

Liquordiagnostik bei entzündlichen ZNS-Erkrankungen

48. Jahrestagung Gesellschaft für Neuropädiatrie 2023

Dortmund

16. November 2023

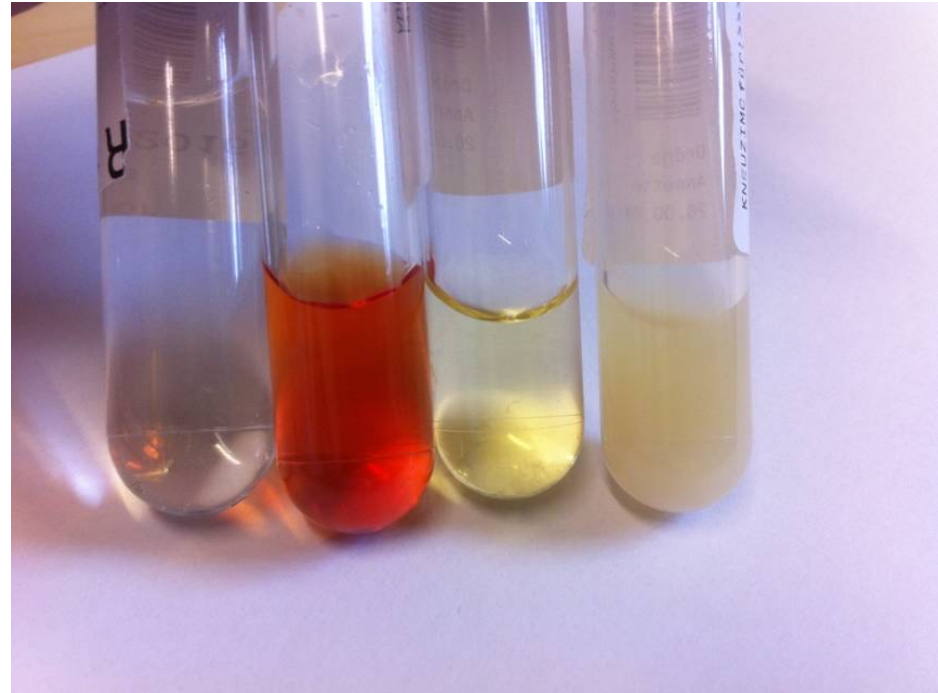
Frank Leypoldt

Gliederung

- **Liquor – Basics**
- Immunglobuline im Liquor und Antikörper-Index
- Erregerdiagnostik im Liquor
- Zytologie und FACS
- „Emerging“ Biomarker
- Typische Veränderungen bei glialer und neuronaler Autoimmunität
- Antikörperdiagnostik bei Autoimmunität im Kindesalter
- Liquordiagnostik „at the frontier“

Liquorbeschaffenheit

- **Trübe:** Hohe Zellzahl
- **Xanthochrom:** Blutabbauprodukte oder sehr hohes Eiweiß
- **Blutig:** Artifizuell? Deshalb Zentrifugation!
- Blutig nach Zentrifugation: **Hämolytisch**



Zellzahl

Pleozytose

5-50 / μ l:

Chronische Inflammation der Meningen:
(Epi. Anfälle, Infektionen, Autoimmunität, Polyradikulitis, Trauma)

50-500 / μ l:

Nicht-eitrige bakterielle Infektionen:
(Tbc, Neurosyphilis, Neuroborreliose)
Mykotische Infektionen und Parasitosen)

500-1000 / μ l:

Virale Meningitis / Meningoenzephalitis

1000-10 000 / μ l:

Eitrige Meningitis

Normale Zellzahl (0–4 / μ l)

