

## Abschlussbericht

Titel des Projektes:

**Sind die Bestimmungen des Chemokins CXCL13 und von Autoantikörpern gegen neuronale Antigene als Screeningverfahren im Rahmen der Differentialdiagnostik neurologischer Erkrankungen sinnvoll?**

Förderkennzeichen: 1369 - 444

Fördersumme: 17.500 €

Laufzeit: 01.1.2009 - 31.12.2010

Leitung der Studie: Prof. Dr. med. H.-J. Hagedorn,  
Leiter des Konsiliarlabors Treponema Diagnostik und  
Therapie in Kooperation mit Labor Krone, Bad Salzuflen

Mitarbeiter im Projekt: Dipl. biol. Anna Kraminer-Hagedorn MSC,  
Spirolab GmbH, Bad Salzuflen  
Immunologische Abteilung Labor Krone:  
S. Jorde, I. Pieper, B. Hartmeier, D. Halstenberg, C. Bialek  
Dr. rer. nat. Dr. med. D. Münstermann, Labor Krone

Frau Dr. med. S. Marckmann-Boenke  
Oberärztin, Neurologische Klinik  
Johannes Wesling Klinikum  
Hans-Nolte-Str.1, 32429 Minden

Ansprechpartner  
für das Projekt:

Prof. Dr. H.-J. Hagedorn  
Dr. med. Dr. rer. nat. D. Münstermann  
Labor Krone  
Siemensstr. 40  
32105 Bad Salzuflen  
Telefon: 05222 80 76 – 143  
E-mail: info@laborkrone.de



## Inhaltsverzeichnis

<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Einleitung</b> .....	<b>3</b>
<b>2. Fragestellungen der Studie</b> .....	<b>5</b>
<b>3. Patienten</b> .....	<b>6</b>
<b>4. Methoden</b> .....	<b>8</b>
<b>5. Ergebnisse</b> .....	<b>10</b>
<b>6. Diskussion und Gesamtbeurteilung der Studienergebnisse</b> .....	<b>41</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b> .....	<b>45</b>
<b>8. Verbreitung und Öffentlichkeitsarbeit der Projektergebnisse</b> .....	<b>46</b>
<b>9. Verwertung der Projektergebnisse (Nachhaltigkeit/Transferpotential)</b> .....	<b>46</b>
<b>10. Publikationsverzeichnis</b> .....	<b>46</b>

## Zusammenfassung

Die Abgrenzung entzündlicher und nichtentzündlicher neurologischer Krankheitsbilder ist eine häufige klinische Fragestellung und kann im Einzelfall sehr schwierig sein. Hierbei können labordiagnostische Verfahren sehr hilfreich sein. In den letzten Jahren wurde das diagnostische Methodenspektrum wesentlich erweitert durch die Möglichkeit, einen Marker der B-Zellaktivierung, das Zytokin CXCL13 quantitativ in Serum und Liquor zu bestimmen sowie durch die Entwicklung neuer Testsubstrate für die Detektion neuronaler Antikörper. Im Rahmen dieser Studie sollte der Stellenwert der CXCL13-Bestimmung in der neurologischen Routinediagnostik und ergänzend zur Beurteilung von Liquorbefunden bei Syphilispatienten untersucht werden. In einem zweiten Studienarm wurde dann eine orientierende Untersuchung zur Prävalenz neuronaler Antikörper in Serum und Liquor bei Patienten aus einer neurologischen Klinik angeschlossen.

Im Rahmen der CXCL13-Studie untersucht wurden 180 Serum/Liquor-Paare von 174 nicht vorselektierten neurologischen Patienten und weitere 106 Liquor- und 100 Serumproben von 91 Patienten mit Neuroborreliose, Syphilis in verschiedenen Erkrankungsstadien, mit gesicherten oder vermuteten ZNS-Infektionen sowie positiven Markern für ZNS-Erkrankungen entzündlicher Genese. Die Untersuchung auf neuronale Antikörper erfolgte in einer anderen Stichprobe von 100 nicht vorselektierten Serum/Liquor-Paaren aus der Routinediagnostik im Liquorlabor.

Die quantitative Bestimmung des CXCL13 in Serum und Liquor erfolgte mit dem Quantikine® human-ELISA der Firma R&D Systems, die Bestimmung neuronaler Antikörper mittels Biochip-Mosaiken (Ratten-Kleinhirn und -Hippocampus-Gewebeschnitte sowie rekombinante Zellen) der Fa. Euroimmun.

Die CXCL13-Befunde zeigten keine direkte Abhängigkeit der Messwerte im Liquor von der Konzentration im Serum oder dem Funktionszustand der Blut-Liquor-Schranke. Daher wurden die Liquorbefunde nach ausführlicher Analyse des Problems ohne weitere Korrektur (Berechnung von Liquor/Serum-Quotienten oder Bezug auf Liquorgesamteiweiß) ausgewertet und wie folgt klassifiziert:

CXCL13 i. L. < 10 pg/ml normal, 10 - < 15 pg/ml grenzwertig, 15 - < 100 pg/ml erhöht,  $\geq 100$  pg/ml stark erhöht. Es konnte bestätigt werden, dass bei akuter Neuroborreliose in der Regel hochpositive Werte (Median 770 pg/ml) gefunden werden. Bei aktiver Neurosyphilis fanden sich bei 3 von 6 Fällen ähnlich hohe CXCL13-Konzentrationen im Liquor, 3 Patienten zeigten gering erhöhte Werte von 15 - 37 pg/ml. Von 18 Patienten, bei denen meist im Rahmen einer Syphilis in den Frühstadien der Verdacht auf eine ZNS-Beteiligung bestand bzw. ausgeschlossen werden sollte, fanden sich sechsmal CXCL13-Liquorwerte > 100 pg/ml und viermal niedrigere Werte zwischen 85 und 31 pg/ml als möglichen Hinweis auf einen aktiven immunologischen Prozess und somit z.B. auch auf eine asymptomatische Neurosyphilis. Stark erhöhte CXCL13-Liquorwerte > 100 pg/ml finden sich aber nicht nur bei Neuro-Borreliose und -Syphilis sondern auch bei anderen bakteriellen Infektionen, z. B. mit Listerien oder Staphylokokkus aureus. In einem Fall

wurde dieses Phänomen auch bei einer Pneumokokken-Infektion beobachtet. In seltenen Fällen sind auch andere Ursachen für eine CXCL13-Erhöhung im Liquor zu beachten. So fand sich im Rahmen dieser Studie ein CLL-Patient mit einer stark erhöhten CXCL13-Liquorkonzentration von 711 pg/ml. Eine differentialdiagnostische Abgrenzung von viralen Infektionen scheint möglich zu sein. Bei zwei Patienten mit positiver HSV-PCR im Liquor waren die CXCL13-Werte unauffällig. Bei sonstigen ZNS-Erkrankungen entzündlicher Genese aber auch in anderen Patientengruppen wurden z. T. leicht erhöhte CXCL13-Werte registriert.

Das CXCL13-Screening im Liquor kann wichtige differentialdiagnostische Hinweise geben. Bei der Untersuchung der 174 Patienten des Routinepanels fanden sich in neun Fällen hochpositive CXCL13-Liquorwerte > 100 pg/ml. Nur in vier Fällen wurde die Diagnose Neuroborreliose gestellt. Vier weitere Fälle betrafen bakterielle Infektionen anderer Genese, in einem Fall blieb die Ursache der CXCL13-Erhöhung unklar. Im Panel 2 fanden sich drei weitere solche Fälle, bei denen als Ursache der CXCL13-Erhöhung im Liquor zwar eine Borreliose und eine Syphilis ausgeschlossen waren, aber Untersuchungen auf mögliche andere infektiöse Ursachen in den Befunden nicht dokumentiert waren.

Die Befunde dieser Studie verdeutlichen, dass die CXCL13-Bestimmung im Liquor, aber auch im Serum wertvolle differentialdiagnostische Hinweise geben kann, und dass in einem Teil der Fälle sich Befundkonstellationen zeigen, die mit den dokumentierten Diagnosen der Patienten nicht sicher in Einklang zu bringen sind. Daher sollte insbesondere bei hochpositiven CXCL13-Liquorbefunden nach Ausschluss einer Borreliose oder Syphilis auch eine weiterführende Diagnostik zum Nachweis bzw. Ausschluss anderer Infektionserreger angestrebt werden.

Ein Routine-Screening auf neuronale Antikörper in Serum und Liquor scheint hingegen wenig effektiv zu sein. In einer Stichprobe von 100 nicht vorselektierten Patienten waren die Liquorbefunde in allen Fällen negativ. Im Serum fanden sich wenige schwach positive Testresultate, die jedoch nicht als diagnostisch richtungsweisend einzuordnen waren. Hier scheint es sinnvoller, ausgehend von gezielten klinischen Fragestellungen, insbesondere bei Enzephalitis ungeklärter Genese und bei Verdacht auf paraneoplastische Syndrome diese aufwendige und teure Diagnostik gezielt einzusetzen.

## 1. Einleitung

Die Abgrenzung entzündlicher und nichtentzündlicher neurologischer Krankheitsbilder ist eine häufige klinische Fragestellung und kann im Einzelfall sehr schwierig sein. Hierbei kommt der Laboratoriumsdiagnostik wichtige Bedeutung zu. Oftmals finden sich jedoch nur relativ diskrete laborchemische Veränderungen, die der jeweiligen Verdachtsdiagnose schwer zuzuordnen sind.

So wird z. B. die Verdachtsdiagnose einer Enzephalitis im klinischen Alltag oft gestellt und resultiert unter anderem aus Veränderungen des Bewusstseins, Störungen der Gedächtnisleistung, psychotischen Symptomen oder neu aufgetretenen epileptischen Anfällen [8]. Im Rahmen der Differentialdiagnostik wird in der Regel zunächst im Liquorlabor ein Grundprogramm ausgeführt.

Dieses beinhaltet meist die Bestimmung folgender Parameter:

Liquorzellzahl und ggf- Zelldifferenzierung, Liquor-Gesamtweiß, Liquor-Lactat, Albumin in Serum und Liquor zur Beurteilung des Funktionszustandes der Blut-Liquor-Schranke sowie die Untersuchung auf eine mögliche intrathekale IgG-, IgA- und IgM-Synthese.

Bei Verdacht einer erregerbedingten Erkrankung wird dann zusätzlich im Liquorlabor häufig eine Ausschlussdiagnostik neurotroper Viren, insbesondere von Herpes simplex, veranlasst oder auch eine vergleichende Antikörperdiagnostik in Serum und Liquor angefordert zum Nachweis/Ausschluss einer lokalen Immunantwort im ZNS als Hinweis auf eine erregerassoziierte ZNS-Erkrankung (z.B. Borrelien, Treponemen, Varizella-Zoster, u.a.). Aus Kostengründen wird hierbei das Untersuchungsspektrum z. T. sehr stark eingegrenzt und unter der Annahme, dass es sich um eine Erkrankung mit einem nicht diagnostizierten Erreger handelt, die Diagnose einer Enzephalitis unklarer Genese gestellt, oder aber die mögliche infektiöse Genese der aktuellen Erkrankung verworfen. In diesem Zusammenhang wird die Möglichkeit einer autoimmunen Ätiologie einer neurologischen Erkrankung (z. B. der Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis) meist völlig außer Acht gelassen [8].

Unter den erregerassoziierten ZNS-Erkrankungen ist heute die Neuroborreliose sicher eine der häufigsten Fragestellungen. Hier spielt der direkte Erregernachweis im Liquor in der Praxis kaum eine Rolle, da die Sensitivität der Nachweisverfahren unzureichend ist. Die Diagnosestellung erfolgt bei passender klinischer Symptomatik und lymphozytärer Pleozytose durch den Nachweis einer borrelienspezifischen Antikörpersynthese im ZNS. Diese kann jedoch in der Frühphase der Erkrankung noch fehlen [4,5,6,10]. Auch sind falsch negative Antikörperbefunde bei Anwendung von Testverfahren, die genotypspezifische Antikörper einzelner Borrelien-Subspezies nicht ausreichend detektieren, möglich. In einem Teil der Fälle wird die Borrelienantikörper-Diagnostik im Liquor bei meist unspezifischen klinischen Bildern veranlasst, weil im Serum des Patienten Borrelienantikörper nachgewiesen wurden oder auch nur keine andere Erklärung für die klinischen Symptome gefunden wurde.

Eine andere Fragestellung, die heute insbesondere HIV-infizierte Patienten betrifft, ist die Abklärung des Verdachtes einer möglichen ZNS-Beteiligung im Rahmen einer Syphilis im Frühstadium. Anhaltspunkte für einen ZNS-Befall durch Treponemen können bei der Liquor-Untersuchung sein eine Störung des Funktionszustandes der Blut-Liquor-Schranke, eine Zellzahlerhöhung im Liquor, der Nachweis einer intrathekalen Treponemen-Antikörpersynthese oder ein positiver Lipoidantikörperbefund im Liquor bei gleichzeitigem Nachweis treponemenspezifischer Antikörper [11]. Die Diagnose der Neurosyphilis in späteren Stadien erfolgt in der Regel durch Nachweis der intrathekalen Antikörpersynthese.

Im Rahmen der Abklärung neurologischer Krankheitsbilder wird zunehmend geprüft, wieweit die Untersuchung von Botenstoffen des Immunsystems im Liquor, z.B. von Interleukin 10, Interleukin 6, Interferon  $\gamma$  und anderen Zytokinen differentialdiagnostische Hinweise geben kann. In diesem Zusammenhang wurde für die akute Neuroborreliose vor wenigen Jahren erkannt, dass das Zytokin CXCL13 in extrem hoher Konzentration im Liquor nachweisbar ist und bereits früher als die Antikörperdiagnostik einen Hinweis auf die Diagnose geben kann [4,5,6,10]. CXCL13, ursprünglich bezeichnet als B-Lymphocyte Chemoattractant (BLC) und auch B Cell-Attracting chemokine 1 (BCA-1) ist wichtig für die Entwicklung sekundärer lymphatischer Gewebe und die Steuerung von B-Lymphozyten innerhalb der Mikrokompartimente dieser Gewebe. Es handelt sich um ein komplexes Protein, das sich aus 109 Aminosäuren zusammensetzt. In experimentellen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Stimulation dendritischer Zellen mit Ultraschallsonikat von *B. burgdorferi* zu einer Hochregulation von CXCL13 mRNA führt und in der Folge große Mengen von CXCL13 im Zellüberstand nachweisbar werden [7].

In anderen experimentellen Untersuchungen wurde gezeigt, dass Pneumokokken-Antigene diesen Effekt nicht bewirken [11]. In mehreren Untersuchungen wurde festgestellt, dass insbesondere bei Spirochätosen, vor allem bei ZNS-Infektion mit *B. burgdorferi* s.l. [4,5,6,7,8,11,12] aber auch bei Rückfallfieber-Infektion mit *B. turicatae* [2] und auch bei Neurosyphilis-Patienten [11] deutlich erhöhte CXCL13-Werte im Liquor nachzuweisen sind. Eine weitere Arbeit beschrieb dieses Phänomen jedoch auch für afrikanische Patienten mit Schlafkrankheit (human African trypanosomiasis meningo-encephalitis) [1]. In anderen Studien konnte gezeigt werden, dass leicht erhöhte CXCL13-Werte auch bei anderen entzündlichen ZNS-Erkrankungen zu finden sind, z. B. bei multipler Sklerose oder Meningitiden anderer Genese [3,4]. Die gefundenen Werte sind jedoch signifikant niedriger als die Befunde bei Neuroborreliose-Patienten. Auf Grund der bislang publizierten Erfahrungsberichte scheint die CXCL13-Bestimmung im Liquor für die Diagnose insbesondere der Neuroborreliose, vielleicht auch der Neurosyphilis und die Abgrenzung gegen entzündliche ZNS-Erkrankungen anderer Genese einen wichtigen Beitrag leisten zu können.

In dem Komplex der Enzephalitiden unklarer Genese finden sich aber auch Patienten, bei denen keine infektiöse, sondern eine autoimmune Komponente von maßgeblicher ätiologischer Bedeutung ist. Bei einem Teil der Patienten mit subakutem enzephalitischen

Syndrom wird basierend auf MRT-Befunden und Klinik die Diagnose einer limbischen Enzephalitis gestellt. Seit langem bekannt ist die Koinzidenz mit verschiedenen Karzinomen. Daher galt die limbische Enzephalitis über Jahrzehnte als eine sehr seltene Erkrankung, die nahezu immer im Rahmen einer Krebserkrankung auftritt. Durch Fortschritte in der Bildgebung und durch den Nachweis verschiedener paraneoplastischer Antikörper wurde in den 1990er Jahren klar, dass die Diagnose einer limbischen Enzephalitis wesentlich häufiger ist als zuvor angenommen. Zunehmend werden in dieser Patientengruppe Fälle beobachtet, bei denen die klassischen paraneoplastischen Antikörper (Hu, Yo, Ri, PNMA2, CV2.1, Amphiphysin) nicht nachgewiesen werden können, aber Antikörper gegen neuronale Oberflächenantigene auf Hirnschnitten von Rattenhipocampus oder Kleinhirn gefunden werden. Durch Identifizierung einzelner spezifischer Antigene gelang bereits eine Aufteilung in immunologische Krankheitsbilder mit Autoantikörpern gegen spannungsabhängige Kaliumkanäle (VGKC) sowie gegen Glutamatrezeptoren und hier in erster Linie gegen N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptoren (NMDAR) und AMPA-Rezeptoren (GluR1/2). Die Charakterisierung weiterer Antigene ist zu erwarten [9]. Die Abgrenzung der Patientengruppe mit Enzephalitiden mit Antikörpern gegen neuronale Oberflächenantigene ist wichtig, da bei diesen weitaus seltener Tumoren nachweisbar sind und sich bessere Therapieoptionen ergeben als bei Patienten mit immunvermittelten Enzephalitiden gegen intrazelluläre Antigene wie z. B. Ma2 oder Hu [9]. Dass ein Screening auf Antikörper gegen neuronale Oberflächenantigene, insbesondere auch den NMDAR-Antikörper sinnvoll sein könnte zeigt die Erfahrung, dass wir im eigenen Patientengut bei retrospektiven Nachuntersuchungen innerhalb weniger Monate immerhin bereits bei drei Patienten NMDAR-Antikörper nachweisen konnten.

