

e-Vorlesung

Grundlagen der klinisch-chemischen Liquordiagnostik

Barthuber/ Fahren

Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik

Universitätsklinikum Düsseldorf - Heinrich Heine Universität

Direktor: Prof. Dr. F. Boege

Übersicht

- Allgemeine Erläuterungen zu eVL
- Lernziele zur labormedizinischen Liquordiagnostik
- Liquordiagnostik Grundlagen
 - Physiologie
 - Laborparameter
 - Zelluläre Bestandteile
 - Nicht-zelluläre Bestandteile
- Typische Befundkonstellationen
 - bakt. Meningitis / Tuberkulöse M. / virale M. / MS / Hirntumoren
- Zusammenfassung
- Literatur

Liquor-Diagnostik - Lernziele

Nach Durcharbeiten dieser eVL können die Studierenden ...

1. ... die **Grundlagen der Liquor-Bildung, -Zusammensetzung und -Entnahmebedingungen** beschreiben
 2. ... die wichtigsten **labordiagnostischen Liquorparameter** benennen und **Voraussetzungen und Bedeutung für deren Einsatz** erläutern
 3. ... typische **Liquor-Befundkonstellationen bei ausgewählten neurologischen Krankheitsbildern** aufzählen und erklären:
bakterielle/ tuberkulöse/ virale Meningitis // Multiple Sklerose // Hirntumoren
- Arbeitszeit für diese eVL: ca. 1 Unterrichtsstunde

Aufgabe 1: Liquor Anatomie und Physiologie

- Erklären Sie die anatomischen und physiologischen Grundlagen zum Liquor. Versuchen Sie, eine knappe Übersicht zu skizzieren. Wiederholen Sie hierbei kurz die folgenden Themen:
 - WAS ist Liquor?
 - WO befindet sich Liquor normalerweise?
 - WIE wird Liquor produziert?
 - WIEVIEL Liquor wird täglich produziert?
 - WIEVIEL Liquor zirkuliert?

- Blättern Sie erst dann weiter

Weiter

Aufgabe 1: Liquor Anatomie und Physiologie

Liquor (CSF): klare Körperflüssigkeit zur Polsterung von Gehirn + Rückenmark mit Ver- und Entsorgungsfunktion

Bildungsort: Plexus choroideus (4 Ventrikel)

Bildungsweise:

- aktiver Transport: Elektrolyte, Glucose
- Diffusion: H₂O, Chlorid, **Albumin**
- Sekretion: beta-Trace Protein, **IgG**