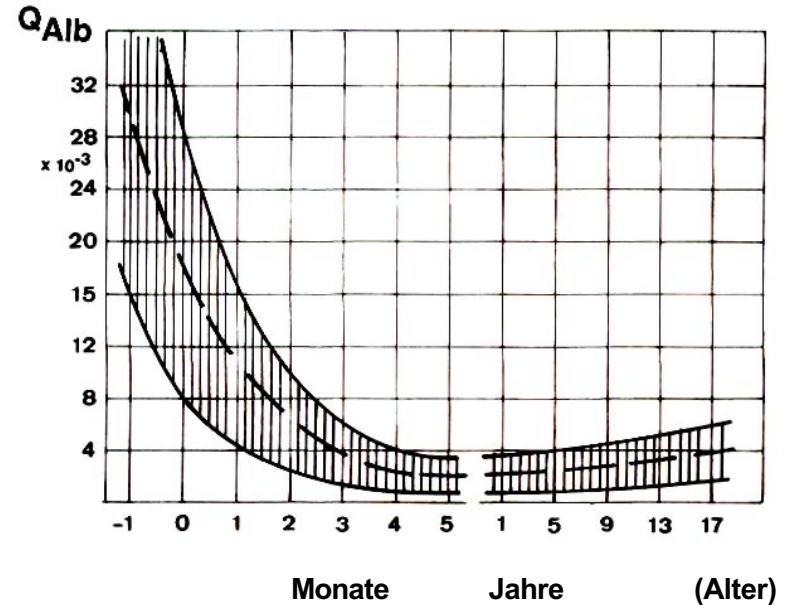
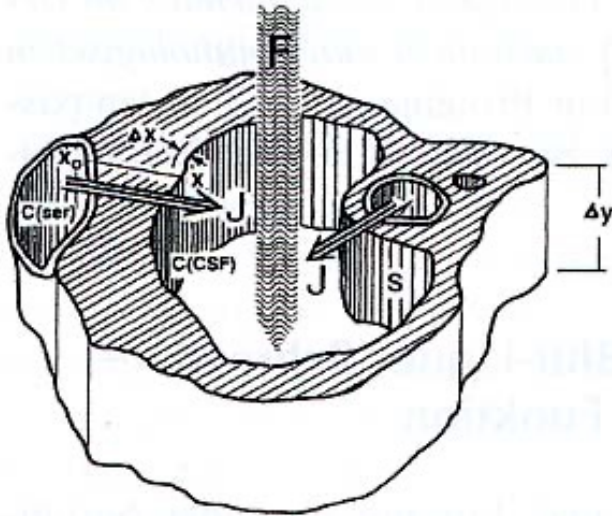
Normale Zellzahl schließt „Pathologie“
nicht sicher aus.

Pathogene

Tumorzellen

Maß für Schrankenstörung: Albuminquotient

- $C_{\text{Albumin Liquor}} / C_{\text{Albumin Serum}} \times 10^{-3}$
- Maß für Schrankenfunktion oder Liquorflussgeschwindigkeit



Gliederung

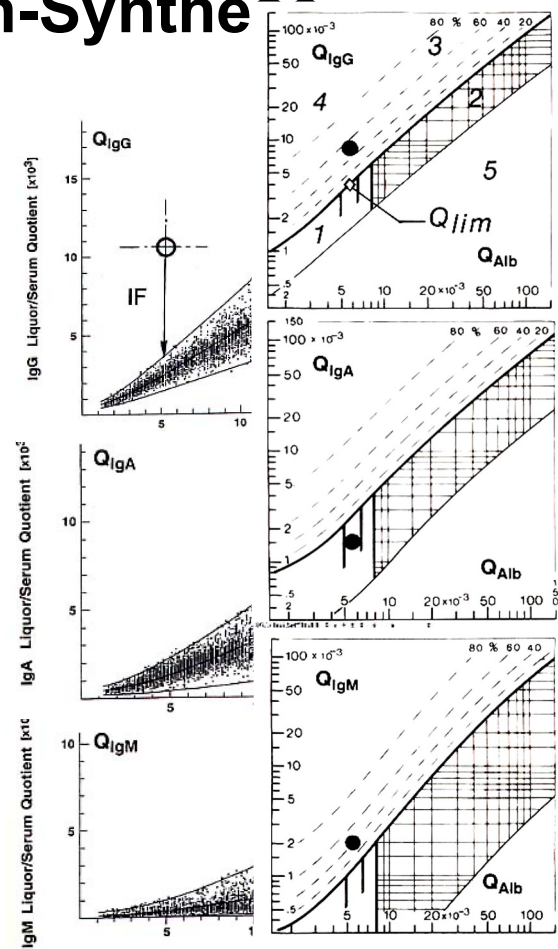
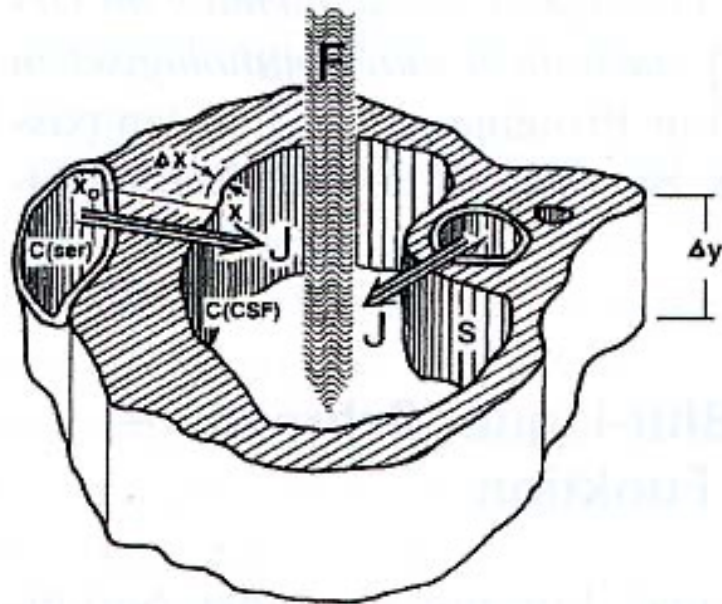
- Liquor – Basics
- **Immunglobuline im Liquor**
- Erregerdiagnostik im Liquor
- Zytologie und FACS
- „Emerging“ Biomarker
- Typische Veränderungen bei glialer und neuronaler Autoimmunität
- Antikörperdiagnostik bei Autoimmunität im Kindesalter
- Liquordiagnostik „at the frontier“

