , M Grandien[8] , AL Hammarin[8], M Ciardi[9], G. Bogdanovic[10]

[1]Marienkrankenhaus Hamburg
[2]Division of Virology, University of Manchester, Manchester, UK
[3]Neurologische Klinik, Universität Göttingen
[4]Abt. Virologie u. Immunologie, Deutsches Primaten Zentrum, Göttingen
[5]Virus Reference Division, Colindale, London
[6]Ospedale San Raffaele, Milan
[7]Academic Hospital Utrecht, Utrecht
[8]Swedish Institute for Infectious Disease Control, Stockholm
[9]Universita di Roma 'La Sapienza', Rom
[10]Clinical Virology Huddinge Hospital, Stockholm

Die progressive multifokale Leukoenzephalopathie (PML), die einzige humane, virale Entmarkungserkrankung, ausgelöst durch das Papovavirus JC Virus (JCV), hat an Häufigkeit deutlich zugenommen. Die klinische Diagnose der PML ist durch den Einsatz der Polymerase Ketten Reaktion (PCR) seit einigen Jahren möglich. Bisherige Untersuchungen legen bei einmaliger Lumbalpunktion eine Sensitivität des Verfahrens zum Nachweis von JC viraler DNA aus dem Liquor cerebrospinalis von 78 % bei einer Spezifität von 97 % nahe. Ziel dieser Arbeit war es a) die Stabilität viraler Partikel und viraler DNA in Liquor cerebrospinalis (CSF) zu ermitteln und b) die untere Nachweisgrenze in den beteiligten Laboratorien zu vergleichen. JCV586, Stamm Mad- wurde in SVG-Zellen gezüchtet und die Konzentration der Virus-DNA im Zellkulturüberstand über eine semiquantitative PCR mit JCV-Plasmid pJCV(1-4) DNA mengenmäßig bestimmt. In dem Referenzlabor wurden zwischen 106 und 10-3 Kopien JCV586 pro 100 gL zu einem Liquor, dessen Proteinkonzentration auf 500 mg/mL eingestellt war, hinzugegeben. Diese „versetzten" Liquorproben wurden an ein zentrales Labor, das nicht an diesem Ringversuch teilnahm, verschickt und von dort an die beteiligten Laboratorien codiert verteilt. Dabei wurde sowohl die Zeit, die für die Aussendung als auch die im jeweiligen Labor zur Genamplifikation verwandte Methode erfaßt. Die Zeit für die Auslieferung der Proben an das Untersuchungslabor betrug zwischen 18 und 111,5 Stunden. Trotz großer Unterschiede in der Aufarbeitung des Liquors, verschiedener Primerpaare und Bedingungen für die PCR fanden sich weitgehend übereinstimmende Ergebnisse. Jedes der beteiligten Laboratorien benutzte eine sog. „nested" PCR. Keines der beteiligten Laboratorien konnte weniger als 10 Kopien JCV DNA pro 100 µL CSF nachweisen. Drei von acht Laboratorien hatten 10 Kopien pro 100 µL CSF als untere Nachweisgrenze, während fünf Laboratorien eine solche von 100 Kopien pro 100 µL hatten. Die PCR des Liquors auf JCV ist eine reliable und reproduzierbare Methode. Eine Steigerung der Sensitivität des Verfahrens läßt sich möglicherweise durch mehrfache Punktionen und/oder eine quantitative und qualitative Bestimmung der intrathekalen Synthese von Antikörpern gegen das Virusstrukturprotein VP1 erreichen.

Acetylcholinrezptor-Antikörper und Kalziumkanal-Antikörper in der Differentialdiaqnose der Myasthenia gravis versus Lambert Eaton Syndrom

Wick M.
LMU-München, Klinikum Großhadern, Institut für Klinische Chemie

Myasthenia gravis (MG) und Lambert Eaton Syndrom (LEMS) stellen Autoantikörper- bedingte myasthene Syndrome dar die, wenn sie voll ausgeprägt sind, auch anhand klinischer und elektrophysiologischer Befunde unterschieden werden können. Wegen der unterschiedlichen Therapie sowie auch unterschiedlicher möglicherweise zugrundeliegender Tumore (Thymom bei der MG und kleinzelliges Bronchialkarzinom beim LEMS), ist es jedoch sinnvoll, anhand der Autoantikörperbestimmung in allen Fällen sicher zwischen einer Blockade der postsynaptischen Übertragung bei der MG und der präsynaptischen Übertragung beim LEMS zu unterscheiden.