## 2. Fragestellungen der Studie

Schwerpunkte dieser Studie waren folgende Fragestellungen:

- a) Während bislang bei CXCL13-Liquorstudien meist bestimmte Fallgruppen gezielt dargestellt und ausgewertet wurden, sollten in dieser Studie Erfahrungen gesammelt werden mit einer routinemäßigen CXCL-13 Bestimmung im Liquor unabhängig von einer Vorselektion bestimmter Patientengruppen.
- b) Nachdem für die akute Neuroborreliose der diagnostische Stellwert der CXCL13-Bestimmung im Liquor cerebrospinalis bereits gut dokumentiert ist, ergab sich für uns die Frage, ob dieser Test auch bei Patienten mit Neurosyphilis oder Verdacht auf eine ZNS-Beteiligung im Rahmen einer akuten Syphilis differentialdiagnostische Hinweise geben kann.
- c) Im Rahmen der Differentialdiagnostik von ZNS-Erkrankungen unklarer Genese, insbesondere im Rahmen der Enzephalitis-Diagnostik, sollte in einer ersten Stichprobe von nicht vorselektierten Patienten einer neurologischen Klinik geprüft

werden, ob eine Screening für Autoantikörper gegen neuronale Antigene unabhängig von einer gezielten klinischen Fragestellung sinnvoll sein könnte.

### 3. Patienten

Im Rahmen der CXCL13-Studie wurden 2 Probenpanel untersucht:

#### *Panel 1 (nicht vorselektierte Routineproben):*

Für die Beurteilung des diagnostischen Stellenwertes der CXCL13-Bestimmung im Liquor wurden 180 Serum- und Liquorproben von 174 nicht vorselektierten Patienten (96 Frauen, 78 Männer) aus der Routine einer neurologischen Klinik untersucht. Das mittlere Alter der Patienten betrug 51,9 Jahre (7 - 89 Jahre). Soweit Angaben zur Klinik verfügbar waren, wurden diese in die Auswertung einbezogen. Die Übersicht der Diagnosen bzw. der Versuch einer Zuordnung zu bestimmten Diagnosegruppen ergibt sich aus der Tabelle 1.

#### *Panel 2 (sonstige Proben):*

Dieses Probenpanel präsentiert 106 Liquor- und 100 Serum-Proben von 91 Patienten (24 Frauen, 67 Männer). Das mittlere Alter dieser Patientengruppe betrug 52,0 Jahre (15 - 86 Jahre). In diesem Panel wurden gezielt Proben zusammengefasst von Syphilis- und Borreliose-Patienten, aber auch von Patienten mit gesicherten oder vermuteten ZNS-Infektionen sowie unspezifischen Markern einer ZNS-Erkrankung entzündlicher Genese. Die Zuordnung zu bestimmten Diagnosegruppen ergibt sich ebenfalls aus der Tabelle 1. In diesem Panel sind auch alle Proben mit Treponemen-Antikörpern (n = 47) enthalten.

#### *Anmerkungen zur Probenklassifizierung:*

In einem Teil der Fälle handelt es sich um langzeitarchivierte Restproben von Patienten, bei denen im Rahmen dieser Studie keine zusätzlichen weiteren Tests durchgeführt werden konnten, und von denen oft detaillierte klinische Angaben nicht bekannt waren, und bei denen auch die Labordaten nicht immer vollständig verfügbar waren. In 6 Fällen war von Syphilispatienten nur noch die Liquor- aber nicht die Serumprobe vorhanden.

#### *Panel 3 (Autoimmun-Antikörperstudie):*

Im Rahmen der Studie zur Prävalenz neuronaler Antikörper bei Patienten aus einer neurologischen Klinik wurden 100 nicht vorselektierte Serum-Liquor-Paare untersucht. Eine weitergehende Spezifizierung erfolgte nicht, da keine klinischen Angaben zu diesen Proben vorlagen.

**Tabelle 1**

Übersicht über die im Rahmen der CXCL13-Studie untersuchten Proben

<b>Probenklassifikation</b>	<b>Routine Panel 1 Anzahl der Proben</b>	<b>Spezielle Proben Panel 2 Anzahl der Proben</b>
Akute Neuroborreliose	4	13
Intrathekale Antikörpersynthese, V. a. Neuroborreliose	0	7
Neuroborreliose, Verlaufskontrollen	1	4
Borreliose Ausschlussdiagnostik	2	6
Neurosyphilis	0	7
Verdacht auf Neurosyphilis	0	18
Syphilis Stadium I/II	0	9
Treponemenantikörper in Serum und Liquor, kein Anhalt für Neurosyphilis	0	13
Virale Meningitis	2	4
Verdacht auf virale Meningitis	7	2
Infektassoziierte Enzephalopathie	1	0
Staphylokokken-Meningitis	1	0
Listerien-Meningitis	3	0
Pneumokokken-Meningitis	0	2
Bakteriämie (Staph. Aureus, E. coli)	4	0
Abszessbildung (nicht ZNS)	1	0
Opticus-Neuritis	3	0
Retrobulbärneuritis	4	0
Idiopathische Fazialisparese	9	0
Paresen unklarer Genese	3	0
MS/Myelitis	2	1
Chronisch entzündliche ZNS-Erkrankung	4	0
Enzephalitis unklarer Genese	1	1
Guillain-Barré-Syndrom	2	0
V. a. chron. entzündl. ZNS-Erkrankung, nicht spezifiziert	6	9
Parästhesien, Polyneuropathie	5	2
Degenerative Wirbelsäulen-Erkrankung	8	1
Unspezifische Schmerzsymptomatik	3	0
Demenz, degenerative ZNS-Erkrankung	4	0
Schwindelattacken	12	0
Zerebrales Krampfleiden	10	0
Monoklonale Gammopathie	2	0
Tumor-Erkrankungen	7	0
Sonstige nichtentzündliche ZNS-Erkrankungen	10	0
Vaskuläre ZNS-Erkrankungen	26	0
Blutung, Blutbeimengung zum Liquor	8	1
ALS	0	3
Parkinson	1	0
Ausschlussdiagnostik, nicht spezifiziert	2	2
Keine Diagnose bzw. klinische Fragestellung bekannt	19	
<b>Gesamtzahl der Proben</b>	<b>180</b>	<b>106</b>

## 4. Methoden

### Liquor-Grunddiagnostik

Die Messwerte der Serum-/Liquor-Basisdiagnostik wurden aus den Routinebefunden des Liquorlabors übernommen. Die Bestimmung von Albumin und Immunglobulinen in Serum und Liquor sowie des Liquor-Gesamtweißes erfolgte nephelometrisch am BN II-Analyser der Firma Siemens, Eschborn, Deutschland.

Der Nachweis oligoklonaler Immunglobuline nach Angleich der IgG-Konzentration von Serum und Liquor auf jeweils ca. 3 mg/l erfolgte als in-house-Methode mittels isoelektrischer Fokussierung in Makro-Agarose-pH-Gradienten-Gelen (Serva, Heidelberg, Deutschland) mit nachfolgender Immunfixation zur Detektion der IgG-Banden.

Die Bestimmung von Zellzahl und ggf. Zelldifferenzierung erfolgte nicht im eigenen Labor, da bedingt durch z.T. lange Probentransportzeiten eine zuverlässige zytologische Liquordiagnostik nach Probenversand nicht gewährleistet war. Ggf. mitgeteilte Befunde aus den Kliniken wurden bei der Auswertung der Labortests berücksichtigt. Ebenso wurde die Liquorgesamteiweiß-Bestimmung nur in einem Teil der Fälle von uns durchgeführt. Entsprechende Angaben aus den Kliniken, die die Proben eingesandt hatten, lagen nicht in allen Fällen vor.

### Infektiologische Parameter

Soweit angefordert, wurde Antikörperdiagnostik für die eingesandten Proben in Liquor und Serum nach den üblichen Untersuchungsverfahren durchgeführt und ggf. Antikörper-Liquor/Serum-Quotienten berechnet. Virusnachweise im Liquor für HSV-1 und HSV-2 im Liquor erfolgten mittels Real-Time-PCR. Bakteriologische Befunde wurden aus Arztbriefen bzw. Mittelungen auf den Anforderungsbögen übernommen.

### CXCL13-Bestimmung in Serum und Liquor

Die CXCL13-Bestimmung in Serum und Liquor erfolgte mit dem Quantikine® human CXCL13/BLC/BCA-1 Immunoassay Testkit der Firma R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA, Vertrieb in Deutschland durch R&D Systems GmbH, Wiesbaden, Germany.

Der Test wird durchgeführt in mit monoklonalen Maus-Anti-CXCL13-Antikörpern beschichteten Mikrotiterplatten. Für die Testdurchführung wird aus dem im Kit enthaltenen CXCL13-Standard (Konzentration 5.000 pg/ml) mit einem speziellen Calibrator Diluent eine Standardreihe über sieben Verdünnungsstufen von 500 bis 7,8 pg/ml hergestellt. Als Nullwert (0 pg/ml) wird ein weiteres Well nur mit dem Calibrator Diluent beschickt. Für die Testdurchführung werden jeweils 50 µl der Standard-Verdünnungen und der unverdünnten Serum- bzw. Liquorproben in den Test eingebracht. Nach Inkubation von Standards und Proben während 2 Stunden bei Raumtemperatur, erfolgt dann nach Waschschritten eine wiederum zweistündige Inkubation mit einem zweiten Meerettich-Peroxidase konjugierten monoklonalen Antikörper und nachfolgender Entwicklung der Farbreaktion mit einem stabilisierten Chromogen (Tetramethylbenzidine) für die Detektion des an die Festphase gebundenen CXCL13. Die optische Dichte der Proben und Standards wird im Photometer

bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen und der CXCL13-Gehalt der Proben im Vergleich zu der doppeltlogarithmisch linearisierten Standardkurve bestimmt. Die untere Nachweisgrenze des Tests ist von Seiten des Herstellers mit 0,43 – 3,97 pg/ml, die Intra-Assay Präzision in einem Bereich von 50,2 – 294 pg/ml mit 2,7 – 4,3 %, die Inter-Assay Präzision in einem Bereich von 54,0 – 285 pg/ml mit 8,7 – 9,4 % angegeben.

## **Bestimmung von neuronalen Antikörpern in Serum und Liquor**

Für die Untersuchung von Serum- und Liquorproben auf neuronale Antikörper wurden Biochip-Mosaiken der Fa. Euroimmun, Lübeck, Deutschland verwendet. Als Testsubstrate kommen Gewebeschnitte von Ratten-Kleinhirn und -Hippocampus sowie rekombinante Zellen zur Anwendung. Die Untersuchung erfolgt mittels indirekter Immunfluoreszenz (IFT) gemäß Herstellerangaben. Für das Antikörperscreening wurden die Serumproben in einer 1:10 Verdünnung und die korrespondierenden Liquorproben unverdünnt getestet.

Folgendes Antikörperspektrum kann detektiert werden:

Anti-Hu, Anti-Ri, Anti-Yo, Anti-Tr, Anti-MAG, Anti-Myelin, Anti-Ma/Ta, Anti GAD, Anti-Amphiphysin, Anti-CV-2, Anti-Aquaporin-4, Anti-Glutamat-Rezeptoren (Typ NMDA), Anti-Glutamat-Rezeptoren (Typ AMPA), Anti-GABA-b-Rezeptoren, Anti-CASPR2, Anti-LG1 und Anti-Glycinrezeptor.

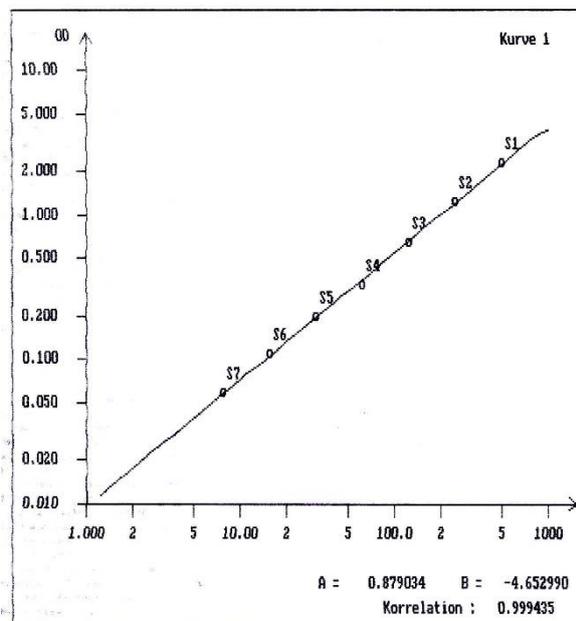
## 5. Ergebnisse

### CXCL13-Testperformance

Die gemäß Herstellerempfehlung empfohlene doppeltlogarithmische Darstellung der CXCL13-Standardkurve basierend auf 7 Messpunkten (S1 – S7, entsprechend CXCL13-Konzentrationen von 500 – 7,8 pg/ml) für die Berechnung der CXCL13-Konzentration in den individuellen Patientenproben zeigte während des gesamten Untersuchungszeitraumes gute Ergebnisse. Eine typische Standardkurve ist in der Abbildung 1 dargestellt.

### Abbildung 1

CXCL13-Standardkurve



Der Standard S1 entspricht einer CXCL13-Konzentration von 500 pg/ml, der Standard S7 einer CXCL13-Konzentration von 7,8 pg/ml.

Nach Herstellerangaben liegt die mittlere Extinktion nach Abzug der Extinktion des Null-Standards für den Standard S7 bei ca. 0,050 und für den Standard S1 bei ca. 2,618. In dem gezeigten Beispiel waren die aktuellen o.D.-Werte für den Standard S7 0,059 und für den Standard S1 2,331, entsprachen also den Herstellervorgaben. Im Verlaufe der insgesamt über nahezu 2 Jahre durchgeführten Testserien ergaben sich hinsichtlich der Testperformance keine Probleme.

Eine systematische Prüfung der Intra- und Inter-Assay-Reproduzierbarkeit für Liquorproben erfolgte nicht, da das erforderliche Probenvolumen von Originalproben in der Regel hierfür nicht ausreichte. Initial wurden zwei Liquorproben im Intra-Assay-Test geprüft. Eine hochpositive Probe mit einer mittleren Extinktion von 2,561 zeigte in fünf Ansätzen eine

Standardabweichung von 0,152 und einen VK von 5,9 %, eine schwach positive Probe mit einer mittleren Extinktion von 0,120 eine Standardabweichung von 0,013 und einen VK von 10,8 %. Für die Beurteilung der Inter-Assay-Variabilität konnten ebenfalls nur jeweils fünf Testungen für zwei Liquorproben erfolgen. Für eine hochpositive Probe mit einem mittleren CXCL13-Gehalt von 486,4 pg/ml betragen die Standardabweichung 86,8 pg/ml und der VK 17,8 %, für eine schwach positive Probe mit einem mittleren CXCL13-Gehalt von 10,8 pg/ml war die Standardabweichung 2,1 pg/ml und der Variationskoeffizient 19,7 %. Bei der insgesamt doch sehr großen Variationsbreite der Ergebnisse sind insbesondere niedrig positive Ergebnisse unterhalb des Standardwertes S7 mit einer CXCL13-Konzentration von 7,8 pg/ml, der schon nur noch eine korrigierte Extinktion von ca. 0,05 aufweist, kritisch zu sehen. ELISA-Werte in diesem o.D.-Bereich sollten im Regelfall nicht ausgewertet werden, da die Präzision nicht ausreichend ist.

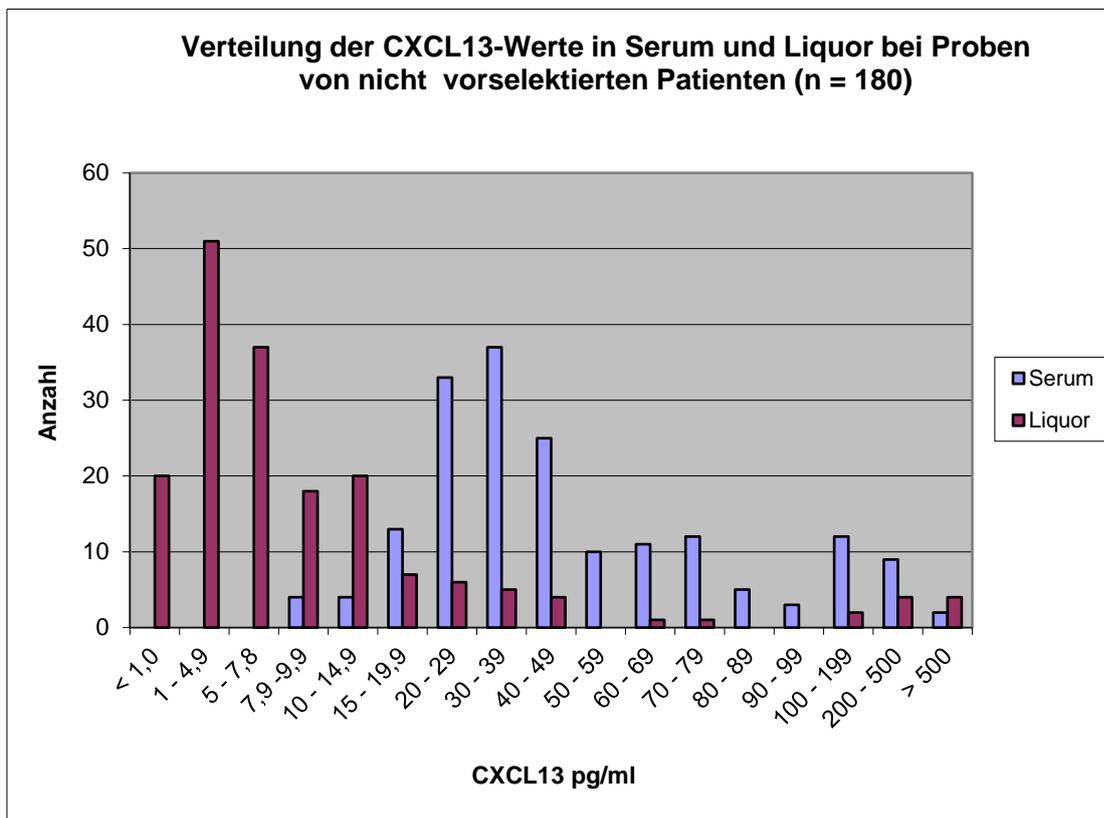
Die Extrapolation der Standardkurve in den Bereich von  $< 1,0 - 7,8$  ng/ml CXCL13 täuscht bei doppeltlogarithmischer Darstellung der Kurve eine Linearität vor, die in der Praxis so nicht gegeben ist, da bereits minimalste Variationen der Extinktionswerte zu erheblichen Abweichungen der resultierenden quantitativen Werte führen können.