Wie messen wir ZNS-Inflammation im Liquor?

- Chemoattraktion ins ZNS
 - Zellzahl
 - Liquorzytologie (Lymphozytär, Neutrophil)
 - FACS (CD4/8, Plasmazellen...)
 - Indirekter Nachweis von Plasmazellen
 - Intrathekal produzierte Immunglobuline
 - Klonale Expansion im Liquor

Ig-Quotienten: Intrathekale Immunglobulin-Synthese

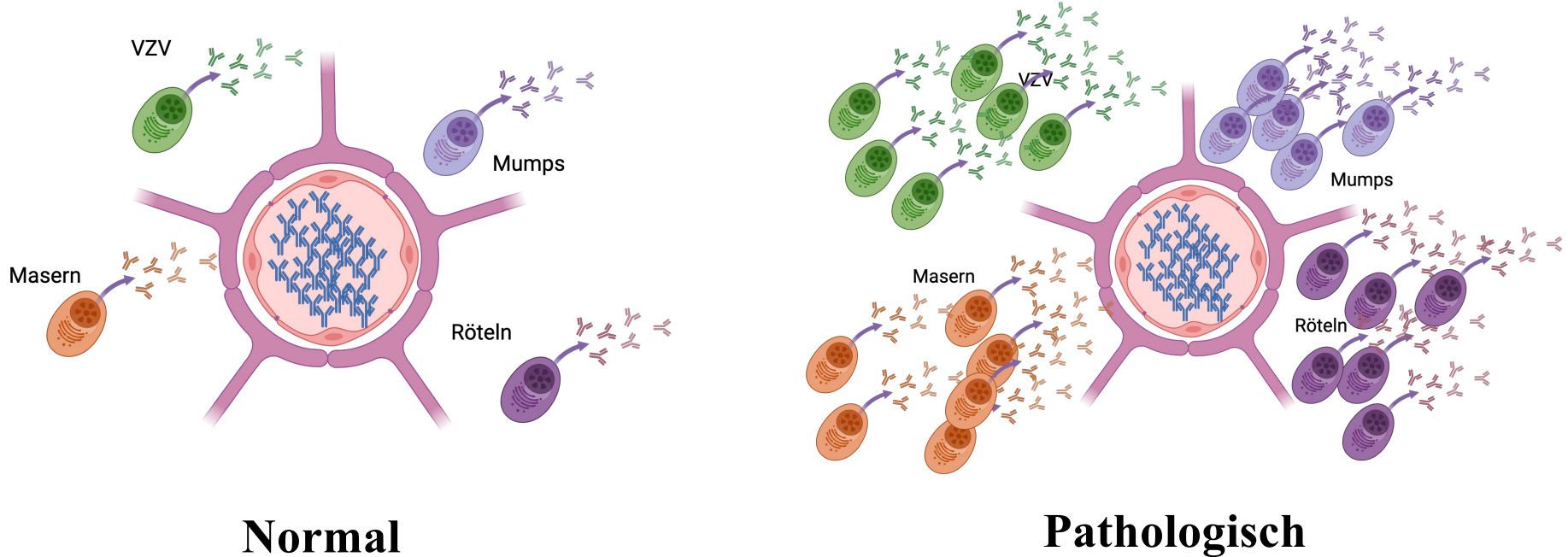
- Bei Fehlen einer intrathekalen Produktion von Ig ist der Ig-Quotient dem Albumin-Quotient proportional!
- Die Steigung sinkt mit der Molekülgröße