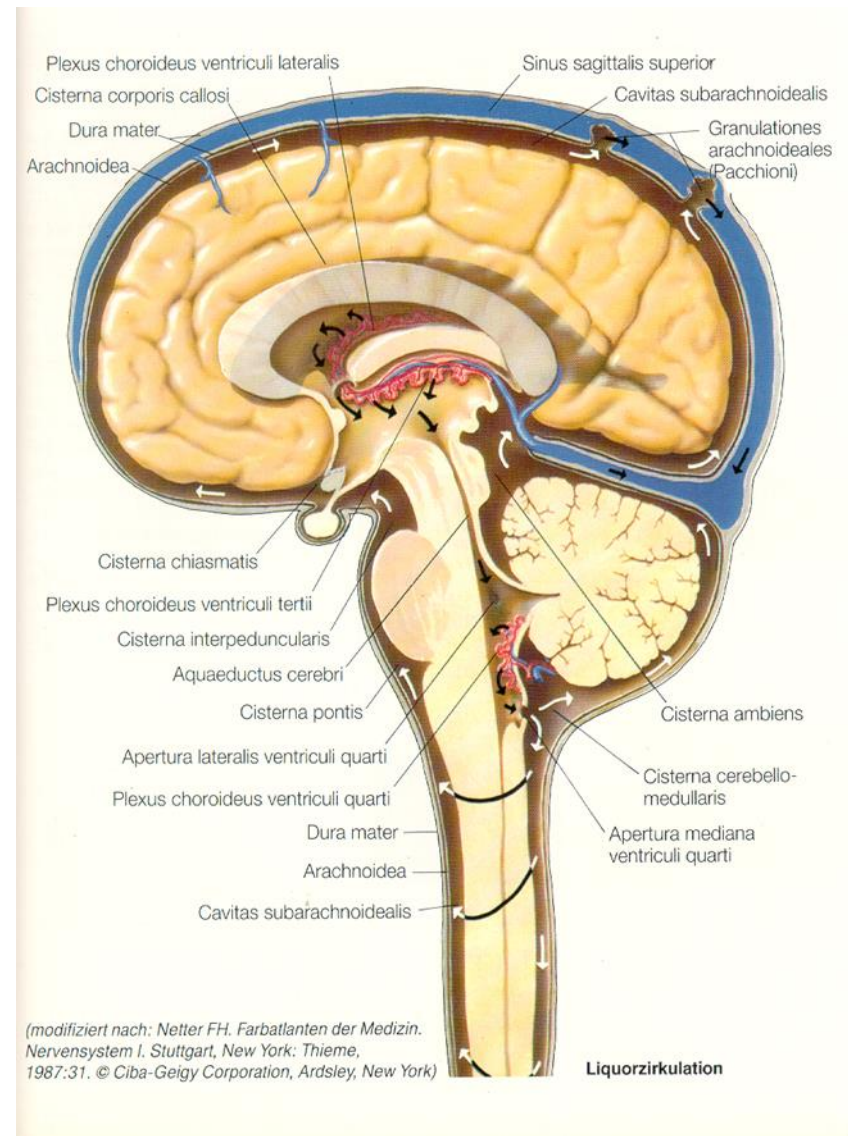
Zirkulation:

- Liquor fließt in den kortikalen und lumbalen Subarachnoidalraum
- durch die Arachnoidalzotten wird der Liquor in das venöse Blut drainiert aufgrund der Druckdifferenz zwischen arteriellem und venösem Blut

Liquormenge: tägliche Produktion 500 ml

Liquorvolumen: 140 – 180 ml

Weiter



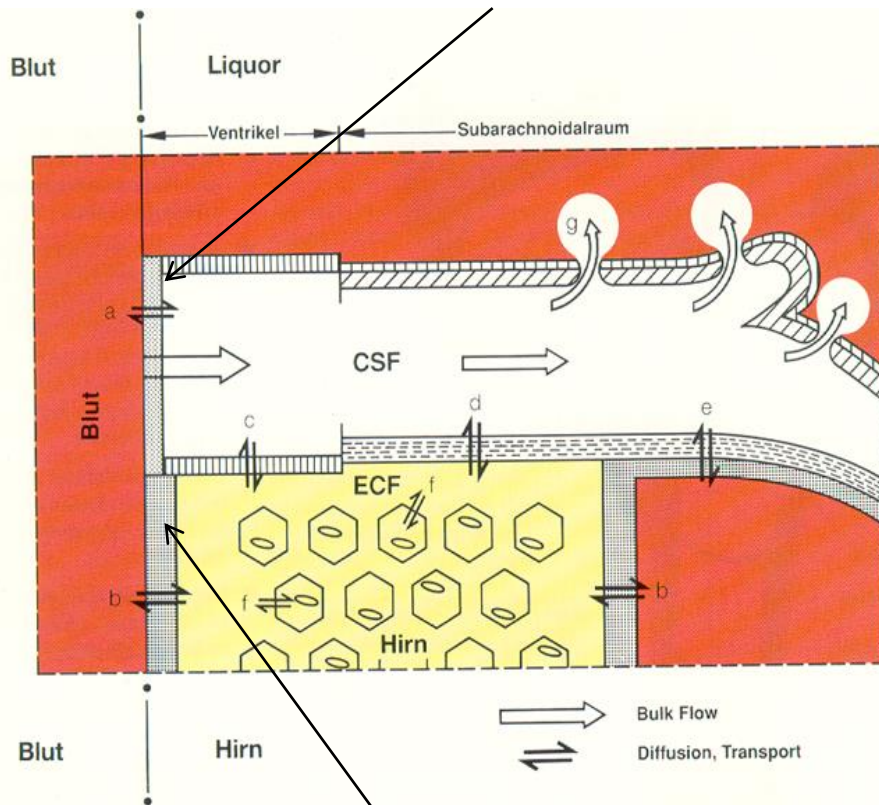
Aufgabe 2: Liquor Anatomie und Physiologie