Eine Aktivitätsverlust der Proben während einer Lagerzeit bei  $-20^{\circ}\text{C}$  bis zu einem Jahr war nicht erkennbar. Systematische Untersuchungen zur Probenstabilität bei kurzzeitiger Aufbewahrung der Proben im Kühlschrank wurden nicht durchgeführt. Zumindest spricht der Herstellerhinweis, dass die CXCL13-Standardpräparation nach Rekonstitution bei  $4-8^{\circ}\text{C}$  bis zu einem Monat gelagert werden kann dafür, dass das CXCL13-Molekül stabil ist. Im Rahmen dieser Studie ergab sich kein Hinweis darauf, dass ein rascher Aktivitätsverlust in einzelnen Proben auftrat. Für eine systematische Untersuchung dieser Frage, war das verfügbare Volumen der klinischen Liquorproben nicht ausreichend.

## **Einfluss der CXCL13-Konzentration im Serum und des Funktionszustandes der Blut-Liquor-Schranke auf die CXCL13-Konzentration im Liquor**

Bei der Bestimmung von Parametern im Liquor ist jeweils die Frage zu stellen, wieweit die Messwerte im Liquor durch die korrespondierende Konzentration des Analyten im Serum und den Funktionszustand der Blut-Liquor-Schranke beeinflusst werden. CXCL13 ist ein großes komplexes Proteinmolekül, das sich aus 109 Aminosäuren zusammensetzt. Die Konzentrationsverteilungen von CXCL13 in Serum und Liquor in den 180 Routineproben des Panels 1 sind in der Abbildung 2 und der Tabelle 2 dargestellt:

**Abbildung 2**



**Tabelle 2**

CXCL13-Verteilung in Serum und Liquor in nicht vorselektierten klinischen Routineproben (n = 180)

CXCL13 pg/ml	Serum		Liquor	
	Anzahl	Prozent	Anzahl	Prozent
< 1,0	0	0	20	11,1
1,0 – 4,9	0	0	51	28,3
5,0 – 7,8	0	0	37	20,6
7,9 – 9,9	4	2,2	18	10,0
10,0 – 14,9	4	2,2	20	11,1
15,0 – 19,9	13	7,2	7	3,9
20 – 29	33	18,3	6	3,3
30 – 39	37	20,6	5	2,8
40 – 49	25	13,9	4	2,2
50 – 59	10	5,5	0	0
60 – 69	11	6,1	1	0,6
70 – 79	12	6,7	1	0,6

80 – 89	5	2,8	0	0
90 – 99	3	1,7	0	0
100 – 199	12	6,7	2	1,1
200 – 500	9	5,0	4	2,2
> 500	2	1,1	4	2,2
<b>Gesamt</b>	<b>180</b>	<b>100</b>	<b>180</b>	<b>100</b>
<b>Medianwert</b>	<b>38,7 pg/ml</b>		<b>6,2 pg/ml</b>	

Bei den nicht vorselektierten Patienten des Probenpanel 1 war im Serum eine mittlere CXCL13-Konzentration von 38,7 pg/ml nachweisbar. Keine Probe war negativ. In 8 Proben fanden sich sehr geringe CXCL13-Konzentrationen zwischen 7,8 und 14,9 pg/ml. 88,8 % der Werte lagen zwischen 15 und 99 pg/ml und nur 12,8 % der Proben zeigten relativ hohe Werte > 100 pg/ml. Im Liquor betrug der CXCL13-Medianwert 6,2 pg/ml. In 20 Proben war die CXCL13-Konzentration < 1 pg/ml. In 6 dieser Proben konnte kein CXCL13 nachgewiesen werden, 14 Liquorproben zeigten Werte zwischen 0,2 und 0,8 pg/ml CXCL13. Bei insgesamt 108 Liquorproben (60 %) war die CXCL13-Konzentration < 7,8 pg/ml und somit geringer als der niedrigste Eichpunkt der Standardkurve. 21 % der Proben zeigten Werte zwischen 7,8 und 14,9 pg/ml und 13,3 % Werte zwischen 15 und 99 pg/ml. In zehn Proben (5,6 %) fand sich eine hohe CXCL13-Konzentration > 100 pg/ml.

Aus einem Teil der Patienten des Panel 1 wurde eine Kontrollgruppe von 19 Patienten gebildet. Diese Patienten hatten keinen Hinweis auf eine ZNS-Erkrankung entzündlicher Genese und aus labormedizinischer Sicht normale Liquorbefunde (normaler Zellzahl, normales Liquorgesamteiweiß, kein Hinweis auf eine oligoklonale Immunreaktion bzw. eine intrathekale Immunglobulinsynthese). Die Daten im Detail sind in der Tabelle 3 aufgelistet. Der mittlere Albuminquotient für diese Patientengruppe betrug 5,5 (2,3 - 7,3), die mittlere CXCL13-Konzentration im Serum 28,9 pg/ml und im Liquor 4,0 pg/ml. Dem wurde gegenübergestellt eine Gruppe von 14 Patienten ohne und mit Schrankenfunktionsstörung, bei denen sich im Serum deutlich höhere CXCL13-Werte fanden als in der Kontrollgruppe. Auch bei diesen Patienten waren die Liquor-Zellzahl normal und es ergab sich kein Anhalt für eine oligoklonale Immunreaktion oder intrathekale Immunglobulin-Synthese. Die Medianwerte betragen für den Albumin-Quotienten 9,7 (2,2 - 33,0), die CXCL13-Konzentration im Serum 165,5 (22 - 350,4) pg/ml und im Liquor 4,4 (1,0 - 9,7) pg/ml. Die Befunde sind in der Tabelle 4 aufgelistet.

**Tabelle 3**

Albumin-Quotienten und CXCL13-Daten für Patienten der Kontrollgruppe (n = 19)

Klinische Angaben	Albumin-Quotient x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 Serum pg/ml	CXCL13 Liquor pg/ml
Spannungskopfschmerz	2,3	32,8	0
Migräne mit Aura	2,3	18,3	1,7
Unklarer Schwindel, rez. Sensibilitätsstörung, V. a. somatisierte Depression	2,3	18,3	1,7
Demenz vom Alzheimer-Typ	3,6	19,8	0,2
Intoxikation, V. a. zerebralen Krampfanfall	3,7	42,3	6,8
Neuritis vestibularis, Z. n. Mamma-Ca., bekannte Migräne mit Aura, Spondylarthropathie	3,9	20,6	1,9
Schmerzbedingte Synkope, exazerbiertes HWS-Syndrom	4,3	21,2	5,7
Cervicobrachialgien, V. a. zervikales Wurzelreiz-Syndrom	4,6	10,1	0
Kopfschmerz, neurologisch unauffällig	5,1	11,6	0
V. a. degenerative ZNS-Erkrankung mit Parkinson- und dementiellen Symptomen	5,5	84,7	4,3
Akute Kopfschmerzen, wahrscheinlich Migräne-Attacke	5,7	69,0	5,0
V. a. Migräne	5,8	27,3	4,0
Lumboischialgien bei degenerativer Wirbelsäulenerkrankung	5,9	36,3	1,6
Lumboischialgie seit 10 Monaten	6,4	19	5,0
Migräne mit Aura, V. a. M. Bechterew	6,6	29,5	4,3
Kopfschmerzen unklarer Genese, V. a. somatisierte Depression	6,7	31,5	9,2
C5/6 Radikulärläsion, degenerative HWS-Veränderung	7,1	55,2	1,3
CCP-Erhöhung, V. a. Erkrankung aus dem rheumatischen Formenkreis, Mononeuritis multiplex, Sjögren-Syndrom	7,1	92,7	6,9
Bds. benigner paroxysmaler Lagerungsschwindel, Diabetes	7,3	28,9	4,0
<b>Median-Werte:</b>	<b>5,5</b>	<b>28,9</b>	<b>4,0</b>

Die Befunde der Tabellen 3 und 4 verdeutlichen, dass niedrige CXCL13-Werte im Liquor sowohl bei Kontrollpersonen ohne Hinweis auf eine ZNS-Erkrankung entzündlicher Genese mit CXCL13-Werten unter 100 pg/ml wie auch bei Patienten mit höheren CXCL13-Werten und zum Teil deutlich ausgeprägter Störung des Funktionszustandes der Blut-Liquor-Schranke zu finden sind. Bei stark abweichenden Medianwerten für das CXCL13 im Serum für beide Patientengruppen von 28,9 pg/ml bzw. 165,5 pg/ml zeigen sich im Liquor nahezu identische CXCL13-Befunde mit Medianwerten von 4,0 pg/ml bzw. 4,4 pg/ml. Diese Befunde lassen den Rückschluss zu, dass übliche im Serum vorkommende CXCL13-Konzentrationen bis zu einer Größenordnung von 300 pg/ml bei intakter Schrankenfunktion und selbst bei deutlich gestörter Schrankenfunktion (Albumin-Liquor/Serum-Quotienten 20 - 30) in der Regel nicht zu CXCL13-Werten über 10 pg/ml im Liquor führen. Somit ist umgekehrt davon auszugehen, dass CXCL13-Werte >10-15 pg/ml im Liquor meist aus einer lokalen Immunreaktion im ZNS resultieren und nicht aus dem Serum stammen. Nur bei den seltenen sehr hohen CXCL13-Werten >300-500 pg/ml im Serum und/oder bei extremer Schrankenfunktionsstörung (Albumin Liquor/Serum-Quotient > 30-50) ist die mögliche Herkunft des CXCL13 im Liquor kritisch zu prüfen. Blutbeimengungen zum Liquor (Beispiele

s. Tabelle 5) können ebenfalls zu erhöhten CXCL13-Liquorwerten führen, und sollten daher nicht bewertet werden. Entsprechend wurden solche Proben von der weiteren Analyse im Rahmen dieser Studie ausgeschlossen.

**Tabelle 4**

CXCL13-Liquorbefund bei hohen CXCL13-Serumwerten und unterschiedlich ausgeprägter Störung des Funktionszustandes der Blut-Liquor-Schranke (n = 14)

Klinische Angaben	Albumin-Quotient x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 Serum pg/ml	CXCL13 Liquor pg/ml
Fieberhafter Virusinfekt, Ausschluß Meningitis	2,2	165,1	1,0
Passagere Tetraparese unklarer Genese	2,8	173,1	5,9
Linksseitige Sensibilitätsstörung unklarer Genese, V. a. somatoforme Störung	2,9	350,4	9,7
Schwindel und Gangunsicherheit bei Opiattherapie, chronisches Schmerzsyndrom, metastasierendes pleozytisches Liposarkom	3,3	331,4	3,8
Axonale Polyneuropathie, Infekt unklarer Genese	4,8	165,8	7,3
Komplette periphere Fazialisparese links, Beginn 5 Tage nach Tympanoplastik	5,8	141,8	3,7
Keine klinischen Angaben	8,0	138,5	4,1
Abszess parapharyngeal, Kopfschmerzen, Fieber, Blutkultur Staph. aureus	11,4	335,4	4,6
Cerebrales Krampfleiden, Carbamazepin seit 10 Jahren	15,0	71,7	1,2
Frontotemporale Kopfschmerzen unklarer Genese	17,3	22,0	1,3
Diabetes, axonale gemischte Polyneuropathie, fokal nekrotisierende Vaskulitis, ANA 1:640, RNP-AK	17,4	185,7	5,5
Senile Demenz vom Alzheimer-Typ mit spätem Beginn, Z. n. kardiogen-embolischem Hirninfarkt bei chron. VHF	23,5	231,3	6,3
Epilepsie bei frühkindlichem Hirnschaden	24,0	85,6	6,3
V. a. SHT nach Sturz, Urosepsis, E. coli-assoziiert	33,0	79,1	1,3
<b>Medianwerte</b>	<b>9,7</b>	<b>165,5</b>	<b>4,4</b>

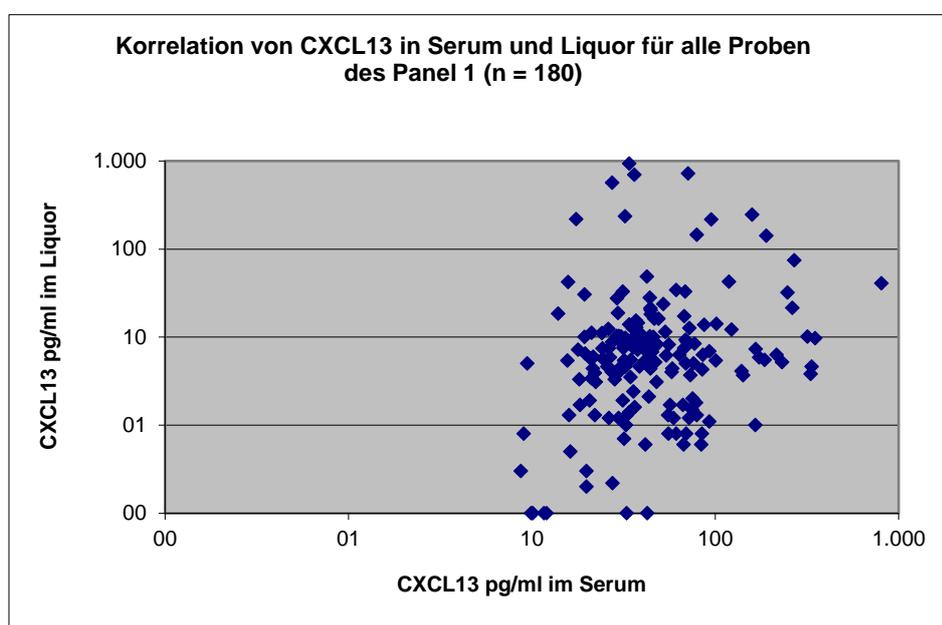
**Tabelle 5**

Beispiele für CXCL13-Befunde bei Blutbeimengungen im Liquor (n = 4)

Klinische Angaben	Albumin-Quotient x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 Serum pg/ml	CXCL13 Liquor pg/ml
Makroskopisch blutiger Liquor, nach Zentrifugation xanthochrom, Subarachnoidalblutung	13,4	68,4	32,7
Subarachnoidalblutung aus Aneurysma, Liquor xanthochrom	6,2	15,7	42,2
Makroskopisch blutiger Liquor, Subarachnoidalblutung nach Duraverletzung bei Vertebroplastie vor wenigen Tagen	16,3	269,2	74,2
Stauungspapille bds. unklarer Genese bei CLL, leichte artefizielle Blutbeimengung	9,4	53,3	11,5

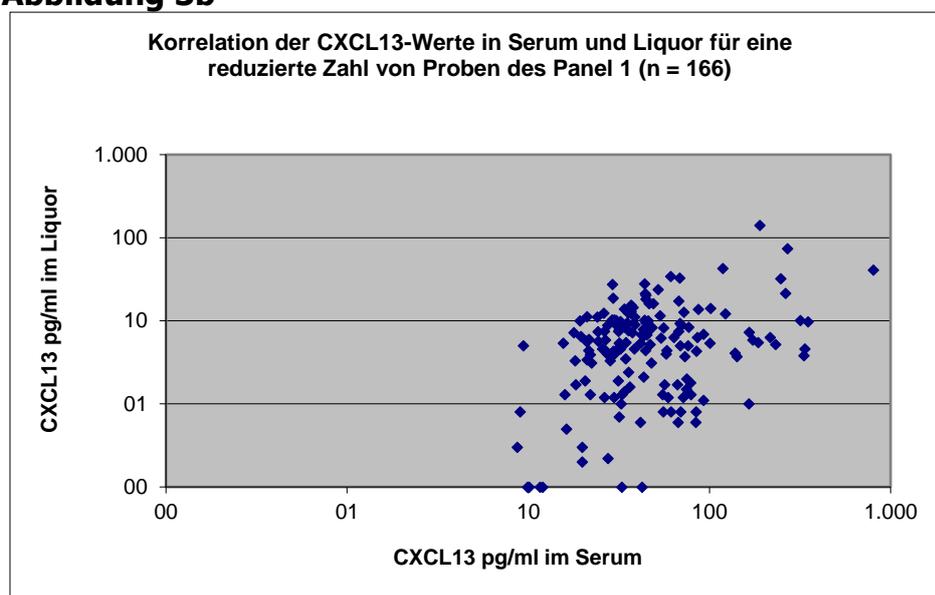
Wie aus den Tabellen 3 und 4 ersichtlich, besteht offensichtlich keine lineare Beziehung zwischen den CXCL13-Werten in Serum und Liquor. Dies wird auch deutlich bei der Gegenüberstellung aller 180 CXCL13 Serum- und Liquorwerte der Proben des Panel 1 (s. Abb. 3a). Bei 16 Proben dieses Panels sind die CXCL13-Liquorwerte höher als die im Serum und somit als zweifelsfreier Hinweis auf eine intrathekale CXCL13 Synthese zu werten. Eliminiert man diese Proben aus dem Panel ergibt sich für die verbleibenden 166 Werte-Paare (s. Abb. 3b) jedoch auch keine wesentlich bessere Korrelation. Der Korrelationskoeffizient steigt von 0,021 auf 0,447.