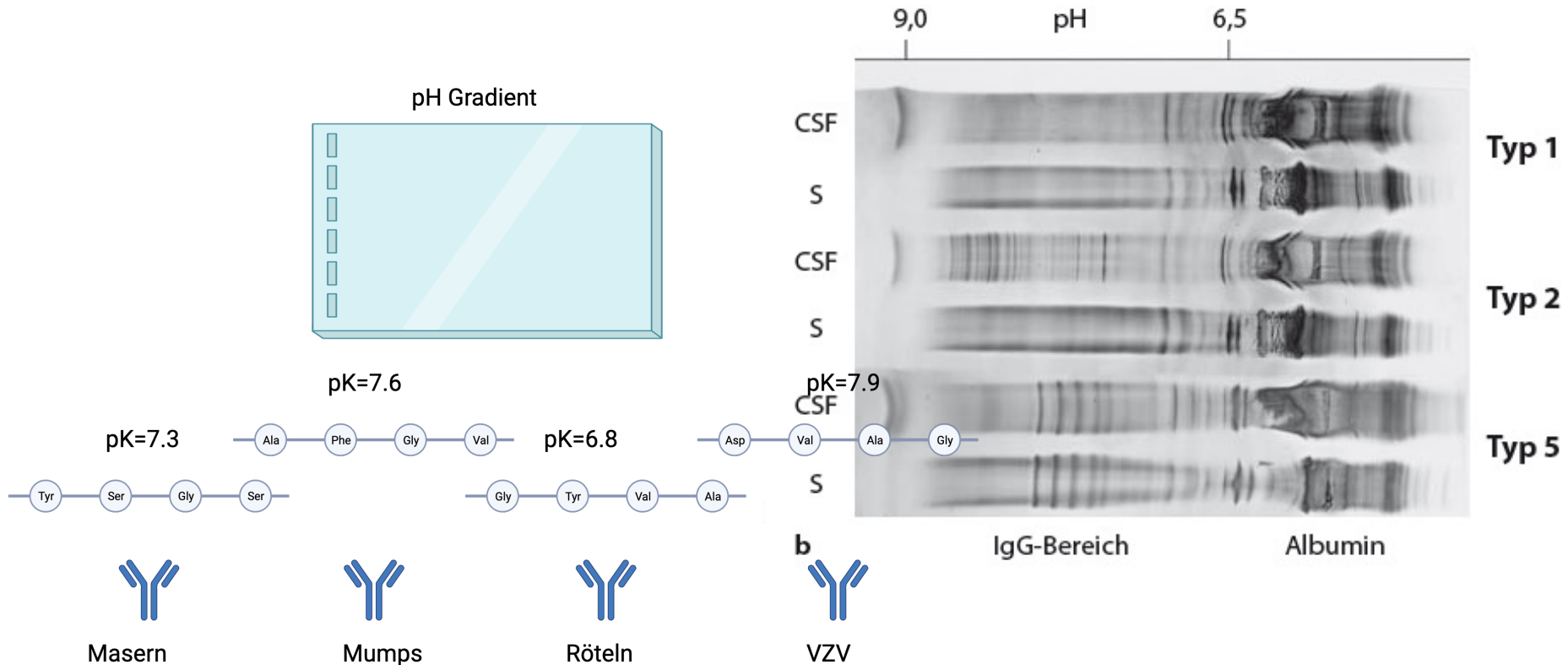
Albumin Liquor/Serum Quotient $[x10^3]$

Isolierte oligoklonale Banden: Nachweis (oligo-)klonal expandierter Plasmazellen im ZNS