Die diagnostische Wertigkeit der Acetylcholinrezeptor-Antikörper (ACHR-AK) wurde an einem Kollektiv von 90 Patienten mit generalisierter Myasthenie, 40 Patienten mit okulärer Myasthenie sowie 69 Patienten mit anderen neuromuskulären Erkrankungen, davon 10 Lambert Eaton Syndrome untersucht. Dagegen gingen für die Prüfung der diagnostischen Relevanz der Kalziumkanal-AK (VGCC) 14 Patienten mit LEMS ein, denen zur Spezifitätsprüfung 64 mit MG9 28 mit amyotropher Lateralsklerose sowie je 25 andere Autoimmunerkrankungen und andere neuromuskuläre Erkrankungen gegenüberstanden. Zur Bestimmung der ACHR-AK wurde der bewährte Jod 125-markierte Alpha Bungarotoxin-Bindungsassay nach Neustandardisierung verwendet (Referenzbereich bis 0,25 nmol/l Bungarotoxinbindung), für den Nachweis der VGCC dagegen der jetzt verfügbare ebenfalls Jod 125-markierte Conotoxin-Bindungsassay der Firma DLD, Hamburg (vorläufiger Referenzbereich bis 20 pmol/l Conotoxin-Bindung, grenzwertig 20 - 40 pmol/l).

Im Interesse einer hohen diagnostischen Spezifität und besseren Vergleichbarkeit wurde zur Definition der klinisch-relevanten Cut-off-Werte eine I00%ige Spezifität gefordert. Diese ist bei beiden Assays bereits bei der oberen Referenzgrenze erreicht. Unter diesen Voraussetzungen ergibt sich für die ACHR-AK eine Sensitivität von 82 % für generalisierte Myasthenien, dagegen nur von 60 % für die Diagnose okulärer Myasthenien. Bei ebenfalls 100 % Spezifität erreichten die VGCC eine Sensitivität von ca. 86 % für die Diagnose des LEMS.

Die Untersuchungen belegen, daß mit Hilfe der genannten Autoantikörperbestimmungen MG und LEMS mit hoher Sensitivität diagnostiziert werden können. Falsch positive Befunde waren durch die für die Definition der Cut-Off-Werte geforderte 100%ige Spezifität apriori ausgeschlossen.

zum Inhaltsverzeichnis

Ulrich Wurster
Liquorlabor der Neurologischen Klinik Medizinische Hochschule Hannover

Durch eine Perforation der Dura hervorgerufene Liquorfisteln gehen vorwiegend auf eine traumatische (Verletzungen oder Schädeloperationen), seltener auf eine nicht-traumatische Ursache zurück. Am häufigsten kommt es zu einem Abfluß von CSF über die Nase, gelegentlich auch über den Gehörgang oder bei Eingriffen im Bereich der Wirbelsäule zur Exsudation ins Wundgebiet. Ein Liquorleck muß möglichst schnell geschlossen werden, da es eine potentielle Eintrittspforte für Krankheitserreger darstellt und somit die Gefahr einer bakteriellen Meningitis oder eines Hirnabszesses besteht.