**Abbildung 3a**



Korrelationskoeffizient  $r = 0,021$

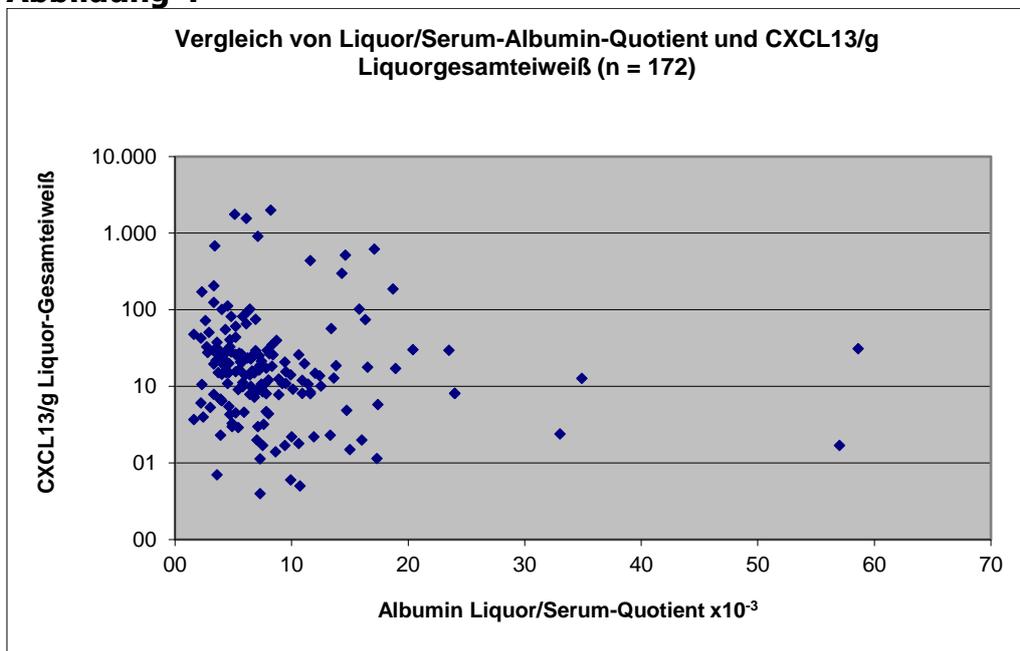
**Abbildung 3b**



Korrelationskoeffizient  $r = 0,447$

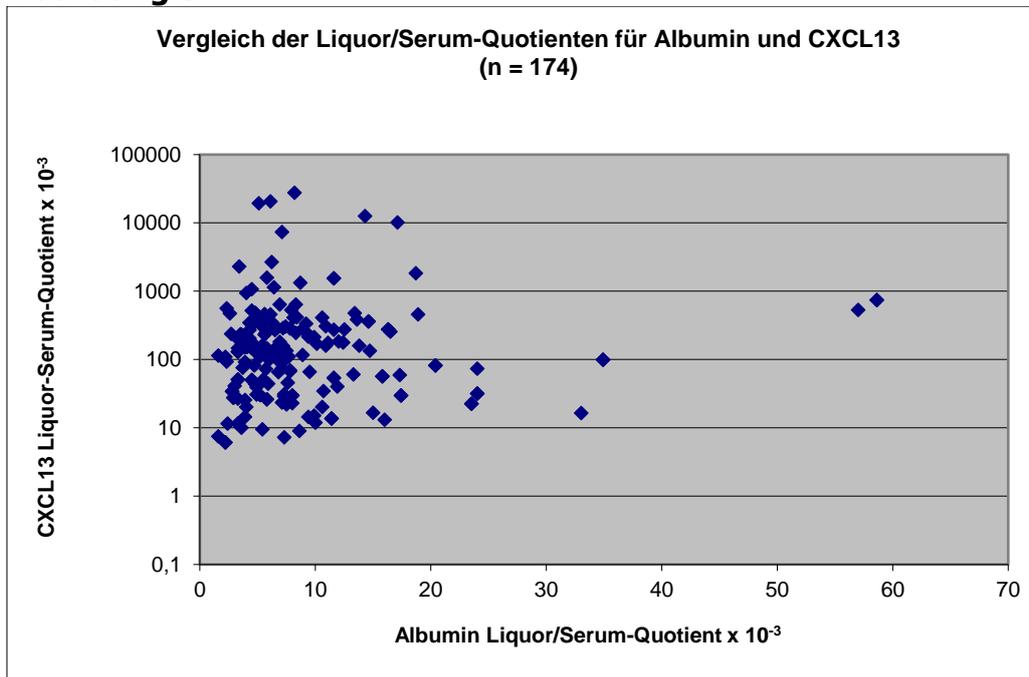
In der Literatur zur CXCL13-Bestimmung im Liquor wird empfohlen, die Messwerte auf das Liquorgesamteiweiß zu beziehen, also in pg/g Liquorgesamteiweiß anzugeben. Hierdurch soll der mögliche Einfluss des vermehrten Übertritts von CXCL13 bei gestörter Schrankenfunktion erfasst werden. Die Befundbewertung soll dann ohne Berücksichtigung der korrespondierenden Serumwerte erfolgen. Die Abbildung 4 demonstriert, dass wie bei dem direkten Vergleich der CXCL13-Werte in Serum und Liquor (Abbildung 3a, 3b) keine verwertbare Korrelation zur Schrankenfunktion (Korrelationskoeffizient  $r = -0,023$ ) zu erkennen ist.

**Abbildung 4**



Korrelationskoeffizient  $r = -0,023$

**Abbildung 5**



Korrelationskoeffizient  $r = 0,005$

Unter theroretischen Aspekten wäre alternativ zu diskutieren, ob man analog zur Errechnung von Antikörper-Liquor/Serum-Quotienten (z. B. IgG-Antikörper-Liquor/Serum-Quotient: Liquor/Serum Gesamt IgG) einen Quotienten für CXCL13 bezogen auf Albumin wie folgt berechnet:

$$\text{CXCL13 Liquor} \times 1000 : \text{CXCL13 Serum} = \text{CXCL Liquor/Serum-Quotient (LSQ)} \times 10^{-3}$$

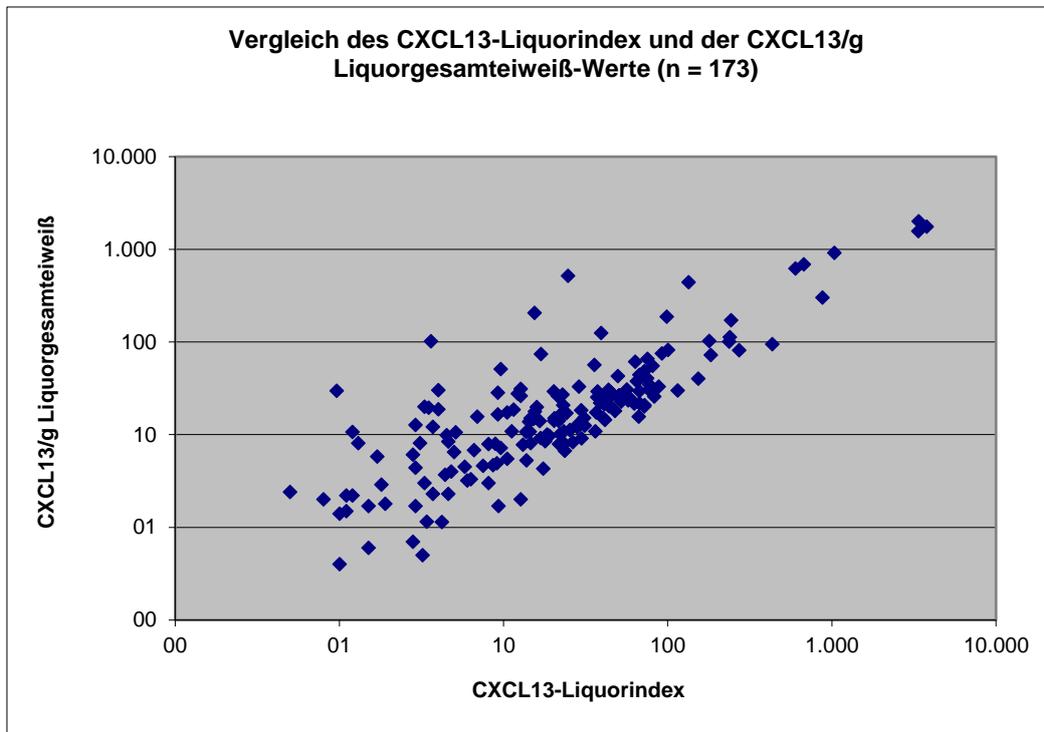
$$\text{Albumin Liquor} \times 1000 : \text{Albumin Serum} = \text{Albumin/Liquor-Serum-Quotient (LSQ)} \times 10^{-3}$$

$$\text{CXCL13 LSQ} : \text{Albumin LSQ} = \text{CXCL13 Liquor-Index}$$

Dieses Verfahren bietet den Vorteil, dass die Liquor-CXCL13-Werte nicht bezogen werden auf das Liquorgesamteiweiß, das verschiedensten Einflussgrößen unterliegt, sondern auf ein liquorfremdes Protein, das zur Charakterisierung der Schrankenfunktion grundsätzlich besser geeignet ist. Allerdings sind auch von diesem methodischen Vorgehen keine wesentlichen Vorteile zu erwarten, da in den meisten Fällen wie zuvor bereits diskutiert kein unmittelbarer Zusammenhang besteht zwischen den Serum- und Liquor CXCL13-Werten. Entsprechend findet sich auch keine verwertbare Korrelation ( $r = 0,005$ ) für den Vergleich der Liquor/Serum-Quotienten für Albumin und CXCL13 (s. Abbildung 5).

Vergleicht man hingegen den CXCL13-Liquorindex mit dem Liquor-CXCL13/g Gesamteiweiß zeigt sich eine signifikant höhere Korrelation (s. Abb. 6).

**Abbildung 6**



Korrelationskoeffizient  $r = 0,954$

Dieses spricht dafür, dass prinzipiell beide Verfahren gleich gut oder gleich schlecht zur Beurteilung der Liquorwerte sind. Auf Grund der zuvor diskutierten meist nicht vorhandenen direkten Abhängigkeit der Liquorwerte von den Serumwerten scheint es uns jedoch sinnvoller, die CXCL13-Werte ohne Korrekturfaktoren in Serum und Liquor direkt vergleichend zu betrachten. Der Vollständigkeit halber wurde jedoch in den meisten folgenden Tabellen die CXCL13/g GE (GE = Liquorgesamteiweiß) mit aufgeführt aber nicht weiter bewertet.

### **Zuordnung von CXCL13-Liquorbefunden zu Patientengruppen**

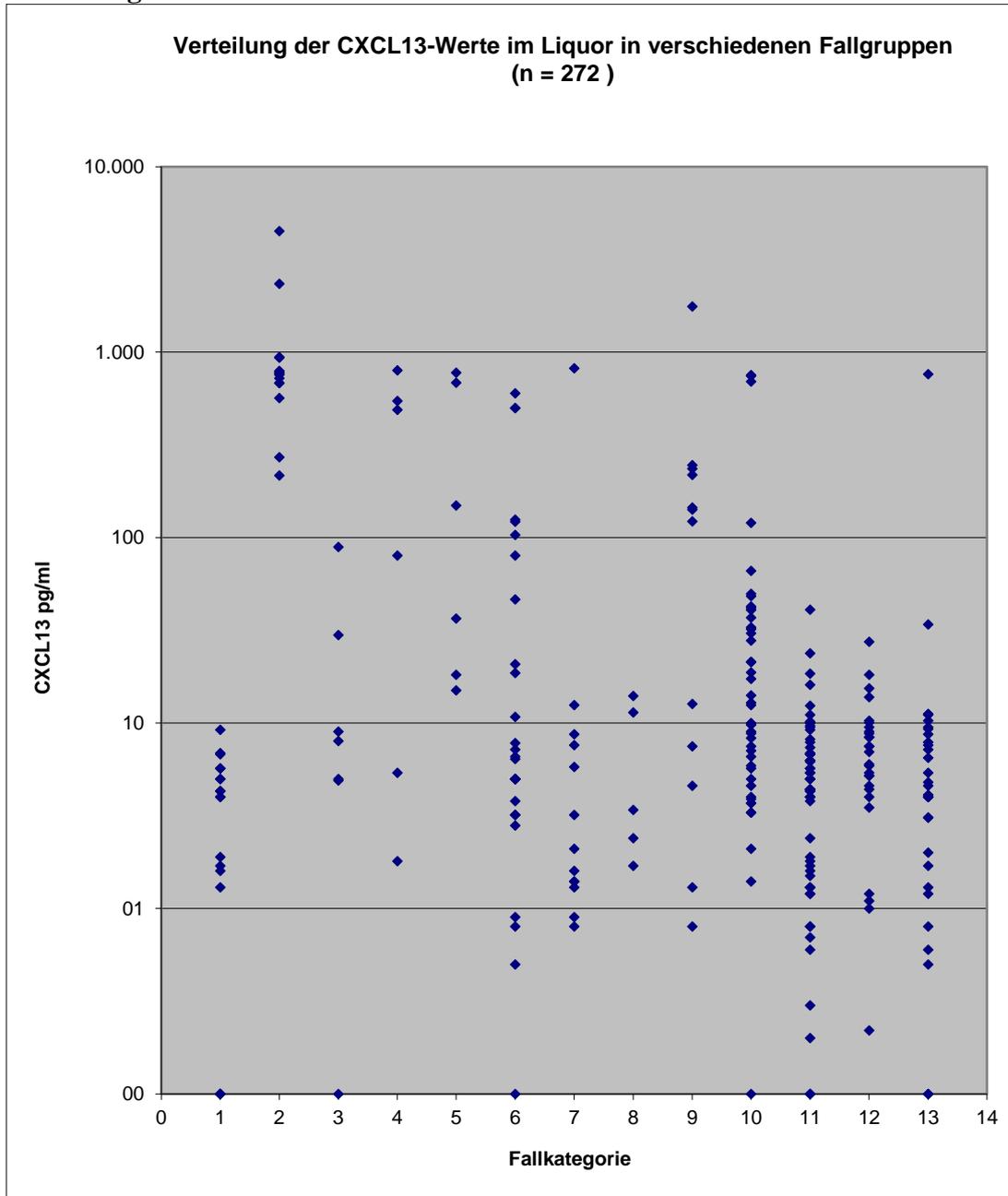
Auf der Basis der leider in einem Teil der Fälle unzureichenden Informationen zum klinischen Status der in dieser Studie untersuchten Patienten wurde eine Gruppierung vorgenommen, die vor allem abgrenzt die Patientengruppen mit Neuroborreliose und Neurosyphilis gegen andere Patientengruppen mit der Diagnose oder dem Verdacht auf eine ZNS-Erkrankung entzündlicher oder nicht entzündlicher Genese. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 6 und in der Abbildung 7 zusammenfassend dargestellt und sollen nachfolgend im Einzelnen besprochen werden:

**Tabelle 6**

Medianwerte, Mittelwerte und Bereiche der CXCL13-Liquorwerte (Proben Panel 1 und 2)

Patientengruppe	Anzahl (n =)	CXCL13 im Liquor pg/ml			
		Medianwert	Bereich	Mittelwert	Abweichung vom Mittelwert
Kontrollgruppe	19	4,0	0 – 9,2	3,6	2,3
Akute Neuroborreliose	17	770	217 – 4500	1017	566
Verdacht auf Neuroborreliose	7	8,0	0 – 89	21	22
Verlaufspalten bei Neuroborreliose	6	285	1,8 – 800	320	291
Neurosyphilis, unbehandelt	6	93	15 – 775	280	300
Neurosyphilis-Ausschluss bei aktiver Treponemeninfektion	30	7,2	0 – 600	56	72
Restbefunde nach Treponemeninfektion	13	2,1	0,8 – 820,6	67	116
Virale Meningitis mit und ohne Erregernachweis	5	3,4	1,7 – 14	6,6	4,9
Verdacht auf Virusmeningitis	9	3,9	0,6 – 32	6,6	4,9
Bakterielle Infektionen	12	132	0,8 – 1767	242	255
Verdacht auf ZNS-Erkrankung entzündlicher Genese	43	12,5	0 – 753	70	95
Nicht entzündliche ZNS- Erkrankungen	57	4,4	0 – 41	6,0	4,2
Vaskuläre ZNS-Erkrankungen	27	7,0	0,2 – 27,5	7,7	4,0
Sonstige	30	4,4	0 – 760	31	49

Abbildung 7



**Erklärung der Fallgruppen:**

- 1 = Kontrollkollektiv
- 2 = Akute Neuroborreliose
- 3 = Verdacht auf Neuroborreliose
- 4 = Verlaufskontrollen nach Neuroborreliose
- 5 = Neurosyphilis, unbehandelt
- 6 = Verdacht auf Neurosyphilis
- 7 = Syphilis-Antikörperpersistenz nach Infektion
- 8 = Virale Meningitis
- 9 = Verdacht auf virale Meningitis
- 10 = Bakterielle Infektionen
- 11 = Verdacht auf ZNS-Erkrankung entzündlicher Genese
- 12 = Nicht entzündliche ZNS-Erkrankungen
- 13 = Sonstige Fälle

## Neuroborreliose

Die Befunde dieser Studie bestätigen die Befunde anderer Autoren, dass bei akuter Neuroborreliose extrem hohe CXCL13-Konzentrationen im Liquor nachweisbar sind. Bei 16 der 17 Patienten mit akuter Neuroborreliose war die CXCL13-Konzentration im Liquor höher als 500 pg/ml und nur in einem Fall mit 217 pg/ml etwas niedriger.