Oligo = Zählbar

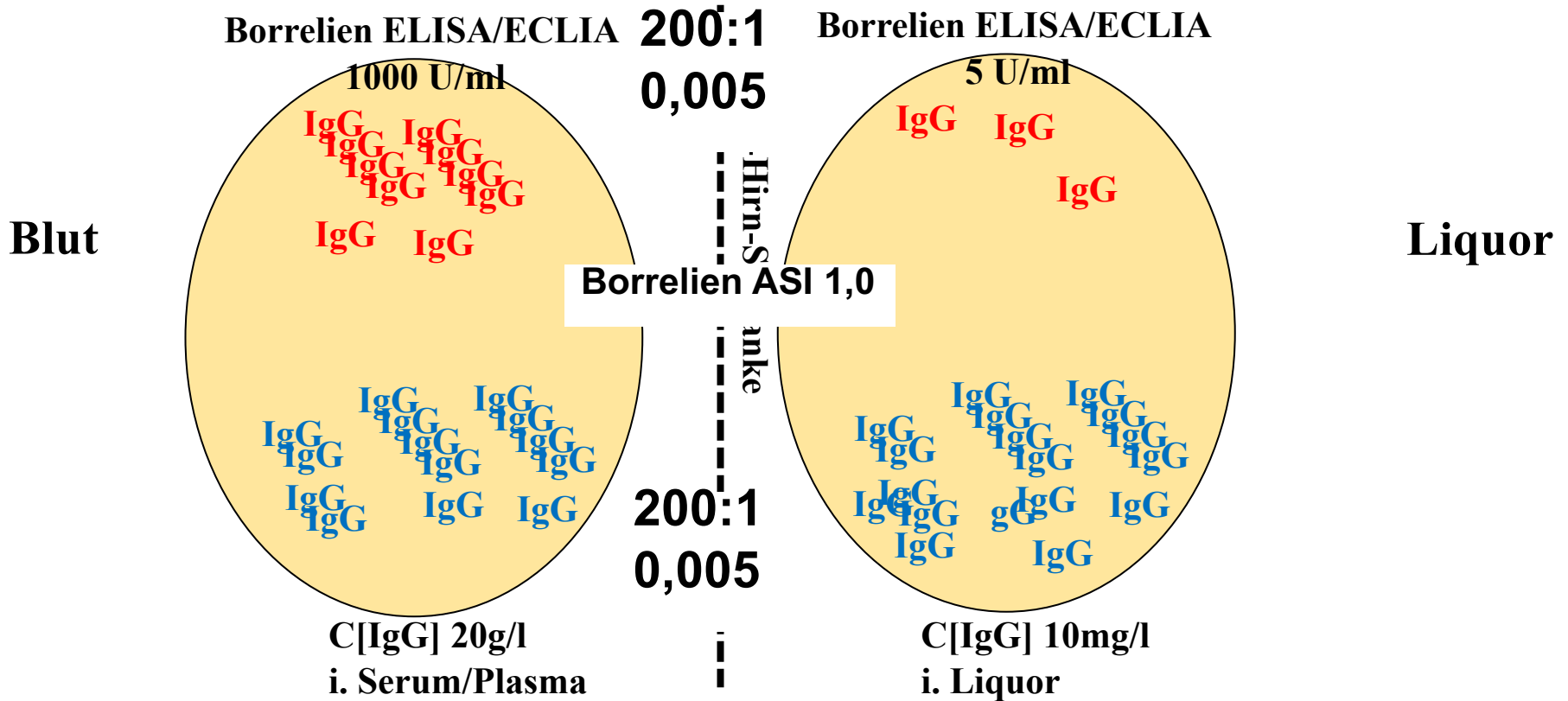


Isolierte oligoklonale Banden: Nachweis (oligo-)klonaler expandierter Plasmazellen im ZNS