- Beschreiben Sie kurz die Bedeutung der Blut-Hirn-Schranke und die Blut-Liquor-Schranke.
- Überlegen Sie sich dazu eine knappe Skizzierung.
 - WOFÜR sind beide Schrankensysteme permeabel?
 - WELCHE Bedeutung hat die Blut-Liquor-Schranke?
 - In welchem zeitlichen Rahmen werden Proteine filtriert:
 - a) Albumin
 - b) Immunglobulin G
- Blättern Sie erst dann weiter

Weiter

Aufgabe 2: Liquor Anatomie und Physiologie

Blut-Liquor-Schranke



Blut-Hirn-Schranke

Blut-Hirn- und Blut-Liquor-Schranke:

- Beide Schrankensysteme sind permeabel für Zellen.

Blut-Liquor-Schranke:

- funktionelle, selektive Barriere, welche einen eingeschränkten Austausch von Molekülen und Zellen erlaubt
- Filterfunktion für Proteine
 - Albumin 1 – 2 Tage
 - IgG 2 – 4 Tage

Weiter

Aufgabe 3: Indikation für Liquor-Untersuchungen

- Wozu dienen Liquor-Untersuchungen vor allem?
- Nennen Sie wenigstens 4 verschiedene Krankheitsbilder, bei denen sinnvollerweise klinisch-chemische Laboruntersuchungen im Liquor durchgeführt werden.
- Blättern Sie erst dann weiter

Weiter

Aufgabe 3: Indikation für Liquor-Untersuchungen

- Indikation für Liquor-Untersuchungen:

Diagnostik und Verlaufskontrolle von ZNS-Erkrankungen

- Verschiedene Krankheitsbilder, bei denen klinisch-chemische Liquor-Untersuchungen durchgeführt werden:

Infektionen:	Meningitis, Encephalitis (Bakterien, Viren, Pilze)
Autoimmunerkrankung:	Multiple Sklerose
Trauma:	Subarachnoidal-Blutung
Neoplasie:	Solide Tumoren, Leukämien, Lymphome

Weiter

Liquordiagnostik: Präanalytik

- **Entnahmereihenfolge:** 3 Tropfen verwerfen, (1 EDTA-Röhrchen), mehrere Nativ-Röhrchen, insges. 2 – 5 ml
- **Zeitpunkt der Liquor-Punktion notieren;** Liquor unmittelbar ins Labor transportieren
- **Probenstabilität:**
 - Liquor-Zellen: Zellzählung innerhalb von 1 – 2 h (bei Raumtemperatur), da *in vitro* schnelle Zytolyse erfolgt
 - Liquor-Proteine: 1 Woche bei 2 – 8°C haltbar, darüber hinaus bei –70°C
- **Serum und Liquor zeitnah entnehmen** (zeitl. Abstand max. 30 min.) und zusammen analysieren

Liquordiagnostik: Visuelle Beurteilung

Visuelle Aspekte:

- **Kristallklar** → Normalbefund
- **Trübung** (u.U. leichte Färbung):
 - Leukozyten > 1000/μl, Proteine, Mikroorganismen
- **Blutige Liquor-Probe:**



Abb. 23: Xanthochromer Liquor.
Links: Nach mehrzei-
tiger Subarachnoidal-
blutung. 787/3 Zellen,
davon 30% Makro-
phagen. Gesamteiweiß
219 mg%.
Mitte: Polyradikulitis.
29/3 Zellen. Gesamt-
eiweiß 640 mg%.
Rechts: Normalbefund.