In den korrespondierenden Serumproben zeigten sich mit einem Medianwert von 46 (14,2 - 15,8) pg/ml in allen Fällen deutliche niedrigere Werte als im Liquor mit einem Medianwert von 770 pg/ml. Diese Befunde belegen eindeutig, dass das CXCL13 im Liquor lokal gebildet wird und nicht aus dem Serum stammt. In der Tabelle 7 sind einige Beispiele aufgelistet. In drei Fällen war das Serum-CXCL13 > 100 pg/ml. Bei einem dieser Patienten (Nr. 245, Tab. 7) mit ausgeprägter Schrankenfunktionsstörung (AlbQ 33,8) war der Liquorwert mit 793 pg/ml immer noch mehr als doppelt so hoch wie im Serum mit 316 pg/ml. Im zweiten Fall (nicht in der Tabelle 7 aufgeführt) waren bei einem AlbQ von 20,8 der Serum- und Liquorwert 153 pg/ml bzw. 682 pg/ml, im dritten Fall (ebenfalls nicht in der Tabelle 7 enthalten) bei einem AlbQ von 13,1 126 pg/ml im Serum und 772 pg/ml im Liquor.

Weitere Fallbeispiele der Tabelle 7 verdeutlichen, dass die CXCL13-Bestimmung wichtige differentialdiagnostische Entscheidungshilfen geben kann.

Bei dem Patienten Nr. 67 mit einer Parese der Hirnnerven III, VI und VII fanden sich erhöhte Borrelien-IgG- und IgM-Liquor/Serum-Antikörperquotienten, während die IgG-, IgA- und IgM-Quotienten noch unauffällig waren. Mit 941 pg/ml war der CXCL13 Wert im Liquor hoch positiv.

Im zweiten Fall (Nr. 186, Tab. 7) bestand zum Zeitpunkt der Liquor-Untersuchung ein pseudoradikuläres Schmerzsyndrom. Dieses wurde initial unter dem Verdacht einer Neuroborreliose anbehandelt. Es fand sich eine Liquorpleozytose mit 61 Zellen. Da die Borrelien-Antikörperdiagnostik im Liquor und die Immunglobulin-Serum/Liquorquotienten unauffällig waren, wurde die Diagnose einer Neuroborreliose verworfen und die Therapie abgebrochen. Bei einer Nachkontrolle der Serumantikörpertiter 8 Tage später fanden sich signifikante Titeranstiege im IgG-EIA von 11 auf 46 U/ml (normal < 20 U/ml), im IgM-EIA von 19 auf 26 U/ml (normal <20 U/ml) und im VIsE-IgG-EIA (normal < 10 AU/ml), der initial bereits deutlich erhöht war, von 220 auf > 240 AU/ml. Der Befundverlauf stützte retrospektiv die Diagnose einer akuten Borreliose als Ursache der neurologischen Symptomatik. Mittels der CXCL13-Bestimmung im Liquor hätte hier die Verdachtsdiagnose verifiziert werden können, da der Wert mit 566 pg/ml stark erhöht war. Dieser Fall entspricht Fallberichten anderer Autoren, dass mittels CXCL13-Bestimmung die Verdachtsdiagnose einer Neuroborreliose im Frühstadium bei noch fehlender signifikanter Immunantwort gestellt werden kann.

In einem dritten Fall (Nr. 277, Tab. 7) fanden sich eine Liquorpleozytose und eine dominante intrathekale IgM-Synthese bei einem 70jährigen Patienten mit Mediateilterritorialinfarkt. Da im Kliniklabor die Borrelienserologie unauffällig war, wurde die primäre Verdachtsdiagnose einer Neuroborreliose verworfen und aus einem schwach positiven Syphilis-Antikörperbefund im Serum trotz fehlendem Nachweis einer intrathekalen Treponemen-Antikörpersynthese die Verdachtsdiagnose einer Neurosyphilis abgeleitet. Bei diesem Patienten betragen die CXCL13-Konzentrationen in Serum und Liquor 29 bzw. 941 pg/ml. Eine Nachtestung der Borrelienserologie im eigenen Labor ergab eindeutige Hinweise auf eine intrathekale VlsE-IgG-Antikörpersynthese als Bestätigung der ursprünglichen Verdachtsdiagnose einer Neuroborreliose. Im Kontext mit dem CXCL13-Befund wäre die Diagnose eindeutig zu stellen gewesen.

**Tabelle 7**

Befundbeispiele Neuroborreliose und Verdacht auf Neuroborreliose

Fall-Nr.	Klinik/Probenstatus	Zellzahl	Intrathekale Borrelien-Antikörpersynthese		Intrathekale Immunglobulin-Synthese			AlbQx10 <sup>-3</sup>	CXCL13 pg/ml		CXCL13 Liquor/g EW
			IgG	IgM	IgG	IgA	IgM		Serum	Liquor	
	<b>Akute Neuroborreliose Stadium II</b>										
6	Akute Neuroborreliose	86	+	+	+	-	+	15,0	15	2430	2236
6	Verlaufskontrolle 4 Wochen nach Therapie	33	+	+	+	-	+	8,1	13	490	815
6	Verlaufskontrolle 3 Monate nach Therapie	1	+	+	+	-	+	7,1	19	80	166
67	Akute Neuroborreliose, betroffene Hirnnerven III, VI, VII	83	+	+	-	-	-	8,2	34	936	2006
89	Akute Neuroborreliose 4 Wochen n. Zeckenstich	46	+	+	+		+	3,4	95	217	687
178	Akute Neuroborreliose, Fazialisparese bds.	243	+	+	-	-	+	17,1	71	723	622
186	Pseudoradikuläres Schmerzsyndrom, nachfolgend signifikanter Borrelien-Titeranstieg im Serum	61	-	-	-	-	-	6,1	27	566	1567
238	Akute Neuroborreliose	k. A.	+	-	-			15,1	58	4500	3600
245	Akute Neuroborreliose	40	+	-	-	-	+	33,8	316	793	414
277	Akute Neuroborreliose, klinisch Vaskulitis	158	+	-	+	-	+	10,7	29	941	1683
	<b>Verdacht auf Neuroborreliose</b>										
246	Verdacht auf Neuroborreliose	k.A.	-	(+)	-	-	-	6,6	94	89	794
236	Periphere Fazialisparese, Borrelieninfektion bekannt seit 8 Monaten, rückläufige Antikörperkinetik nach Therapie, VZV IgG-LSQ 2,3 (VZV assoziierte Erkrankung?)	354	gw	-	-	-	-	10,9	29	30	40,5
9	Räumliche Orientierungsstörung DD Neuroborreliose/incipienter Demenzprozeß, Zeckenstich vor 5 Jahren, rückläufige AK-Titer nach Therapie, z. B. Restbefund nach Neurob.?	278	+	-	-	-	-	7,7	28	5	7,4
233	Rückl. Antikörpertiter nach Borreliose Therapie vor 1 Jahr	2	+	-	-	-	-	4,1	127	4,9	17,1
234	Borreliose, behandelt vor 1 Jahr	2	+	-	-	-	-	3,7	51,4	0	0
10	Unspez. Symptomatik, Schwindel, Müdigkeit	1	+	-	-			4,6	120	9	27,7
13	PNP, intermittierende Beinparesen	k.A.	+	-	-			3,5	32	8	21,4
	<b>Kein Hinweis auf Neuroborreliose</b>										
276	Erythema migrans, Ausschluß Neuroborreliose	1	-	-	-	-	-	4,4	36	3,8	9,2

Zusätzlich ergab sich in einem Fall (Patient Nr. 6, Tab. 7) die Möglichkeit, Verlaufskontrollen nach Therapie einer Neuroborreliose zu untersuchen. Nach Therapie normalisierten sich die Zellzahl im Liquor und der Funktionszustand der Blut-Liquor-Schranke (Abfall des Albumin-Quotienten von 15,0 auf 7,1). Die CXCL13-Konzentration im Liquor fiel ab innerhalb von 3 Monaten von 2430 pg/ml auf 80 pg/ml. Dieser Befundverlauf entspricht ebenfalls den Angaben aus der Literatur, wonach die CXCL13-Konzentration im Liquor nach effektiver Therapie einer Neuroborreliose sich innerhalb von 3 - 6 Monaten normalisiert.

Bei sieben Patienten bestand der Verdacht auf eine mögliche Neuroborreliose (s. Tab. 7, Nr. 246, 236, 9, 233, 234, 10, 13). Bei 5 dieser Patienten war eine intrathekale Borrelien-IgG-Antikörpersynthese nachweisbar, bei einem Patienten Nr. 236) war der IgG-Antikörperquotient mit 1,5 grenzwertig und in einem weiteren Fall fand sich ein leicht erhöhter Borrelien-IgM-Antikörperquotient mit 1,8 (Pat. 246).

Bei dem Patienten Nr. 246 war der CXCL13-Befund im Liquor mit 89 pg/ml nahezu gleich mit dem Serumwert von 94 gp/ml. In diesem Fall wäre eine mögliche frühe Phase einer Borrelieninfektion zu diskutieren. Leider fehlten hier die Angaben zur Klinik und zum Zellbefund im Liquor. Hier wären zur Klärung der Diagnose weitere Verlaufskontrollen erforderlich gewesen, die jedoch nicht erfolgten.

Bei dem Patienten Nr. 236, Tab. 7 fanden sich bei geringgradiger Störung des Funktionszustandes der Blut-Liquor-Schranke (Albumin-Quotient 10,9) und ausgeprägter lymphozytärer Liquor-Pleozytose (354 Zellen) leicht erhöhte CXCL13-Werte parallel in Serum und Liquor mit 29 bzw. 30 pg/ml. Bei dem Patienten war eine Borrelieninfektion vor 8 Monaten behandelt worden, danach zeigten sich rückläufige Antikörpertiter. Im Liquor fand sich mit einem Wert von 1,5 ein grenzwertiger Borrelien-IgG-Antikörper Liquor/Serum-Quotient, der eine zurückliegende ZNS-Beteiligung im Rahmen der Borreliose nicht ausschließt. Andererseits sprachen das Fehlen oligoklonaler Immunglobuline im Liquor ebenso wie die normalen Immunglobulin-Quotienten gegen eine länger bestehende aktive Borrelieninfektion des ZNS. Auffällig war in der Liquorprobe jedoch ein deutlicher erhöhter Varizella/Zoster-Virus Liquor/Serum-Antikörperquotient von 2,3. Dieser Befund könnte ein Hinweis auf eine virale Genese der aktuellen ZNS-Symptomatik sein. Der relativ niedrige CXCL13-Liquorwert bei andererseits ausgeprägter Liquorpleozytose spricht zumindest gegen eine akute Borrelieninfektion.

Bei dem Patienten Nr. 9, Tab. 7 ergab sich die differentialdiagnostisch die Frage, ob die aktuelle klinische Symptomatik durch eine Neuroborreliose bedingt sein könnte. Nach einem Zeckenstich vor 5 Jahren war eine Borreliose-Therapie mit nachfolgend rückläufigen Antikörpertitern bekannt. Jetzt fanden sich bei dem Patienten eine geringgradig gestörte Schrankenfunktion (AlbQ 7,7), eine Liquorpleozytose mit 278 Zellen

sowie ein erhöhter Borrelien-IgG-Antikörper Serum/Liquor-Quotient. Oligoklonale Immunglobuline waren im Liquor nicht nachweisbar. Die Liquor/Serum-Immunglobulin-Quotienten waren ebenso wie die CXCL13-Werte in Serum und Liquor mit 28 bzw. 5 pg/ml normal. Eine eindeutige Aussage war in diesem Fall nicht möglich. Eine akute Borrelieninfektion war bei der Gesamtbefundkonstellation unwahrscheinlich. Hinweise auf eine chronisch entzündliche ZNS-Erkrankung bzw. eine chronisch aktive Neuroborreliose ergaben sich nicht. Die Ursache für die Liquor-Pleozytose konnte letztlich nicht geklärt werden.

Bei den restlichen Patienten dieser Gruppe (Nr. 233, 234, 10 und 13, Tab. 7) fanden sich ebenfalls bei erhöhten Borrelien-IgG-Antikörper-Liquor/Serum-Quotienten normale Liquorbefunde ohne Anhalt für einen akuten oder chronisch entzündlichen ZNS-Prozess. Bei CXCL13-Liquorbefunden zwischen 0 und 9 pg/ml sprechen die Gesamtkonstellationen eher für Restbefunde einer zurückliegenden Borrelieninfektion mit ZNS-Beteiligung als für eine aktive Borrelieninfektion als mögliche Ursache der ZNS-Symptomatik.

## **Neurosyphilis**

Auch für Neurosyphilis-Patienten wird in der Literatur über deutlich erhöhte CXCL13-Liquorbefunde berichtet [11], die absolut aber nicht so ausgeprägt sein sollen wie bei den Neuroborreliose-Patienten.

Bei den sechs klinisch gesicherten Neurosyphilis-Fällen (Befunde s. Tab. 8) betrug der Medianwert für CXCL13 im Liquor bei Neurosyphilispatienten 97 pg/ml bei einer Streubreite von 15 – 775 pg/ml, bei akuter Neuroborreliose war der Medianwert mit 770 pg/ml um den Faktor 7 höher bei einer Streubreite der Befunde von 217 - 4500 pg/ml. Insgesamt sprechen die Befunde jedoch dafür, dass auch bei aktiver Neurosyphilis zumindest in einem Teil der Fälle deutlich erhöhte CXCL13-Werte zu erwarten sind.

Bei drei dieser Patienten (Nr. 235, 244 und 282 Tab. 8) fanden sich CXCL13-Liquorwerte > 100 pg/ml. Bei dem Patienten Nr. 235 (CXCL13 i. L. 149 pg/ml) handelte es sich um ein hirnormales Psychosyndrom (Progressive Paralyse). Er zeigte eine erhöhte Liquor-Zellzahl, eine oligoklonale Immunreaktion, eine IgG-, IgA- und IgM-Synthese (Dreiklassenreaktion) sowie eine intrathekale Synthese treponemenspezifischer und lipoidaler Antikörper im ZNS. Der Patient Nr. 244 (CXCL13 i. L. 775 pg/ml) hatte eine akute Syphilis mit einer asymptomatischen ZNS-Beteiligung. Die Diagnose wurde verifiziert durch den Nachweis von treponemenspezifischen IgM- und Lipoidantikörpern im Liquor bei gleichzeitiger Liquorpleozytose und intrathekaler IgM-Synthese. Der Patient Nr. 282 (CXCL13 i. L. 684 pg/ml) hatte eine Neuritis Nervi optici, die als Folge einer Fehldiagnose über ein Jahr mit Corticosteroiden therapiert wurde. Auch bei diesem Patient fanden sich eine Liquorpleozytose mit 180 Zellen, eine oligoklonale Immunreaktion und eine Dreiklassen-Immunglobulinreaktion sowie eine

intrathekale Treponemen- und Lipoidantikörpersynthese. Für diese drei Patienten lagen die CXCL13-Liquorwerte eher in der Größenordnung wie sie auch bei Neuroborreliose gesehen wurden, in allen drei Fällen wurde eine Borreliose jedoch serologisch ausgeschlossen.

**Tabelle 8**

CXCL13-Befunde bei Neurosyphilispatienten

Fall-Nr.	Klinik/Probenstatus	AlbQ x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 pg/ml		CXCL13 Liquor/g EW
			Serum	Liquor	
235	Hirnorganisches Psychosyndrom, floride Neurosyphilis Stadium III	5,7	60,8	149	257
244	Akute Treponemeninfektion mit ZNS-Beteiligung (asymptomatische Neurosyphilis)	6,9	68	775	1033
282	Neuritis Nervi optici, Neurosyphilis	5,6	229	684	1048
102	Spätlatente Treponemeninfektion mit ZNS-Beteiligung	10,7	166	37	45
243	Aktive Neurosyphilis	9,1	44	18	23
20	Aktive Neurosyphilis, HIV-Infektion	3,6	240	15	48

**Tabelle 9**

Patientengruppe: Verdacht auf Neurosyphilis (n = 18)

Fall-Nr.	Klinik/Probenstatus	AlbQ x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 pg/ml		CXCL13 Liquor/g EW
			Serum	Liquor	
19	Aktive behandlungsbedürftige Syphilis, Stadium I/II, fragl. ZNS-Beteiligung	12,1	180	> 500	> 417
18	Syphilis-Seronarbe, ITpA 2,0, TPPA Serum 1:320, DD degenerative ZNS-Erkrankung, Borreliose negativ	20,3	65	> 500	> 313
116	Aktive Syphilis, V. a. ZNS-Beteiligung ITpA-Index 4,0, IgM und VDRL-AK im Liquor neg.	5,0	214	122	244
239	Akute Syphilis-Primärinfektion, Lipoidantikörper i. L. nachweisbar	8,5	286	104	209
21	Syphilis Stadium I/II, ITpA 1,0, Lipoid-AK i. L. schwach pos.	6,8	300	80	129
110	Z. n. ZNS-Infektion vor 8 Jahren, Syphilis-Re-Infektion 2007, jetzt lokale IgG-Synthese im ZNS, ITpA 0,5	4,9	107	46	85
112	Akute Syphilis-Erstinfektion	6,4	709	21	31
121	Syphilis-Re-Infektion (Primäraffekt) mit ZNS-Beteiligung? Lipoid-AK i. L. grenzwertig	9,3	67	19	n.c.

240	Erstinfektion 2004, jetzt V. a. Re-Infektion, Ausschluss ZNS-Beteiligung, grenzwertiger Lipoid-AK i. L.	12,4	18,3	6,6	7,3
241	Verlaufskontrolle zu Nr. 240 10 Wochen nach Therapie	10,8	58	11	11
24	Syphilis vor 10 Jahren, jetzt zunehmend unspezifische Symptomatik	1,9	9,5	< 7,8	n.c.
14	Ausschluss einer Neurosyphilis (Progressive Paralyse), ITpA 8,0, IgM- und Lipoid-AK i. L. negativ	6,4	95	< 7,8	n.c.
17	Syphilis Stadium I/II, HIV pos.	10,5	95	< 7,8	n.c.