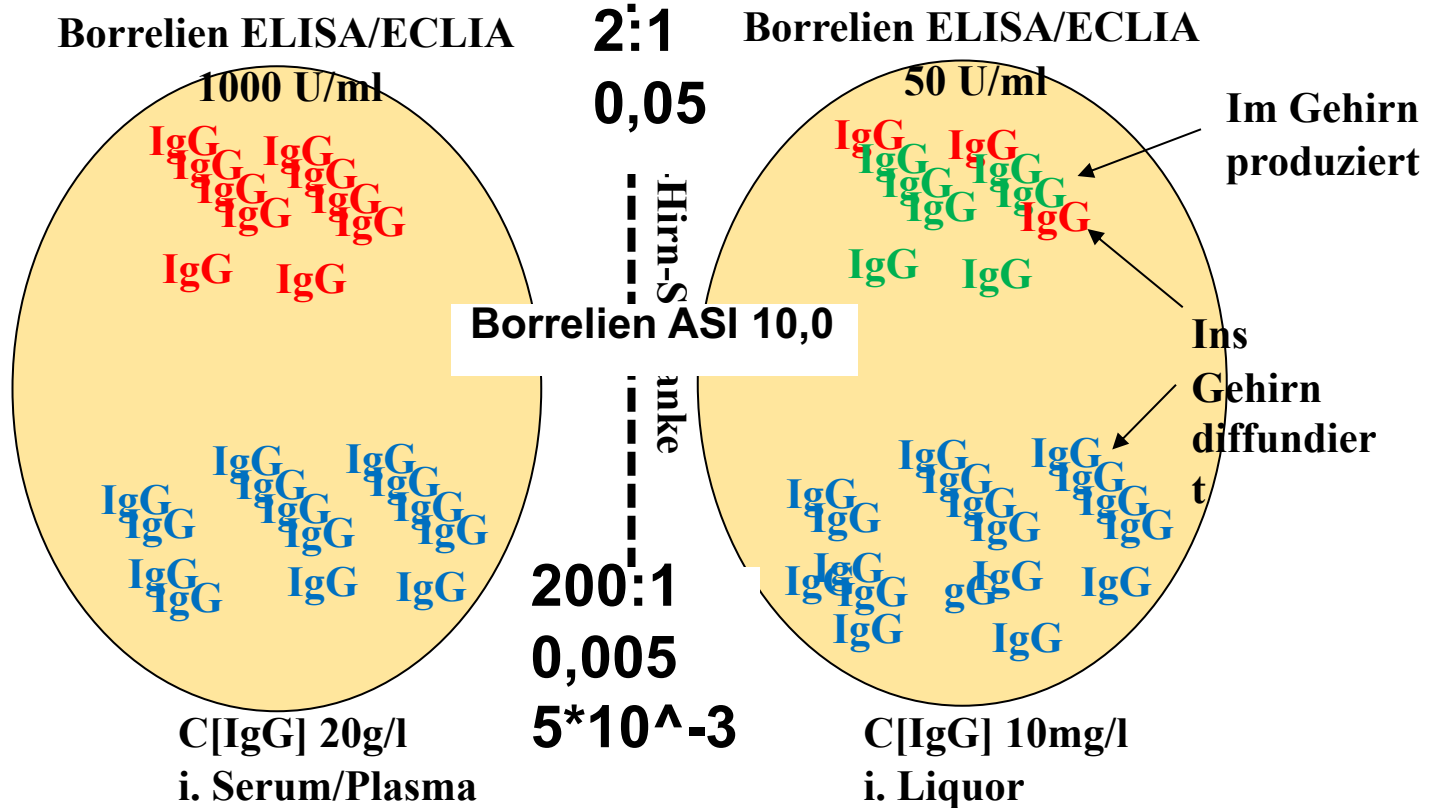
Antikörper-Index

- Maß für die Menge der im Gehirn produzierten Antigen-spezifischen Antikörper



Antikörper-Index

- Maß für die Menge der im Gehirn produzierten Antigen-spezifischen Antikörper



Antikörper-Index

- 0,7-1,5 ist normal
- Werte über 1,5 zeigen intrathekale Synthese an
- Z.b. HSV-Enzephalitis HSV-ASI >20

- MRZ (Masern/Röteln/Zoster) bei MS oft >1,5 (und <10)
- Neuroborreliose ASI diagnostisch wegweisend

Gliederung

- Liquor – Basics
- Immunglobuline im Liquor
- **Erregerdiagnostik im Liquor**
- Zytologie und FACS
- „Emerging“ Biomarker
- Typische Veränderungen bei glialer und neuronaler Autoimmunität
- Antikörperdiagnostik bei Autoimmunität im Kindesalter
- Liquordiagnostik „at the frontier“

Erregernachweis per PCR aus dem Liquor

Häufigste Enzephalitis Erreger HSV

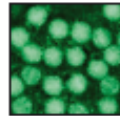
HSV-PCR: 96% Sens / 99% Spez. (Tebas et al. Am J Med 1998)

Multiplex-PCR häufig eingesetzt



Baoterla

Escherichia coli K1
Haemophilus influenzae
Listeria monocytogenes
Neisseria meningitidis
Streptococcus agalactiae
Streptococcus pneumoniae



Viruses

Cytomegalovirus (CMV)
Enterovirus
Herpes simplex virus 1 (HSV-1)
Herpes simplex virus 2 (HSV-2)
Human herpesvirus 6 (HHV-6)
Human parechovirus
Varicella zoster virus (VZV)



Fungl

Cryptococcus neoformans/gattii



Gliederung

- Liquor – Basics
- Immunglobuline im Liquor
- Erregerdiagnostik im Liquor
- **Zytologie und FACS**
- „Emerging“ Biomarker
- Typische Veränderungen bei glialer und neuronaler Autoimmunität
- Antikörperdiagnostik bei Autoimmunität im Kindesalter
- Liquordiagnostik „at the frontier“