Prinzipiell lassen sich die zum Nachweis einer Liquorfistel gebräuchlichen Methoden in zwei Gruppen unterteilen. Entweder injiziert man intrathekal eine Marker-Substanz (Farbstoffe, radioaktive Isotope, wasserlösliche Kontrastmittel) deren Austritt aus dem Liquorraum verfoIgt werden kann oder man benutzt als Indikatoren Stoffe, die natürlicherweise im Liquor in (relativ) hoher Konzentration vorliegen und daher eine Unterscheidung von anderen Körperflüssigkeiten erlauben. Der entscheidende Vorteil des letzteren Verfahrens liegt in dem nicht invasiven Vorgehen und der dadurch beliebigen Wiederholbarkeit. Die traditionell empfohlene Bestimmung von Glucose oder Gesamtprotein ist unzuverlässig, da sie bei einer Zumischung von Nasensekret, Plasma, Speichel, Tränen, Lymphe oder Wundsekret versagt. Wesentlich besser geeignet sind für Liquor charakteristische Proteine wie Präalbumin, (Transthyretin), β2-Transferrin und β-trace Protein (Prostaglandin D Synthetase).

In einer vergleichenden Untersuchung wurden die genannten drei Proteine in 115 (Sekret) Proben von 97 Patienten, sowie im parallel gewonnen Serum bestimmt. Präalbumin wurde mittels kinetischer Nephelometrie (Beckman, Array), das β-trace Protein mit einem neu entwickelten Latex-Test (Behring) ebenfalls nephelometrisch gemessen. Die Anwesenheit von β2-Transferrin wurde nach Trennung in Agarose Isoelektrofokussierungsgelen pH 5-7 (Isolab) und Detektion über Immunoblotting visuell beurteilt. Hierbei erwies sich eine rigorose Standardisierung in Form von Eisenbeladung, Einstellung auf gleiche Transferrin Konzentrationen und Vergleich mit dem dazu gehörigen Serum als unerläßlich. Genetische Transferrin Varianten und Alkoholiker mit erhöhten gering sialisierten Transferrin Isoformen (carbohydrate deficient transferrin) können dadurch sicher erkannt werden. Die Anwesenheit von CSF läßt sich für Präalbumin vorteilhaft über die Berechnung eines Präalbumin/Albumin Index zeigen, während für β-trace eine auf Differenzenbildung basierende Formel, die den aus dem Serum stammenden Anteil in Abzug bringt, besser geeignet ist

Bei 21 Proben (78% der eindeutig positiven Fälle) wurden für alle drei Parameter übereinstimmend Werte oberhalb des Normalbereiches gefunden. In 6 Proben, die alle einen erhöhten (> 2 g/l) Albumingehalt auswiesen ließ sich eine CSF Beimischung nur noch über β2-Transferrin bzw. β-trace Protein nachweisen. In 5 weiteren Fällen ergaben sich für β2-Transferrin und das β-trace Protein diskrepante Ergebnisse.

zum Inhaltsverzeichnis

Apoptose als selektiver Zelleliminationsmechanismus

Zettl, U. K.
Universität Rostock, Klinik für Neurologie und Poliklinik

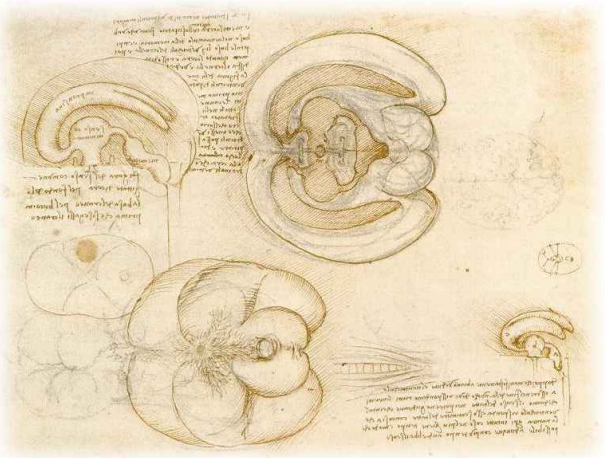
Die Homöostase multizellulärer Organismen kann nur durch die Aufrechterhaltung eines Gleichgewichtes zwischen Zellproliferation und Zelltod gewährleistet werden. Galt das Forschungsinteresse vergangener Jahre primär den der Proliferation zugrunde liegenden Regulationsmechanismen, wurde insbesondere der physiologische Zelltod via Apoptose erst seit kurzem zu einem intensiv beforschten Gebiet in vielen Bereichen der Zellbiologie (Ontogenese, immunologische Toleranzinduktion) und Medizin (Autoimmunität, Onkogenese, Neurodegeneration).