„**3 Gläser Probe**“ → makroskopische Differenzierung zwischen
artifizieller (von Glas 1 bis 3 abnehmend blutig) vs.
subarachnoidaler (von Glas 1 bis 3 gleichbleibend blutig) Blutung

nach Zentrifugation:

- Überstand klar → frische Blutung
- Überstand xanthochrom → ältere Blutung (Abbauprodukte)

Liquordiagnostik: Laborbefunde gesamt

1. **Zytologie** → Zellzahl: Leukozyten und Erythrozyten
→ Zelldifferenzierung

2. **Glukose-** und **Laktat-Konzentration**

3. **Gesamtprotein-Konzentration**

4. **Protein-Differenzierung**
 - a. **Albumin** → Zustand der Blut-Liquor-Schranke
 - b. **Immunglobuline** IgG, IgA, IgM
und
oligoklonale Banden
→ intrathekale Immunglobulin-Synthese
(V. a. chronisch entzündlichen Prozess)

Liquordiagnostik: Zytologie, Zellzahlen

Leukozyten- und Erythrozytenzählung

- Messung mittels Durchflusszytometer
- Normal: < 5 Leukozyten/ μl

Typische Leukozytenzahl-Befunde bei neurologischen Erkrankungen:

- 5 - 30/ μl : Multiple Sklerose, virale Encephalitiden (HIV, VZV u.a.)
akute Neuroborreliose
- 30 - 300/ μl : akute virale Meningitiden, FSME, tuberkulöse/
mykotische Meningitis, Hirnabszess
- $> 300/\mu\text{l}$: bakterielle Meningitis

→ **Fazit:**

Zellzahl kann Hinweise geben, ist aber relativ unspezifisch.

Liquordiagnostik: Zytologie, Zellart

Zelldifferenzierung

im gefärbten Zytozentrifugenpräparat

Normal: Lymphozyten 70 bis 100% und Monozyten bis 30%

Pathologisch:

- **Neutrophile** Granulozyten: **akuter Prozess, bakterielle Meningitis**, Frühphase viraler Meningitiden; i.R. der DD achten auf:
 - phagozytierte Bakterien (Staphylokokken, Meningokokken u.a.)
- **Lymphozyten/ Monozyten: chronischer Prozess, virale Meningitis, Multiple Sklerose (MS)**, Spätphase der bakteriellen Meningitis
- **Eosinophile >5%: Parasitosen, TBC, Fremdkörper (Drainagen)**
- **Tumorzellen:** Zellen solider Tumoren (u.U. Blasten, Lymphomzellen)

Liquordiagnostik: Glukose + Laktat

Indikation: Differenzierung bakterielle vs. virale Meningitis

Normal: Glukose > 50% der Serumkonzentration
 Laktat < 2,1 mmol/l

Bewertung:

Liquor-Glukose < 40 mg/dl und Liquor-Laktat > 3,5 mmol/l
und Liquor-Leukozytose > 1000/ μ l → **bakterielle Meningitis**

Liquor-Glukose und -Laktat unauffällig → **virale Meningitis**

Cave:

Glukose und Laktat jenseits der Grenzwerte auch bei SAB (Subarachnoidalblutung) und ggf. bei Tumoren möglich

Liquordiagnostik: Gesamtprotein ($T_{\text{otal}} P_{\text{rotein}}$)

TP im Liquor: Summe aus Proteinen des ZNS (< 20%)
und Plasma-Proteinen (> 80%)

Normal: 200 - 500 mg/l (= 1/200 der Proteinkonzentration im Serum)