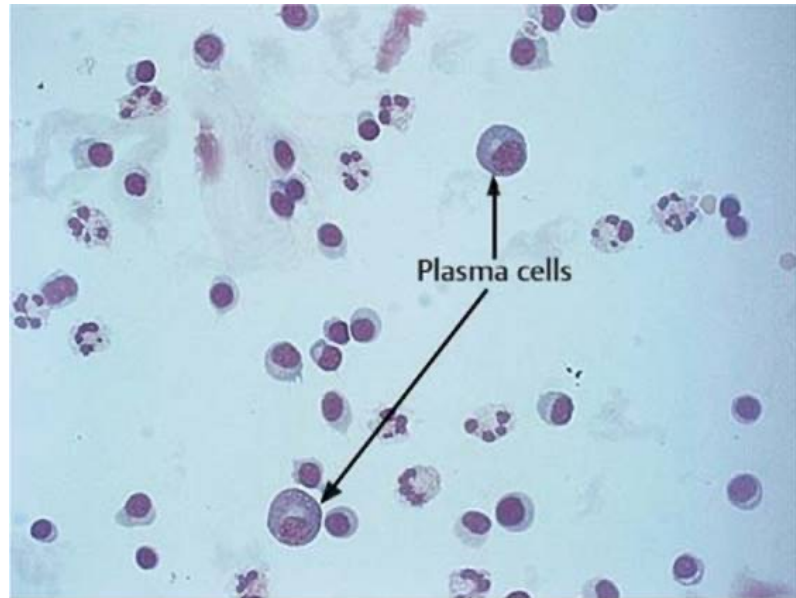
Stellenwert der Zytologie

- Insbesondere lymphozytär versus Neutrophil/gemischt
- Ausmaß an aktivierten Lymphozyten/Plasmazellen! Neuroborreliose und AE