## noch Tabelle 9

Fall-Nr.	Klinik/Probenstatus	AlbQ x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 pg/ml		CXCL13 Liquor/g EW
25	V. a. Neurosyphilis, ITpA 128	6,9	63	< 7,8	n.c.
112	Re-Infektion Stadium I/II	3,7	40	< 7,8	n.c.
114	Akute Syphilis, Liquorpleozytose 27/3, 95% Lymphozyten, ITpA 0,5, Lipoid-AK i. L. grenzw.	20,1	82	2,8	n.c.
X37	Akute Syphilis, Lipoid-AK i. L. schwach positiv	4,0	n.d.	600	1574
X39	Akute Syphilis, Lipoid-AK i.L. grenzwertig	10,0	n.d.	125	163

Bei den anderen drei Patienten betragen die CXCL13-Liquorwerte 15 – 37 pg/ml. Der Patient Nr. 102, Tab. 8 (CXCL13 i. L. 37 pg/ml) hatte eine spätlatente Treponemeninfektion mit hochpositiven IgM- und Lipoidantikörperbefunden im Serum. Er klagte seit drei Jahren über Kribbelparästhesien. Es bestand eine geringgradige Störung des Funktionszustandes der Blut-Liquor-Schranke. Oligoklonale Immunglobuline oder eine intrathekale Immunglobulinsynthese im ZNS waren nicht nachweisbar. Somit ergaben sich keine labordiagnostischen Anhaltspunkte für eine chronisch entzündliche ZNS-Erkrankung. Gegen eine mögliche multiple Sklerose als Ursache der klinischen Symptomatik sprachen zusätzlich die Liquor/Serum-Quotientenwerte im Normalbereich für VZV, Masern, Röteln, HSV und EBV. Als Markerantikörper für eine Neurosyphilis fand sich nur ein schwach positiver Lipoidantikörperbefund. Der Patient Nr. 243, Tab. 8 (CXCL13 i. L. 18,2 pg/ml) zeigte als Kriterien für eine aktive Neurosyphilis eine intrathekale IgG-, IgA- und IgM-Synthese (Dreiklassenreaktion) sowie eine lokale Treponemen-IgM- und IgM-Lipoidantikörper-Synthese im ZNS. Der Patient Nr. 20 Tab. 8 (CXCL13 i. L. 15 pg/ml) war HIV-positiv, zeigte ebenfalls eine Dreiklassen-Immunglobulinreaktion, eine stark ausgeprägte Treponemen-Antikörper- und Lipoidantikörper-Synthese im ZNS.

Die Befunde der Tabelle 9 zeigen, dass sich beim Screening von Syphilispatienten im Rahmen einer Neurosyphilis-Ausschlussdiagnostik in einem Teil der Fälle deutlich erhöhte CXCL13-Werte im Liquor finden, die einen Hinweis auf eine mögliche

symptomatische oder auch asymptomatische ZNS-Beteiligung geben können. Von den 18 Patienten der Tabelle 9 fanden sich immerhin bei 6 hohe CXCL13-Werte  $> 100$  pg/ml und bei weiteren 4 Patienten niedrigere CXCL13-Werte zwischen 85 und 31 pg/ml. Somit ergaben sich für ca. 50 % dieser Fallgruppe auffällige Werte, die einen immunologisch aktiven Prozess im ZNS und somit z. B. auch eine (wahrscheinlich meist asymptomatische) Neurosyphilis nicht ausschließen.

**Tabelle 10**

Weitere Patienten mit Treponemenantikörpern in Serum und Liquor, Untersuchung der Proben im Sinne einer Neurosyphilis-Ausschlussdiagnostik, keine lokale Treponemenantikörpersynthese im ZNS, kein Nachweis von spezifischen IgM- oder Lipoidantikörpern im Liquor (n = 17)

Fall-Nr.	Klinik/Probenstatus	AlbQ x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 pg/ml		CXCL13 Liquor/g EW
			Serum	Liquor	
23	Aktive Syphilis im Stadium I/II	4,4	65	< 7,8	n.c.
22	Aktive Syphilis im Stadium I/II	3,3	100	< 7,8	n.c.
16	Syphilis Stadium I/II, HIV pos.	13,6	70	7,8	7,7
111	Aktive Syphilis im Stadium I/II	6,6	166	6,4	11,3
274	Kürzlich behandelte akute Syphilis	3,1	70	3,8	13,3
120	Syphilis-Re-Infektion	4,1	109,3	0,5	1,3
242	Syphilis-Re-Infektion	10,8	120	0	n.c.
X36	Akute Syphilis, nur Liquor vorhanden	n.d.	n.d.	7,2	n.c.
X38	V. a. Syphilis-Re-Infektion	1,9	n.d.	0,8	4,5
115	Syphilis-Antikörperpersistenz nach Infektion	12,3	175,7	8,7	7,8
109	Syphilis-Antikörperpersistenz nach Re-Infektion	2,0	22,2	7,6	40,2
118	Syphilis-Antikörperpersistenz nach Re-Infektion	2,7	65,5	3,2	13,1
117	Syphilis-Antikörperpersistenz nach Infektion	5,0	28,0	2,1	n.c.
119	Syphilis-Antikörperpersistenz nach Infektion	5,2	135,2	1,6	4,1
113	Syphilis-Antikörperpersistenz nach Infektion	4,0	42,4	1,4	n.c.
108	Syphilis-Antikörperpersistenz nach Infektion	3,8	54,3	0,9	n.c.
X40	Verlaufskontrolle nach Syphilis-Infektion vor mehr als drei Jahren	5,0	n.d.	3,2	6,1

Bei 9 von den 17 Patienten der Tab. 10 wurde eine aktive Syphilis-Erst- oder Reinfektion im Primär- oder Sekundärstadium diagnostiziert. Vor Therapie sollte eine mögliche ZNS-Beteiligung ausgeschlossen werden. In keinem dieser Fälle konnte ein erhöhter CXCL13-Wert im Liquor nachgewiesen werden. Dies traf gleichermaßen für

die anderen 8 Patienten der Tabelle 10 zu. Hier handelte es sich um persistierende Antikörperbefunde nach zurückliegender ausreichend behandelter Syphilis.

## **CXCL13-Liquorbefunde bei viralen und bakteriellen ZNS-Infektionen**

Für die Frage wieweit insbesondere hochpositive CXCL13- Liquorbefunde diagnostisch richtungsweisend für die Neuroborreliose und in speziellen Risikogruppen auch für die Neurosyphilis sind, ist von besonderem Interesse, wie sich das CXCL13 im Liquor bei viralen und anderen bakteriellen bzw. erregerassoziierten ZNS-Erkrankungen verhält. Entsprechende Fälle, die überwiegend bei dem CXCL13-Screening nicht vorselektierter Patienten aus der Routinediagnostik einer neurologischen Klinik gefunden wurden, sind in der Tabelle 11 aufgelistet.

Die Beispiele der Tabelle 11 lassen mehrere wichtige Aussagen zu. Bei gesichertem HSV-Nachweis im Liquor zeigen sich keine erhöhten Liquor-CXCL13-Werte (s. Nr. 253, 249 Tab. 11). Bei weiteren Fällen ohne Erregernachweis mit vermuteter Virus-assoziiertes ZNS-Infektion (Nr. 232, 27, 51, 261, 169, 203, 4, Tab. 11) waren die CXCL13-Liquorwerte  $< 15,0$  ng/ml ebenfalls nicht auffällig erhöht. Lediglich in zwei Fällen (Nr. 236 und 251, Tab. 11) fanden sich etwas höhere Werte. Im Falle des Patienten Nr. 236 ist unklar, ob der CXCL13-Liquorbefund von 30 pg/ml Borreliose-assoziiert sein könnte (s. Diskussion auch an anderer Stelle bei den Borreliose-Fällen). Auffällig war hier der erhöhte VZV-IgG-Liquor/Serum-Quotient, der im Kontext mit dem Zellbefund (354 Zellen) und unter Berücksichtigung der Vorgeschichte auch mit einer viralen Genese vereinbar sein könnte. Bei dem Patienten Nr. 251 mit 58 Zellen im Liquor und Schrankenfunktionsstörung war der CXCL13-Wert auf 32 pg/ml erhöht. Bei diesem Patienten war initial die Verdachtsdiagnose HSV-Enzephalitis diskutiert aber nicht bestätigt worden. Aus dem Erstbefund war eine intrathekale IgM-Synthese bekannt, die sich zum Zeitpunkt der aktuellen Untersuchung bereits wieder zurückgebildet hatte. Die Ätiologie des Liquorbefundes bleibt in diesem Fall offen. Insgesamt lassen die Befunde den Schluss zu, dass in der Regel bei viralen ZNS-Infektionen keine signifikant erhöhten CXCL13-Liquorwerte zu finden sind, und die differentialdiagnostische Abgrenzung insbesondere gegen die Befunde bei akuter Neuroborreliose sehr gut möglich ist. Für die Patienten mit gesicherter oder vermuteter ZNS-Virusinfektion fanden sich Medianwerte (s. Tab. 6) mit 3,4 (Bereich 1,7 – 14,5) bzw. 3,9 (Bereich 0,6 – 32) im Normalbereich, während der Medianwert der akuten Borreliosefälle mit 770 (Bereich 217 – 4500) drastisch erhöht war.

Ganz anders stellt sich die Situation bei bakteriellen Infektionen dar. In der Tabelle 11 finden sich mehrere Beispiele. Der Patient Nr. 58 mit Listerienmeningitis zeigt in zwei im Abstand von 8 Tagen entnommenen Serum/Liquorpaaren Werte im Serum von 17,4 bzw. 32 pg/ml und im Liquor um den Faktor 7-10 höhere Werte von 218 bzw. 235

pg/ml. Hier ist die intrathekale CXCL13-Synthese offensichtlich Folge der Listerieninfektion. Bei dem Patienten Nr. 299 mit Pneumokokken-Meningitis wurden ebenfalls zwei im Abstand von 13 Tagen entnommene Serum/Liquorpaare getestet. Im Serum zeigte sich ein Anstieg CXCL13-Konzentration von 296 auf 1342 pg/ml und im Liquor von 123 auf 1767 pg/ml auf. Parallel hierzu fiel der Albumin-Quotient von 200 auf 63. In der zweiten Liquorprobe sprach der Befund eindeutig für eine lokale CXCL13-Synthese im ZNS. Bei einem dritten Patienten (Nr. 44) mit Staph. aureus-Meningitis nach Revision einer Spondylolisthesis-OP war bei ausgeprägter Schrankenfunktionsstörung mit einem Albumin-Liquor/Serum-Quotienten von 58,6 der CXCL13-Wert im Serum auf 190 und im Liquor auf 142 pg/ml erhöht. Das Staphylokokkus aureus die CXCL13-Ausschüttung aktivieren kann, wird auch durch den Befund bei dem Patienten Nr. 52 mit Staph. aureus-Bakteriämie gestützt, bei dem zwar der Liquorbefund normal war, aber im Serum ein sehr hoher CXCL13-Wert von 335 pg/ml beobachtet wurde.

**Tabelle 11**

CXCL13-Liquorbefunde bei 25 Patienten mit gesicherten oder wahrscheinlichen viralen und bakteriellen Infektionen

Pat.-Nr.	Klinik/Probenstatus	Zellzahl im Liquor	Qalb x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 pg/ml		CXCL13 Liquor/g EW
				Serum	Liquor	
253	Encephalitis, HSV-PCR i. Liquor pos.	1	6,4	29	2,4	7,0
249	Encephalitis, HSV-PCR i. Liquor pos.	k. A.	10,6	35	11,4	14
232	Virale Meningitis nicht spezifiziert	94	10,1	35	14,0	19
27	Virale Meningitis, nicht spezifiziert	130	5,2	57	1,7	4,5
51	Virale Meningitis, nicht spezifiziert	266	13,3	31	1,9	2,3
261	V. a. virale Meningitis, nicht spezifiziert	293	9,7	25	1,5	1,3
169	Infekt-assoziierte periphere Fazialisparese, zervikale Lymphknotenschwellung, Klinik könnte mit Zoster vereinbar sein, reichlich lysierte Lymphozyten	1	2,4	69	0,8	4,0
203	Herpes zoster linke Bauchwand, lymphozytäre Pleozytose mit Aktivierungszeichen	16	13,6	38	14,5	13
236	Periphere Facialis-Parese, behandelte Borreliose, DD Zoster, VZV-IgG LSQ 2,3	354	10,9	29	30	41
4	Opticus-Neuritis, HSV-IgG LSQ 1,9	k. A.	2,3	47	4,0	25
251	Intrathekale IgM-Synthese, jetzt rückläufiger Befund, unklare Genese, initial V. a. HSV-Enzephalitis	58	19,1	39	32	52
82	Akute Tonsillitis, Hepatosplenomegalie	1	8,6	67	0,6	1,4
75	Fieberhafter Virusinfekt, Ausschluss einer Meningitis	1	2,2	165	1,0	6,1
145	Kopfschmerzen, zervikale Lymphknotenschwellung, V. a. EBV oder Toxoplasmose	k. A.	3,4	38	7,2	31
229	Pneumokokken-Meningitis	357	200	296	123	16,2
229	Verlaufskontrolle zu Nr. 229 nach 13 Tagen	419	63	1342	1767	320
58	Listerien-Meningitis, Erregernachweis in der Blutkultur	158	14,3	17,4	218,2	301
58	Verlaufskontrolle zu Nr. 58 n. 8 Tagen	61	7,1	32	235	916
44	Staph. aureus Meningitis nach OP	7100	58,6	190	142	31
223	Infekt.-assoz. Enzephalopathie, Orbita-Spitzensyndrom	4	11,6	159	246	441
147	Floride Mitralklappen-Endocarditis	17	18,7	79	145	188
52	Abszess parapharyngeal, Staph. aureus in Blutkultur	1	11,4	335	4,6	10,7
171	Septischer Schock, purulente Perikarditis (Propioni-Bakterien), septische Enzephalopathie	2	5,2	68	7,5	26,2
165	Verlaufskontrolle 1 Jahr nach Listerien-Meningitis. Diabetes mellitus	7	11,1	72	12,7	19,8
74	Fossa canina Abszess, Schleimhautschwellung der Kieferhöhle	1	9,4	56	0,8	1,7
81	V. a. SHT nach Sturz, Urosepsis (E. coli)	6	33	79	1,3	2,4

157	Polyneuroradikulitis (GBS), Z. n. Gastroenteritis mit <i>Campylobacter jejuni</i>	1	10,9	35	5,5	8,1
-----	---	---	------	----	-----	-----

Bei zwei weiteren Patienten mit bakteriellen Infekten waren ebenfalls die CXCL13-Werte im Liquor stark erhöht und höher als im Serum. Der Patient mit Mitralklappen-Endokarditis hatte im Serum eine CXCL13-Konzentration von 79 pg/ml und im Liquor von 145 pg/ml, ein weiterer Patient mit infektassoziierter Enzephalopathie bei bekanntem Orbitaspitzen-Syndrom Werte von 159 pg/ml im Serum und 246 pg/ml im Liquor. Bei den Patienten mit den hochpositiven CXCL13-Liquorwerten wurde eine Borreliose oder Treponemeninfektion serologisch ausgeschlossen.

Dagegen fanden sich bei den vier Patienten Nr. 171 (septische Enzephalopathie bei Perikarditis und Propioni-Bakterien-Nachweis), Nr. 81 (Urosepsis *E. coli*), Nr. 157 (GBS nach *Campylobacter jejuni* Gastroenteritis) und Nr. 74 (Fossa canina Abszess) normale CXCL13-Serumwerte und unauffällige Liquorbefunde. Bei dem Patienten Nr. 165 mit Diabetes mellitus handelte es sich um eine Liquorkontrolle 1 Jahr nach einer Listerien-Meningitis. Bei diesem Patienten fanden sich eine geringgradige Schranken-funktionsstörung. Die CXCL13-Werte in Serum und Liquor waren mit 72 bzw. 12,7 ng/ml unauffällig.

Die Befunde belegen, dass nicht nur Borrelien und Treponemen sondern auch andere bakterielle Infektionen z. B. mit Listerien, *Staph. aureus* oder auch Pneumokokken eine CXCL13-Synthese im Liquor induzieren können und entsprechend bei unklarer Ätiologie des CXCL13-Befundes im Liquor nach Ausschluss einer Borreliose auch an Infektionen mit anderen Bakterien als mögliche Ursache für den Liquorbefund gedacht werden muss.

## **CXCL13-Befunde bei Patienten mit Verdacht auf ZNS-Erkrankungen entzündlicher Genese ohne Erregernachweis**

Bei vielen Patienten in der neurologischen Routinediagnostik wird über die Liquordiagnostik eine Abgrenzung entzündlicher und nicht entzündlicher ZNS-Erkrankungen angestrebt. Hierbei sind nicht nur Zellbefunde im Liquor sondern auch der Nachweis einer oligoklonalen Immunreaktion oder der intrathekalen Synthese von IgG, IgA oder IgM von wichtiger Bedeutung.

Bei neun dieser Patienten wurde die Diagnose idiopathische Facialisparesie gestellt. In allen Fällen waren die Zellbefunde im Liquor normal, eine oligoklonale Immunreaktion im ZNS oder eine intrathekale Immunglobulin-Synthese wurden ausgeschlossen. Nur bei einem Patienten fand sich eine geringgradige Schranken-funktionsstörung mit einem Albumin-Quotienten von 11,6. Der CXCL13-Medianwert im Liquor war 5,7 (Bereich 0 – 10) pg/ml.