Bewertung:

Erhöhung der Gesamtproteinkonzentration im Liquor bei:

- Störung der Blut-Liquor-Schranke
- Proteinsynthese innerhalb des Liquorraumes
(= intrathekal)
- Blutung in die Liquorräume

Liquordiagnostik: Proteindifferenzierung Albumin

Albumin im Liquor:

Markerprotein zum **Ausschluss einer Schrankenstörung**

denn **Albumin**

- wird **ausschließlich außerhalb des Gehirns synthetisiert**, damit
- idealer Parameter, um Einflüsse und Einschränkungen für die Protein-Passage vom Blut in den lumbalen Liquor zu charakterisieren

WICHTIG:

- **Parallele Einsendung und Analyse** einer Serum- und Liquorprobe
- **Albumin-Quotient:**

$$Q_{\text{Alb}} = (\text{Alb-Liquor (CSF)} / \text{Alb-Serum}) \times 10^{-3}$$

→ quantitatives **Maß für die Blut-Liquor-Schrankenfunktion**

Liquordiagnostik: Proteindifferenzierung Albumin

Bewertung des Q_{Alb} :

Referenzbereiche: altersabhängig!

Neugeborene:	unreife Arachnoidalzotten → Liquorfluss ↓ → Liquor-Albuminkonzentration ↑ (Q_{Alb}	8 – 28)
Kleinstkinder:	Q_{Alb} fällt auf niedrigste Werte	(4 – 6 Mon.: 0,5 – 3,5)
Jugendliche:		(15j.: < 5)
und	Q_{Alb} steigt mit dem Alter	(40j.: < 6,5)
Erwachsene:		(60j.: < 8)

$$Q_{\text{Alb max}} = (4 + \text{Alter}/15) \times 10^{-3}$$

Q_{Alb} steigt bei Störungen der Blut-Liquor-Schranke

Beispiele: Akute Meningitis, Enzephalitis, chronisch-entzündliche Prozesse

Reine Schrankenstörung: überwiegend nicht entzündlich

Beispiele: Tumore (primär + Metastasen), Ischämie (Hirnfarkt), Traumata

Liquordiagnostik: Proteindiff. Immunglobuline

Immunglobuline (= Ig) G, A, M im Liquor:

Nachweis einer **intrathekalen Ig-Synthese**

denn **Immunglobuline**

→ werden **bei entzündlichen Erkrankungen mit ZNS-Beteiligung im Liquorraum synthetisiert**

→ ideale Parameter als Hinweise auf intrathekale Infektionen

WICHTIG:

- **Parallele Einsendung und Analyse** einer Serum- und Liquorprobe
- **Immunglobulin-Quotienten:**

$$Q_{\text{Ig(G,A,M)}} = \text{Ig-Liquor (CSF)} / \text{Ig-Serum} \times 10^{-3}$$

werden zusammen mit dem Albumin-Quotienten bewertet, um das Verhältnis zwischen Schrankenstörung und lokaler Synthese zu beurteilen (siehe REIBER-Diagramm).

Liquordiagnostik: Proteindiff. Immunglobuline

Beispiele für typische Konstellationen lokal synthetisierter Immunglobuline

1-Klassenreaktion:

- IgG: MS, HSV, HIV
- IgM: NHL

2-Klassenreaktion:

- IgG/IgA: bakt. Meningitis
- IgG/IgM: FSME

3-Klassenreaktion:

- Neuroborreliose
- Mumps-Meningoenzephalitis

Liquordiagnostik: Proteindifferenzierung

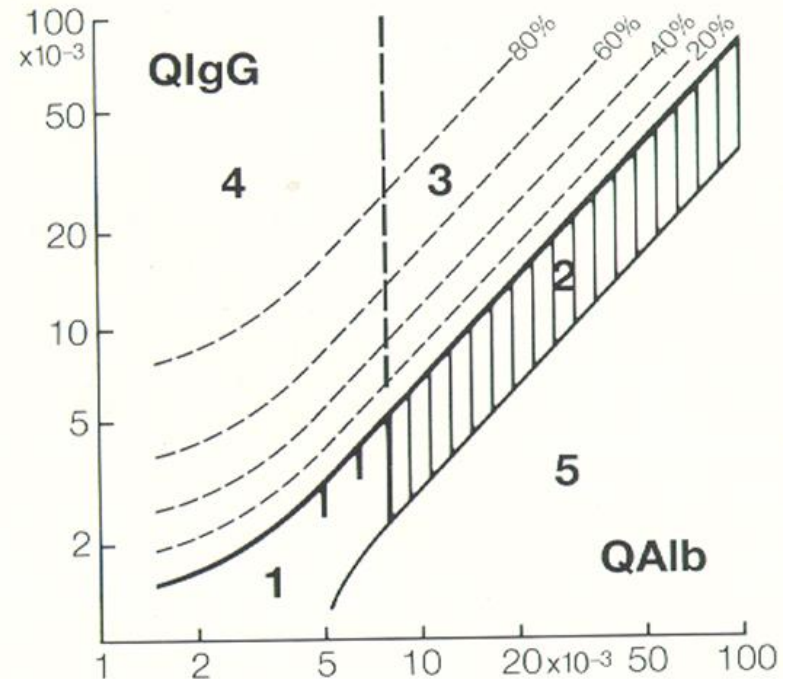
Reiber Diagramm

→ grafische Darstellung zur Beurteilung, ob eine Störung der Blut-Liquor-Schranke und/oder eine intrathekale Immunglobulin-Synthese vorliegt

Interpretation:

Ermittelter Quotient liegt im Feld von

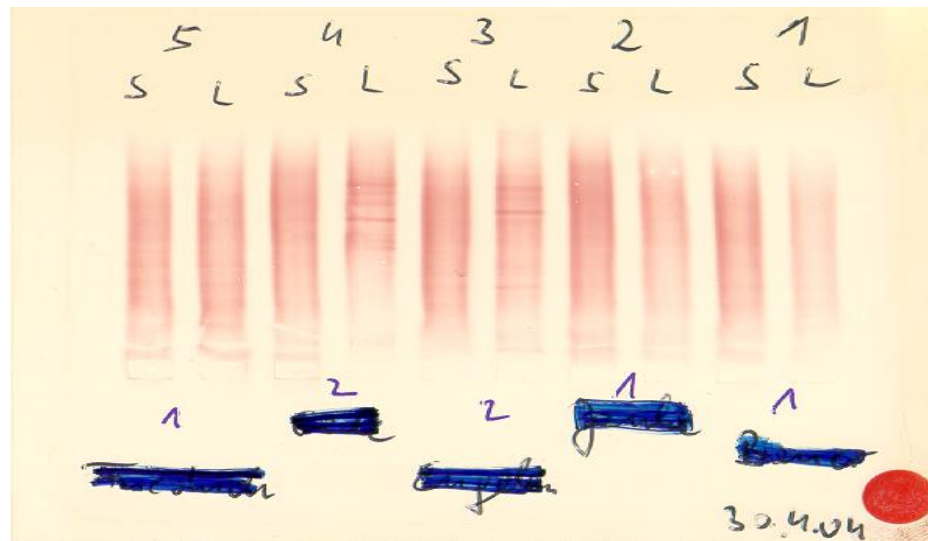
- 1 = Referenzbereich
- 2 = reine Schrankenstörung
- 3 = Schrankenstörung mit lokaler IgG-Synthese im ZNS
- 4 = reine lokale IgG-Synthese
- 5 = prä- oder analytischer Fehler



Liquordiagnostik: Oligoklonale Banden

Qualitativer Nachweis von oligoklonalen IgG-Fractionen

- Indikation:
Nachweis intrathekal synthetisierter IgG-Fractionen,
zum Beispiel bei MS
- Methode:
Isoelektrische Fokussierung und nachfolgende Immundetektion



Liquordiagnostik: Rhinoliquorrhoe

β -Trace-Protein

→ Nachweis von Liquor in Sekreten

Fragestellung: Liquor-Beimengung im Nasensekret?