Jüngste Untersuchungen sowohl im Tierexperiment (Experimentelle Autoimmun-Enzephalitis, Experimentelle Autoimmun-Neuritis, bakterielle Meningitis) als auch im humanen Untersuchungsmaterial (Hirngewebe, Meningen, Liquor cerebrospinalis) zeigen, daß die Apoptose einen hocheffektiven Mechanismus zur selektiven Zelleliminationsowohl von Parenchym- als auch von Tumor- und Immunzellen bei neurologischen Erkrankungen darstellt.

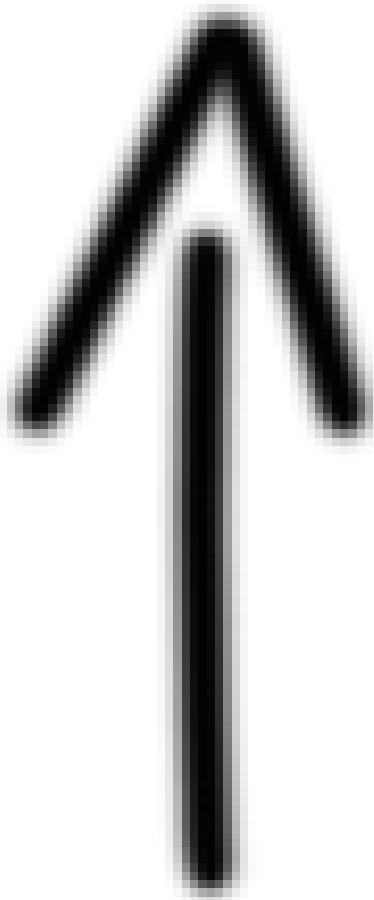
Für den Liquorologen von besonderem pathogenetischem Interesse ist, daß es aufgrund der morphologischen Veränderungen im Rahmen der Apoptose (dense nuclear caps, membrane blebbing zeiosis, apoptotic bodies) zu keiner Liberation von Zellinhaltsstoffen in den Extrazellularraum kommt. Im Gegensatz hierzu führt der Zelltod durch Nekrose zu einer zellulären Desintegration mit Freisetzung von hochreaktiven Zellinhaltsstoffen in das umgebende Gewebe, die konsekutiv eine starke Entzündungsreaktion initialisieren oder potenzieren.

Im Vortrag werden einerseits die verschiedenen Methoden zur Detektion des apoptotischen Zelltodes wie die Licht- und Elektronenmikroskopie, die Immunhistochemie sowie die entsprechenden molekularbiologischen Techniken (insitu-Tailing, DNA-Gelelektrophorese) dargestellt. Andererseits wird auf bekannte Signaltransduktionswege des komplexen Apoptoseprozesses und daraus gewonnene potentielle lmplikationen für die klinische Praxis eingegangen. Von besonderer Relevanz ist in diesem Zusammenhang die Aufklärung der zellspezifischen Stimuli für die Initialisierung des Apoptoseprogramms (CD95L, TNFα, γ-Strahlung, Glukokortikoide, Zytostatika u.a.) und der konsekutiv Apoptose-regulierenden Proteine, wie der Apoptose-Koinduktoren (bik, bad, bax, bcl-xs) und Apoptose-Protektoren (bcl2, bcl-XL, Mcl-1 , IL-2).

zum Inhaltsverzeichnis



zum Inhaltsverzeichnis

Leonardo writes:

> "Make two vent-holes in the horns of the greater ventricles and insert melted wax with a syringe making a hole in the ventricle of memory and through such a hole fill the three ventricles of the brain. Then when the wax has set, dissect off the brain and you will see the shape of the three ventricles exactly. But first put fine tubes in the vent-holes so that the air which is in these ventricles is blown out and makes room for the wax which enters into the ventricles."