Die weiteren Patienten dieser Gruppe sind in den Tabellen 12 und 13 aufgelistet. Es wurden zwei Gruppen gebildet. Die Tabelle 12 präsentiert 9 Patienten, bei denen weder eine oligoklonale Immunreaktion noch eine intrathekale Immunglobulin-Synthese nachgewiesen werden konnte. Die Tabelle 13 fasst die Befunde für 21 Patienten mit Nachweis oligoklonaler Immunglobuline zusammen.

Von den 9 Patienten ohne oligoklonale Immunreaktion im ZNS zeigten 7 CXCL13-Liquorwerte unter 15 pg/ml. Nur in zwei Fällen waren die Werte mit 17,3 pg/ml bzw.

21,4 pg/ml geringfügig erhöht. Der erste Fall betraf einen Patienten mit axonalem Guillain-Barré-Syndrom und bilateraler Facialis-Parese, der zweite Fall war assoziiert zu einem Clostridium difficile-Nachweis im Stuhl. Hier war wieder vor allem der deutlich erhöhte CXCL13-Wert im Serum mit 263 pg/ml auffällig.

**Tabelle 12**

CXCL13-Befunde bei Patienten mit Verdacht auf ZNS-Erkrankungen entzündlicher Genese (oligoklonales IgG i. L. negativ)

Fall-Nr.	Klinik/Probenstatus	Zellzahl	Oligoklonales IgG i. L.	Intrathekale Immunglobulin-Synthese			Qalb x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 Serum pg/ml	CXCL13 Liquor pg/ml	CXCL13 i.L. pg/g GE
				IgG	IgA	IgM				
128	Adduktionsschwäche rechtes Auge, V. a. Hirnnerven-Neuritis	9	Negativ	-	-	-	4,6	43,3	2,1	5,5
33	V. a. Retrobulbärneuritis	1	Negativ	-	-	-	8,9	28,3	3,3	7,8
132	Retrobulbärneuritis, kein Anhalt für chron. entzündl. ZNS-Erkrankung	4	Negativ	-	-	-	4,5	73	3,7	10,9
86	Polyneuroradikulitis, lymphozytäre Pleozytose, HSV-PCR neg.	68	Negativ	-	-	-	7,5	29,1	3,9	8,5
216	Gangstörung, Blasen-, Mastdarm-Strg. Unklarer Genese, Depression	1	Negativ	-	-	-	9,5	76	5	15,6
99	Brown-Squard-Syndrom, Läsion BWK 3/4 leichte lymphozytäre Pleozytose	8	Negativ	-	-	-	5,5	70	8,8	27
88	Passagere Tetraparese unkl. Genese	1	Negativ	-	-	-	2,8	34	12,2	28
208	Axonales GBS, bilaterale Facialisparesie	1	Negativ	-	-	-	16,5	68	17,3	17,8
134	Clostridium difficile Befund im Stuhl positiv	18	Negativ	-	-	-	20,4	263	21,4	30,2

**Tabelle 13**

CXCL13-Befunde bei Patienten mit Verdacht auf ZNS-Erkrankungen entzündlicher Genese (oligoklonales IgG i. L. positiv)

Fall-Nr.	Klinik/Probenstatus	Zellzahl	Oligoklonales IgG i. L.	Intrathekale Immunglobulin-Synthese			Qalb x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 Serum pg/ml	CXCL13 Liquor pg/ml	CXCL13 i.L. pg/g GE
				-	+	-				
31	V. a. Myelitis der BWS	1	Positiv	-	-	-	3,0	34	1,4	5,3
272	EMD	26	Positiv	+	-	-	6,0	47	7,1	11,9
227	GBS nach grippalem Infekt	1	Positiv	-	-	-	6,9	18,1	3,3	8,3
36	Chron. entz. ZNS-Erkrankung bekannte Angststörung	2	Positiv	+	-	-	2,7	32	7,5	33
206	Inkomplette Okulomotorius-Parese Rezidiv	1	Positiv	-	-	-	7,4	32	9,8	21,4
131	Chron. entzdl. ZNS-Erkrankung, Entzündungsherde im MRT	1	Positiv	-	-	-	4,7	36	12,5	40,7
45	Retrobulbärneuritis, chron. Entz. ZNS-Erkrankung	3	Positiv	-	+	-	6,9	101	14,1	29
191	V. a. chron. entzdl. ZNS-Erkrankung	k. A.	Positiv	+	-	-	8,3	29	19	35
100	Neuritis N. optici	2	Positiv	-	-	-	4,8	44	21	82
32	Chron. entz. ZNS-Erkrankung, interm. Gangstörung, Schwäche der Beine	2	Positiv	+	-	-	5,8	19,3	31	82
80	V. a. chron. entz. ZNS Erkrankung	3	Positiv	+	-	-	3,3	247	32	125
260	Progrediente neurol. Symptomatik unkl. Genese, Dreiklassen-Reaktion	21	Positiv	+	+	+	10,6	56,4	37	57
259	V. a. chron. entzdl. ZNS-Erkrankung, lymphozyt. Pleozytose	10	Positiv	+	-	-	5,5	525	41	109
281	Dreiklassenreaktion unkl. Genese	k. A.	Positiv	+	+	+	4,1	33	43	135
154	Multiple Sklerose, lymphozyt. Pleozytose	7	Positiv	+	-	-	6,4	42	48	102
43	Symptomatische Epilepsie, Encephalitis unklarer Genese	4	Positiv	+	-	-	14,6	119	43	516
43	Verlaufskontrolle zu Pat. Nr. 43	21	Positiv	+	+	-	15,8	66	57	102
265	Intrathek. IgG- und IgM-Synthese unkl. Genese, lymphocytäre Reaktion	4	Positiv	+	-	+	5,9	36	120	287
250	Intrathekale IgM-Synthese unkl. Genese	k. A.	Positiv	-	-	+	13,9	69	745	n.c.
248	Demenz, lymphozyt. Pleozyt. unkl. Gen.	22	Positiv	+	+	+	18,5	52	753	849
42	Retrobulbärneuritis, Alkoholiker, LeberCi	6	Positiv	+	+	<b>Gw</b>	5,1	36	696	1761

In der zweiten Fallgruppe (Tab. 13) der Patienten mit oligoklonaler Immunreaktion zeigt sich ein deutlich anderes Bild. Von den 21 Patienten waren die CXCL13-Liquorbefunde bei sieben niedrig mit Werten zwischen 1,4 und 14,1 pg/ml, bei weiteren 10 Patienten leicht erhöht auf 19 bis 57 pg/ml und bei vier Patienten stark erhöht mit Werten von 120, 696, 745 und 753 pg/ml. Typisch sind Fälle, wie der Patient Nr. 154 mit multipler Sklerose und einem CXCL13-Liquorwert von 48 pg/ml. Aus der Literatur ist bekannt, dass diese Patienten leicht erhöhte CXCL13-Liquorwerte aufweisen [3,4]. Vermutlich sind viele der hier leicht erhöhten CXCL13-Liquorwerte ähnlichen Diagnosen zuzuordnen. Von den 14 Patienten mit intrathekaler IgG-Synthese zeigten weitere acht mit 19 bis 57 pg/ml CXCL13-Liquorwerte in der dem MS-Fall vergleichbaren Größenordnung. In drei Fällen fanden sich jedoch deutlich höhere Werte, bei denen möglicherweise an eine andere ätiologische Ursache zu denken ist. Interessant ist auch die Beobachtung, dass bei allen fünf Patienten mit intrathekaler IgM-Synthese erhöhte CXCL13-Werte nachgewiesen wurden. Eine abschliessende Bewertung der möglichen Ursache der stark erhöhten CXCL13-Liquorwerte ist nicht möglich. Bei den Patienten Nr. 265, 250 und 248 wurden eine Borreliose oder Syphilis serologisch ausgeschlossen. Bei dem Patienten Nr. 42 erfolgten keine weiteren differentialdiagnostischen Tests. Interessant wären bei diesen Fällen insbesondere die Frage gewesen, ob der Nachweis anderer bakterieller Infektionen die Befunde hätte erklären können.

Die Befunde der Patientengruppe mit Verdacht auf entzündliche ZNS-Erkrankungen zeigen, dass die CXCL13-Bestimmung sehr interessante differentialdiagnostische Hinweise geben kann, und dass wahrscheinlich in einigen Fällen aus den hochpositiven CXCL13-Befunden der Anstoß für eine weiterführende Differentialdiagnostik hätte abgeleitet werden können.

### **CXCL13-Liquorbefunde bei Polyneuropathie**

Bei 4 Patienten wurde eine Polyneuropathie als Diagnose angegeben. In zwei Fällen waren die CXCL13-Werte im Liquor mit 5,5 bzw. 8,2 pg/ml unauffällig. Bei einem Patienten mit Polyneuropathie bei monoklonaler Gammopathie unklarer Signifikanz war der CXCL13-Wert mit 13,9 pg/ml grenzwertig, in einem weiteren Fall mit einer Polyneuropathie unklarer Genese und ansonsten unauffälligem Liquorbefund mit 16,1 pg/ml leicht erhöht.

### **CXCL13-Liquorbefunde bei Patienten mit neurologischen Befunden nicht entzündlicher Genese**

Aus dieser Patientengruppe (n = 57) wurde unter anderem das Kontrollkollektiv dieser Studie generiert (Details s. Tab. 3). Aber auch in dieser Diagnosegruppe fanden sich Patienten mit erhöhten CXCL13-Liquorwerten. In fünf Fällen (Nr. 152, 188, 194, 214, 105, Tab. 14) waren die Befunde grenzwertig und somit nicht signifikant erhöht. Hier fand sich ein 2. Fall (s. a. Polyneuropathie-Gruppe) mit monoklonaler Gammopathie

(CXCL13 im Liquor 11,1 pg/ml). Weitere Diagnosen waren Armplexus-Neuritis (CXCL13 10,0 pg/ml), Carcinom-Metastasen in der Wirbelsäule (CXCL13 10,1 pg/ml), Migräne mit Aura (CXCL13 12,4 pg/ml) und erstmalig generalisierter Krampfanfall (CXCL13 10,2 pg/ml).

In vier weiteren Fällen fanden sich höhere CXCL13-Liquorwerte. Bei einer Patientin mit rezidivierenden Komplex-fokalen Anfällen bei symptomatischer Epilepsie war der CXCL13-Liquorwert auf 16,1 pg/ml erhöht. Beim zweiten Fall (CXCL13 18,5 pg/ml) wurde ein hirnorganisches Psychosyndrom nach Sturz mit Commotio cerebri und Kopfwunde mit sekundärer Wundheilung diagnostiziert. Hier könnte der CXCL13-Befund blutungsbedingt sein oder auch Folge einer bakteriellen Infektion. Im dritten Fall (CXCL13 23,8 pg/ml) handelte es sich um eine schmerzbedingte Minderinnervation des rechten Beines bei Coxarthrose und seit 10 Jahren bekannter Lumbago. Im vierten Fall (CXCL13 im Liquor 40,9 pg/ml im Serum 804 pg/ml) war seit mehr als einem Jahr ein neuroendokriner Tumor bekannt. Diese Patientin hatte vor 1 Jahr einen Media-Teilinfarkt, leidet unter fokal sekundär generalisierten Anfällen und hat ein Meningeom rechts okzipital. Möglicherweise handelt es sich in diesem Fall um eine Induktion von CXCL13 bedingt durch den neuroendokrinen Tumor.

## Tabelle 14

Grenzwertige und erhöhte CXCL13-Liquorwerte bei Patienten mit nichtentzündlichen neurologischen Krankheitsbildern (n = 9)

Fall-Nr.	Klinik/Probenstatus	Qalb x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 Serum pg/ml	CXCL13 Liquor pg/ml	CXCL13 i.L. pg/g GE
152	Armplexusneuritis links	3,9	46	10,0	55,9
105	Diffuse Wirbelsäulen-Metastasierung bei hepatocellulärem Ca.	24,0	317	10,1	8,1
194	Erstmalig generalisierter Krampfanfall	3,6	43,8	10,2	37,8
214	Monoklonale Gammopathie DD Bing-Neel Syndrom (ZNS Infiltration) oder chron. entzündl. ZNS-Erkrankung	5,6	24,0	11,1	25,9
188	Migräne mit Aura	2,6	26,1	12,4	72,1
103	Rez. Komplex-fokale Anfälle bei symptomatischer Epilepsie nach cerebraler Blutung vor 9 Jahren	5,2	49,0	16,1	61,1
215	Organisches Psychosyndrom nach Sturz mit Commotio cerebri, Kopfwunde mit sekundärer Wundheilung	8,7	13,9	18,5	40,1
140	Schmerzbedingte Minderinnervation re. Bein bei Coxarthrose und Lumbago seit 10 Jahren	6,1	52	23,8	65,6

95	Neuroendokriner Tumor, Chromogranin A 15.806, Z. n. Medialteilinfarkt vor 1 Jahr, Meningeom rechts okzipital	3,3	804	40,9	206
----	--	-----	-----	------	-----

## CXCL13-Liquorbefunde bei Patienten mit vaskulären ZNS-Erkrankungen (n = 26)

In der Patientengruppe mit vaskulären ZNS-Erkrankungen, z.B. Hirninfarkten, fanden sich bei den Untersuchungen von 26 Patienten dreimal grenzwertige und dreimal erhöhte CXCL13-Liquorwerte. Die Befunde dieser Patienten sind in der Tabelle 15 aufgelistet.

### Tabelle 15

Grenzwertige und erhöhte CXCL13-Liquorwerte bei Patienten mit vaskulären ZNS Erkrankungen (n = 26)

Fall-Nr.	Klinik/Probenstatus	Qalb x 10 <sup>-3</sup>	CXCL13 Serum pg/ml	CXCL13 Liquor pg/ml	CXCL13 i.L. pg/g GE
97	Rezidivierende TIA's	4,6	31	10,1	20,1
137	Lakunärer Hirninfarkt im Bereich der Pons links	4,5	30	10,3	30,4
163	Rez. Hirninfarkte im Media-Stromgebiet rechts, symptomatische Epilepsie	13,8	87	13,8	18,7
161	Z. n. Hirninfarkt, Diabetes mellitus, V. a. diabetische Polyneuropathie	8,4	37	15,4	25,8
156	Akuter striato-kapsulärer Infarkt links, Z. n. intrazerebraler Blutung vor 14 Jahren, gemischte vaskuläre Demenz, Z. n. invasivem duktalem Mamma-Ca	10,6	45	18,2	26,0
138	Hypertensive Stammganglien-Blutung re. Zustand nach Borreliose Stadium I 2007, kein Anhalt für Neuroborreliose	4,0	29	27,5	101

Die Befunde der Tabelle 15 verdeutlichen, dass die erhöhten CXCL13-Werte der Patienten Nr. 161 und 156 eher komplexen Krankheitsbildern zuzuordnen sind, bei denen es schwierig ist, die Ursache der Befunde abzuleiten. Bei dem Patienten Nr. 138 könnte der relativ zum Serum sehr hohe CXCL13-Wert im Liquor ein Hinweis auf eine entzündliche Genese des Befundes sein, aber auch ein Artefakt als Folge einer intrazerebralen Blutung ist letztlich nicht sicher auszuschließen.

## **CXCL13-Liquorwerte bei sonstigen Patienten (n = 25)**

In dieser Gruppe wurden Patienten zusammengefasst, bei denen bis auf vier Fälle die klinische Fragestellung bzw. Diagnose nicht vorlag.

Bei einem Patienten war die Diagnose ALS (CXCL13 10,3 pg/ml) bekannt. Bei zwei weiteren Patienten lautete die Verdachtsdiagnose ALS (CXCL13 Liquorwerte 8,7 bzw. 11,2 pg/ml). Der vierte Patient (CXCL13 7,0 pg/ml) hatte einen Morbus Parkinson.

Von den übrigen 21 Patienten war nur in einem Fall der CXCL13-Liquorwert erhöht auf 34,1 pg/ml. Bei dieser Patientin fehlte auch die Angabe zum Liquorzellbefund. Oligoklonales IgG konnte im Liquor nicht nachgewiesen werden, es fand sich jedoch eine intrathekale IgG-Synthese. Hier könnte der CXCL13-Liquorbefund ein Hinweis auf eine ZNS-Erkrankung entzündlicher Genese sein.

## **Autoimmun-Antikörper-Screening bei nicht vorselektierten Patienten einer neurologischen Klinik**

Nachdem sich bei der CXCL13-Bestimmung als Screeningverfahren ohne Vorselektion von bestimmten Patientengruppen zeigte, dass die CXCL13-Liquorbefunde durchaus zusätzlich differentialdiagnostische Hinweise geben können, wurde in einem zweiten Studienarm ein Screening auf neuronale Antikörper zur Detektion von Patienten mit möglicher autoimmuner Genese einer neurologischen Symptomatik angeschlossen.

Die Antikörpertests erfolgten parallel in Serum- und Liquorproben von einhundert nicht vorselektierten Patienten im Rahmen der neurologischen Routinediagnostik. Im Liquor konnte bei keinem dieser Patienten ein neuronaler Antikörper detektiert werden. Im Serum zeigte sich zweimal in der Screeningverdünnung eine sehr schwache Reaktivität mit Strukturbestandteilen der Purkinje-Zellen, die aber von der Ausprägung klinisch nicht relevant waren. Antikörper gegen dieses Strukturelement sind am ehesten bei paraneoplastischen Syndromen zu erwarten. Die NMDA-Antikörper, die insbesondere auch im Rahmen der Enzephalitisdiagnostik von besonderem Interesse sind, konnten bei keinem der Patienten nachgewiesen werden. Mehrfach zeigten sich schwache Antikörperreaktionen gegen Myelin oder gegen Gefäß-Endothelien.

Insgesamt zeigte dieser Studienansatz aber sehr klar, dass ein ungezieltes Screening auf neuronale Antikörper sowohl im Serum als auch im Liquor wenig effektiv ist. Hier müssen die Voraussetzungen für den Einsatz dieser teuren und schwer zu interpretierenden Tests besser definiert sein.