Im Nasensekret ist β -Trace-Protein in sehr niedriger Konzentration vorhanden.

β -Trace-Protein-Konzentration im Nasensekret \uparrow :

Hinweis auf eine Liquorfistel oder eine offene Verbindung zum Liquorraum

Liquordiagnostik: Was gibt es sonst noch?

- Erreger-spezifischer Antikörper-Index:
bei verschiedenen viralen Erkrankungen
- Tumormarker:
u.a. CEA, AFP, HCG, β_2 -MG
- Durchflusszytometrie:
u.a. Nachweis aktivierter B-Lymphozyten
- Nachweis spezieller Proteine:
u.a. bei Morbus Alzheimer (Tau-Protein, β -Amyloid)
- Mikrobiologische Diagnostik

Zusammenfassung LIQUOR-DIAGNOSTIK

	visuell	Zellen Zahl	Zellen Art	Gluk. mg/dl	Lakt. mmol/l	TP mg/l	Protein- diff.	Sonst
Bakterielle Meningitis	trüb, eitrig	↑↑↑ bis mehrere 1000	Neutrophile	↓↓↓ <20	↑↑↑ >>3,5	↑↑↑ >100	<u>Blut-Liquor- Schrankenstörung:</u> Q-Alb >25 <u>intrathek. Ig-Synth.:</u> oft nein	
Tuberkul. Meningitis	klar bis trüb (ZZ?!)	↑ bis ↑↑ oft einige 100	überwiegend mononukleäre Zellen (aber auch NE + EO)	↓↓↓ <20	↑ >3,5	↑	<u>Blut-Liquor- Schrankenstörung:</u> Q-Alb >20 <u>intrathek. Ig-Synth.:</u> IgG + IgA	Fibrinfäden
Virale Meningitis	klar	↑ bis wenige 100	mononukleäre Zellen	normal	normal = <2,1	(↑)	<u>Blut-Liquor- Schrankenstörung:</u> Q-Alb bis 20 <u>intrathek. Ig-Synth.:</u> alle Ig möglich	
Multiple Sklerose	häufig klar	(↑) meist <30	überwiegend mononukleäre Zellen	normal	normal	(↑)	<u>Blut-Liquor- Schrankenstörung:</u> eher leicht (Q-Alb <10) <u>intrathek. Ig-Synth.:</u> möglich; IgG	Oligoklonale Banden MRZ-Reakt. positiv
Tumor- erkrankung	klar	variabel	variabel, u.U. Tumorzellen	normal bis (↓)	normal bis (↑)	(↑)	<u>Blut-Liquor- Schrankenstörung:</u> Q-Alb bis 10 <u>intrathek. Ig-Synth.:</u> möglich; IgG	Tumorzellen Tumormarker

Literaturangaben/Quellen

- Thomas L., Labordiagnostik neurologischer Erkrankungen. In: Lothar Thomas, ed. Labor und Diagnose, TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt 2012, 8. Auflage, Band 2, S. 2144 - 2169
- Ausgewählte Methoden der Liquordiagnostik und Klinischen Neurochemie, Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und Klinische Neurochemie e.V., 3. Auflage überarbeitet und ergänzt von Dr. M. Wick, München 2014.
- Gressner A. und Arndt T., Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik, Springer Medizin Verlag Heidelberg 2007, S. 779-852
- Lothar Thomas, Proteindiagnostik : Diagnose, Therapiekontrolle, Behringwerke AG, Frankfurt am Main 1991 , S. 140 - 167