## 6. Diskussion und Gesamtbeurteilung der Studienergebnisse

Die Analyse der CXCL13-Werte in Serum und Liquor ergab, dass in der weitaus überwiegenden Zahl der Fälle keine direkte Abhängigkeit der CXCL13-Konzentration im Liquor von der CXCL13-Konzentration im Serum besteht und dass der Funktionszustand der Blut-Liquor-Schranke als Einflussgröße ebenfalls bis auf seltene Ausnahmen zu vernachlässigen ist. Somit können die CXCL13-Liquorbefunde direkt bewertet werden. Ein Bezug der CXCL13-Liquorwerte auf das Liquorgesamteiweiß ist nicht notwendig und bringt keine wesentlichen Vorteile für die Befundinterpretation. Zusätzliche diagnostische Sicherheit kann hingegen erreicht werden durch die parallele Betrachtung der CXCL13-Werte in Serum und Liquor.

Findet sich eine CXCL13-Konzentration im Liquor unterhalb des niedrigsten Wertes der Standardkurve, also  $< 7,8$  pg/ml, sollte dies als Normalbefund angesehen werden, da in diesem extrem niedrigen Messwertbereich bei Extinktionswerten unter 0,05 ohnehin keine exakten reproduzierbaren Befunde erhoben werden können. In dem Normalkollektiv wurden Werte bis zu 10 pg/ml beobachtet, in vielen anderen Proben ohne Hinweis auf einen entzündlichen ZNS-Prozess auch Werte bis zu 15 pg/ml. Daraus resultiert insgesamt folgender Vorschlag zur Bewertung der CXCL13-Liquorwerte:

CXCL13	$< 10$	pg/ml	=	Normalbereich
CXCL13	$10 - <15$	pg/ml	=	Grenzwertbereich
CXCL13	$15 - 99$	pg/ml	=	erhöhte Werte
CXCL13	$\geq 100$	pg/ml	=	stark erhöhte Werte

Hauptzielsetzung dieser Studie war die Frage, ob eine routinemässige CXCL13-Bestimmung als Bestandteil der Liquordiagnostik sinnvoll sein kann. Hierzu wurden 180 Serum/Liquor-Proben von nicht vorselektierten Patienten einer neurologischen Klinik untersucht sowie ergänzend bestimmte Fallgruppen gezielt untersucht.

Die eigenen Daten bestätigen die Befunde anderer Autoren und belegen den hohen diagnostischen Stellenwert der CXCL13-Bestimmung im Liquor im Rahmen der Diagnostik der akuten Neuroborreliose im Stadium II. Bei diesen Patienten finden sich sehr hohe CXCL13-Liquorwerte mit einem Medianwert von 770 pg/ml. Insbesondere kann die CXCL13-Bestimmung im Liquor diagnostisch richtungsweisend sein bei Borreliose-Fällen mit atypischer Klinik oder bei Patienten, bei denen in der Frühphase der Neuroborreliose eine spezifische Immunantwort und intrathekale Antikörpersynthese noch nicht nachweisbar sind.

Schwieriger zu interpretieren sind Fälle, bei denen eine intrathekale Borrelien-IgG-Antikörpersynthese nachweisbar ist, zugleich aber die Liquor-Grunddiagnostik weitgehend unauffällig ist. Hier ist die Frage, ob ein negativer bzw. nichtsignifikanter CXCL13-Befund den Schluss zulässt, dass es sich um einen Restbefund nach abgelaufener Borrelieninfektion mit ZNS-Beteiligung handelt oder ob doch auch eine

chronische Neuroborreliose möglich sein könnte. Zu dieser Frage sind weitere Studien erforderlich.

Auch bei Neurosyphilis können erhöhte CXCL13-Liquorwerte gefunden werden. In dieser Studie konnten bei sechs Neurosyphilispatienten dreimal hohe CXCL13-Liquorwerte über 100 pg/ml und dreimal nur schwach erhöhte CXCL13-Liquorwerte zwischen 15 und 37 pg/ml ermittelt werden. In zwei dieser Fälle war die Höhe der CXCL13-Werte mit 684 bzw. 775 pg/ml denjenigen der Neuroborreliosepatienten durchaus vergleichbar. Zusätzlich fanden sich bei 6 von 18 Syphilis-Patienten mit Verdacht auf Neurosyphilis (meist im Rahmen der Diagnostik einer aktiven Syphilis insbesondere bei HIV-Patienten) ebenfalls CXCL13-Liquorwerte > 100 pg/ml und bei weiteren vier Patienten Werte zwischen 31 und 85 pg/ml. Aus der Literatur ist bekannt, dass eine in der Regel asymptomatische ZNS-Beteiligung bei Syphilis im Primär- und vor allen im Sekundärstadium in bis zu 30% der Fälle nachgewiesen werden kann. Möglicherweise sind die erhöhten CXCL13-Werte in dieser Fallgruppe als Indikator für die Diagnose einer asymptomatischen Neurosyphilis zu sehen. Auch hier sind zur weiteren Abklärung des diagnostischen Stellwertes im Rahmen der Syphilisdiagnostik weitere Studien notwendig.

Die differentialdiagnostische Zuordnung hoher CXCL13-Liquorwerte zu jeweils einer der beiden Diagnosen Borreliose oder Syphilis ist in der Praxis meist unproblematisch, da in der Regel die Syphilis serologisch sicher ausgeschlossen oder nachgewiesen werden kann. Zudem kommen in der neurologischen Routinediagnostik Syphilisfälle nur selten vor. In dem Panel von 180 Serum/Liquorpaaren wurde viermal eine akute Neuroborreliose diagnostiziert aber in keinem Fall eine aktive oder zurückliegende Syphilis detektiert.

Leicht erhöhte CXCL13-Liquorwerte zwischen 15 und 99 pg/ml werden bei ZNS-Erkrankungen entzündlicher Genese relativ häufig beobachtet. In dieser Studie finden sich dafür zahlreiche Beispiele. Typisch und aus der Literatur bekannt sind solche Befunde z.B. bei multipler Sklerose. Bei einem Patienten mit klinisch gesicherter MS in dieser Studie fanden sich nahezu identische CXCL13-Konzentrationen im mittleren Bereich in Serum und Liquor mit 42,4 bzw. 48,4 pg/ml. Vermehrt können solche Befunde erhoben werden bei Patienten, bei denen eine oligoklonale Immunreaktion, eine lokale IgG-Synthese und insbesondere auch eine lokale IgM-Synthese im ZNS nachweisbar sind. Die Frage nach der Ätiologie der vermehrten CXCL13-Produktion ist in diesen Fällen weitgehend unklar.

Interessanter ist die Frage der diagnostischen Spezifität stark erhöhter CXCL13-Liquorwerte >100 pg/ml für eine Spirochätose, z.B. einer Borreliose. In der Stichprobe von 180 Serum/Liquor-Paaren aus der neurologischen Routinediagnostik fanden sich 10mal CXCL13-Liquorwerte > 100 pg/ml. Diese Proben stammten von 9 Patienten. Nur in vier Fällen (44 %) wurde die Diagnose Neuroborreliose verifiziert. Zwei Proben stammten von einem Patienten mit Listerieninfektion, eine von einem Patienten mit

Staphylokokkus aureus-Meningitis, zwei weitere Proben von Patienten mit bakteriellen Infektionen (Mitralklappen-Endocarditis, Orbita-Spitzensyndrom), bei denen eine Erregerabsiedlung in das ZNS zumindest möglich gewesen sein könnte. In einem Fall bei einem alkoholabhängigen Patienten mit Lebercirrhose und Retrobulbärneuritis bleibt die wahrscheinliche Ursache der CXCL13-Erhöhung im Liquor auf 696 pg/ml bei einem Serumwert von nur 36 pg/ml völlig offen. Eine Befundabklärung unter infektiologischen Aspekten erfolgte nicht. Hier ergibt sich in jedem Fall die Frage, ob die Zytokin-Reaktion im Liquor Folge eines bakteriellen Infektes bei durch die Grunderkrankung bedingter Abwehrschwäche sein könnte. In dem erweiterten Probenspektrum (Einbeziehung des Panel 2) konnte im Gegensatz zu Angaben aus der Literatur [11] zusätzlich auch ein stark erhöhter CXCL13-Wert nicht nur im Serum sondern auch im Liquor bei einer Pneumokokkenmeningitis nachgewiesen werden. Die Befunde insgesamt zeigen, dass hochpositive CXCL13-Werte > 100 pg/ml im Liquor nicht nur bei Borreliose und Syphilis vorkommen, sondern auch bei Infektionen mit anderen bakteriellen Erregern wie z.B. Listerien, Staphylokokken. Virale Infektionen hingegen scheinen die CXCL13-Synthese im Liquor nicht oder nur in geringem Umfang zu beeinflussen. Bei zwei HSV-PCR positiven Liquorproben waren die CXCL13-Liquorbefunde normal.

In seltenen Fällen kommen auch ganz andere Ursachen für eine CXCL13-Erhöhung im Liquor in Betracht. So konnte ein Patient identifiziert werden bei dem im Rahmen einer chronisch lymphatischen Leukämie (CLL) die CXCL13-Werte in Serum und Liquor in drei verschiedenen Stichproben mit im Mittel 711 bzw. 754 pg/ml stark erhöht waren. Bei einem anderen Patienten mit einem neuroendokrinen Tumor war der CXCL13-Wert im Serum sehr stark erhöht auf 804 pg/ml. Im Liquor fand sich ein erhöhter Wert mit 40,9 pg/ml bei völlig intakter Schrankenfunktion (Albumin-Quotient 3,3). Diese Befunde zeigen, wie wichtig es ist, CXCL13-Befunde nicht isoliert zu sehen, sondern unter Berücksichtigung aller verfügbaren Informationen zu Laborbefunden und Klinik der Patienten zu interpretieren.

In dem Panel 2 fanden sich drei Patienten, bei denen eine Borreliose und Syphilis serologisch ausgeschlossen wurden und sich retrospektiv die Frage ergibt, ob die stark erhöhten CXCL13-Befunde im Liquor Folge einer bakteriellen Infektion gewesen sein könnten. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung waren nicht erfolgt. Im ersten Fall eines Patienten mit Demenz, mit lymphozytärer Pleozytose, Nachweis einer oligoklonalen Immunreaktion und einer intrathekalen IgG-, IgA- und IgM-Synthese (intrathekales IgM 85 %) waren die CXCL13-Werte im Serum in zwei Stichproben mit 9,6 bzw. 52,2 pg unauffällig, im Liquor aber mit 746 bzw. 753 pg/ml stark erhöht. Im zweiten Fall fand sich eine intrathekale IgM-Synthese von 64 % unklarer Genese sowie eine oligoklonale Immunreaktion im ZNS. Die CXCL13-Werte in Serum und Liquor betragen 68,7 bzw. 745 pg/ml und im dritten Fall fanden sich eine lymphozytäre Zellreaktion, eine oligoklonale Immunreaktion im ZNS und eine intrathekale IgG- und

IgM-Synthese unklarer Genese. Die CXCL13-Werte in Serum und Liquor waren 36,4 bzw. 120 pg/ml.

Die insgesamt dargestellten und diskutierten Befunde verdeutlichen, dass die CXCL13-Bestimmung im Liquor, aber auch im Serum wertvolle differentialdiagnostische Hinweise geben kann, und dass in einem Teil der Fälle sich Befundkonstellationen finden, die mit den dokumentierten Diagnosen der Patienten nicht sicher in Einklang zu bringen sind. Daher sollte insbesondere bei hochpositiven auffälligen CXCL13-Liquorbefunden nach Ausschluss einer Borreliose oder Syphilis auch eine weiterführende Diagnostik zum Nachweis anderer Infektionserreger in Betracht gezogen werden.

Wir streben daher an, die in dieser Studie gewonnenen Erfahrungen zu vertiefen und prospektiv zeitnah zur Routinediagnostik CXCL13-Liquorbefunde zu erheben. Ziel ist es, bei auffälligen Befunden in Serum und Liquor durch weiterführende diagnostische Verfahren die mögliche infektiöse Genese abzuklären und somit einen Beitrag zu leisten, die Zahl der Enzephalitisfälle unklarer Genese zu reduzieren.

In diesem Kontext muss aber auch die Möglichkeit einer autoimmunen Genese neurologischer Erkrankungen vermehrt berücksichtigt werden. Ein erster Ansatz in dieser Richtung, der die Frage abklären sollte, ob ein ungezieltes Screening auf neuronale Antikörper ähnlich wie die CXCL13-Bestimmung interessante differentialdiagnostische Hinweise geben kann, führte jedoch nicht zu einem verwertbaren Ergebnis. Hier muss der methodische Ansatz, wann diese sehr aufwendige und teure Diagnostik mit eingebracht wird, neu überdacht werden.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Courtioux B, Pervieux L, Vatunga G, Marin B, Josenando T, Jauberteau-Marchan M-O, Bouteille B, Bisser S (2009) Increased CXCL13 levels in human African trypanosomiasis meningo-encephalitis. *Trop Med Int Health* 14: 529-534
2. Gelderblom H, Londono D, Bai Y, Cabral ES, Quandt J, Hornung R, Martin R, Marques A, Cadavid D (2007) High production of CXCL13 in blood and brain during persistent infection with the relapsing fever spirochete *Borrelia turicatae*. *J Neuropathol Exp Neurol* 66: 208-217
3. Kuenz B, Lutterotti A, Ehling R, Gneiss C, Haemmerle M, Rainer C, Deisenhammer F, Schocke M, Berger T, Reindl M (2008) Cerebrospinal fluid B cells correlate with early brain inflammation in multiple sclerosis. *PloS One*, Vol 3, e2559
4. Ljøstad U, Mygland Å (2008) CSF B-lymphocyte chemoattractant (CXCL13) in the early diagnosis of acute Lyme neuroborreliosis. *J Neurol* 255: 732-737
5. Ljøstad U, Skarpaas T, Mygland Å (2007) Clinical usefulness of intrathecal antibody testing in acute Lyme neuroborreliosis. *Europ J Neurol* 14:873-876
6. Mygland Å, Ljøstad U, Fingerle V, Rupprecht T, Schmutzhard E, Steiner I (2010) EFNS guidelines on the diagnosis and management of European Lyme neuroborreliosis. *Eur J Neurol* 17: 8-16
7. Narayan K, Dail D, Li L, Cadavid D, Amrute S, Fitzgerald-Bocarsly P, Pachner AR (2005) The nervous system as ectopic germinal center: CXCL13 and IgG in Lyme neuroborreliosis. *Ann Neurol* 57:813-823
8. Pfister HW, Rupprecht TA (2006) Clinical aspects of neuroborreliosis and post-Lyme disease syndrome in adult patients. *Int J Med Microbiol* 296 S1:11-16
9. Prüß H, Dalmau J, Arolt V, Wandinger K-P (2010) Anti-NMDA-Rezeptor-Enzephalitis. Ein interdisziplinäres Krankheitsbild. *Nervenarzt* 81: 396-404
10. Rupprecht T, Koedel U, Fingerle V, Pfister H-W (2006) Zytokin CXCL13. Ein früherer Liquormarker für die Neuroborreliose? *Nervenarzt* 77: 470-473
11. Rupprecht TA, Kirschning CJ, Popp B, Kastenbauer S, Fingerle V, Pfister H-W, Koedel U (2007) *Borrelia garinii* induces CXCL13 production in human monocytes through toll-like receptor 2. *Inf Immun* 75: 4351-4356
12. Rupprecht TA, Pfister HW, Angele B, Kastenbauer S, Wilske B, Koedel U (2005) The chemokine CXCL13 (BLC): a putative diagnostic marker for neuroborreliosis. *Neurol* 65: 448-450
13. Schöfer H, Brockmeyer NH, et al. (2008) Diagnostik und Therapie der Syphilis. Leitlinie der Deutschen STD-Gesellschaft. AWMF online-Leitlinien-Register Nr. 059/002. [www.Leitlinien.net](http://www.Leitlinien.net)

## **8. Verbreitung und Öffentlichkeitsarbeit der Projektergebnisse**

Die Daten dieser Studie sind als Erfahrungsbasis für nachfolgende besser konzipierte Studien zu sehen. Für eine Publikation in einer internationalen Fachzeitschrift sind die Daten in der vorliegenden Form noch nicht geeignet. Es wird angestrebt, prospektiv in Kooperation mit verschiedenen klinischen Studienpartnern die Daten der Studie an besser definierten Fällen und Fallgruppen zu verifizieren.

Die Schlussfolgerungen aus diesen Untersuchungen werden zukünftig sicher bei der Neufassung von Lehrbuchkapiteln und Richtlinien, die der Verfasser verantwortet, mitberücksichtigt.

Zusätzlich können sie auch als Argumentationshilfe bei Beratungsgesprächen im Rahmen des Konsiliarlabors Treponema Diagnostik und Therapie nützlich sein.

## **9. Verwertung der Projektergebnisse (Nachhaltigkeit/Transferpotential)**

Unmittelbare Konsequenzen für das Gesundheitssystem sind aus der Studie nicht abzuleiten.

In Einzelfällen kann jedoch ein erweitertes diagnostisches Angebot zur Klärung von Problemfällen beitragen.

Die Strukturen zur Durchführung dieser speziellen Diagnostik bleiben bestehen und sollen aktiv fortgeführt werden. Die hierfür erforderlichen technisch/apparativen Voraussetzungen für die Fortführung der Studien zur CXCL13-Bestimmung und autoimmunologischen Liquordiagnostik konnten Dank der finanziellen Unterstützung der vorliegenden Studie geschaffen werden.

Auch im Rahmen der Tätigkeit des Konsiliarlabors können die jetzt etablierten Tests zur Abklärung spezieller Fragestellungen angewendet werden.

## **10. Publikationsverzeichnis**

Publikationen sind bislang aus der Projektdurchführung nicht entstanden. Für eine qualitativ hochwertige Publikation soll die Datenbasis noch erweitert werden.