Zytologie: Normaler Liquor

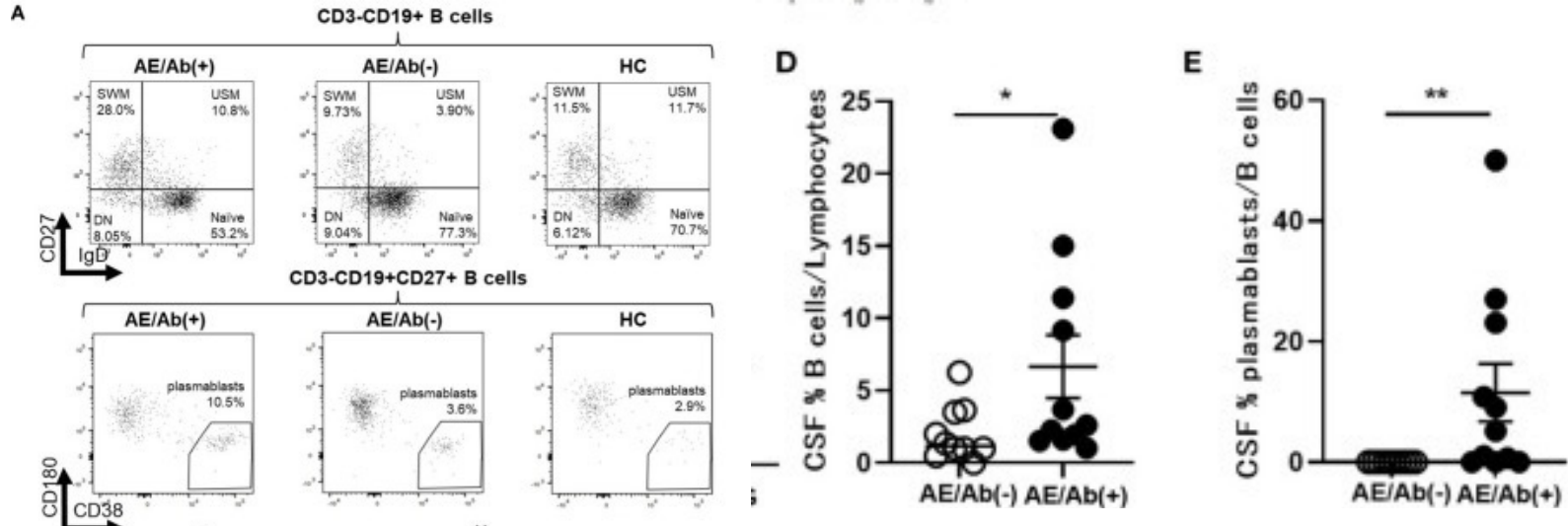


Lymphozyten 70%, Monozyten 30%



Stellenwert der Durchflusszytometrie

- “Erweiterte Zytologie“
- Prominente B-Zellen und Plasmablasten im Liquor

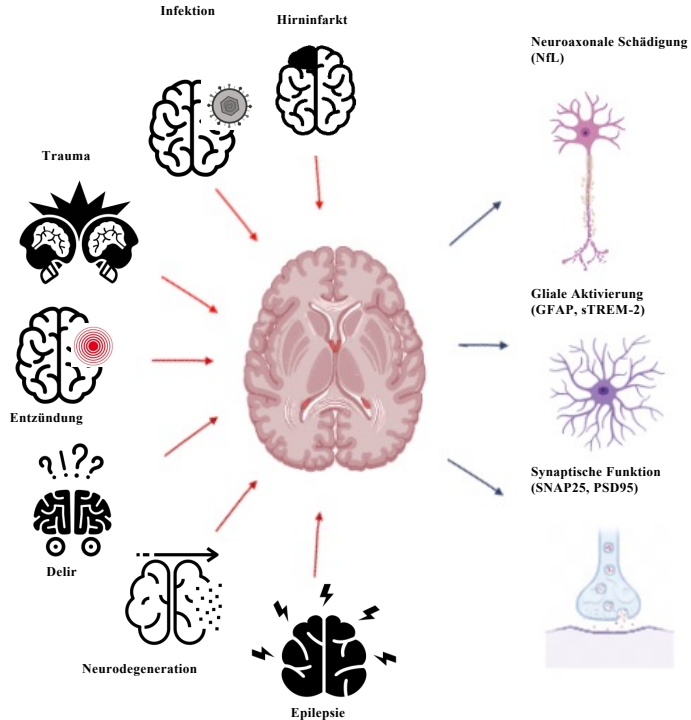


Gliederung

- Liquor – Basics
- Immunglobuline im Liquor
- Erregerdiagnostik im Liquor
- Zytologie und FACS
- **„Emerging“ Biomarker**
- Typische Veränderungen bei glialer und neuronaler Autoimmunität
- Antikörperdiagnostik bei Autoimmunität im Kindesalter
- Liquordiagnostik „at the frontier“

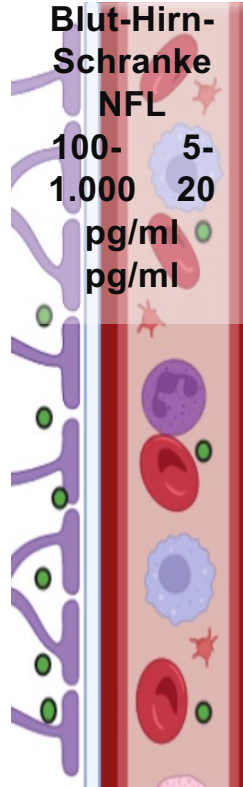
„Emerging Biomarkers“ bei entzündlichen Erkrankungen

Potential serumbasierter Biomarker



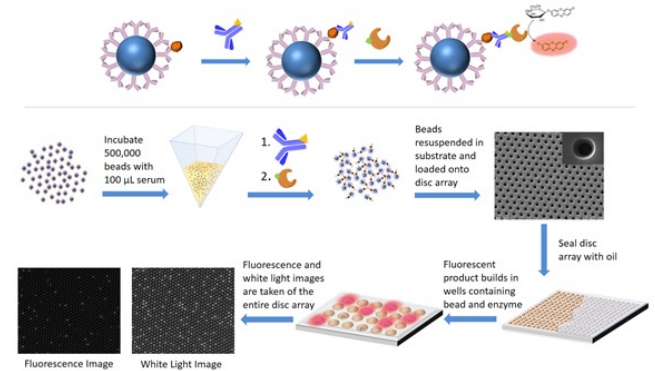
Blut-Hirn-Schranke

NFL
100- 5-
1.000 20
pg/ml pg/ml

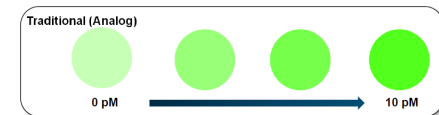


ELISA der neuen Generation

Digitale ELISA: Single Molecule Array (SiMoA)



vs. Konventionelle ELISA



„Emerging Biomarkers“ bei entzündlichen Erkrankungen

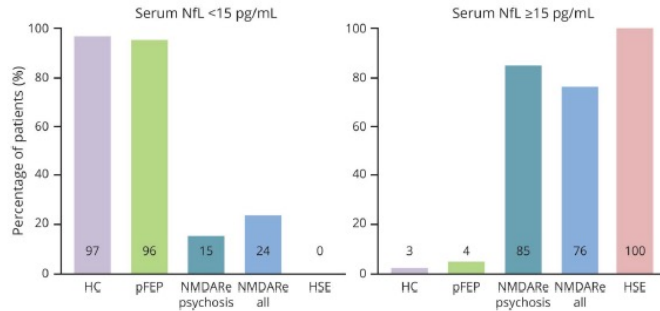
RESEARCH ARTICLE

Neurofilament Light Chain Levels in Anti-NMDAR Encephalitis and Primary Psychiatric Psychosis

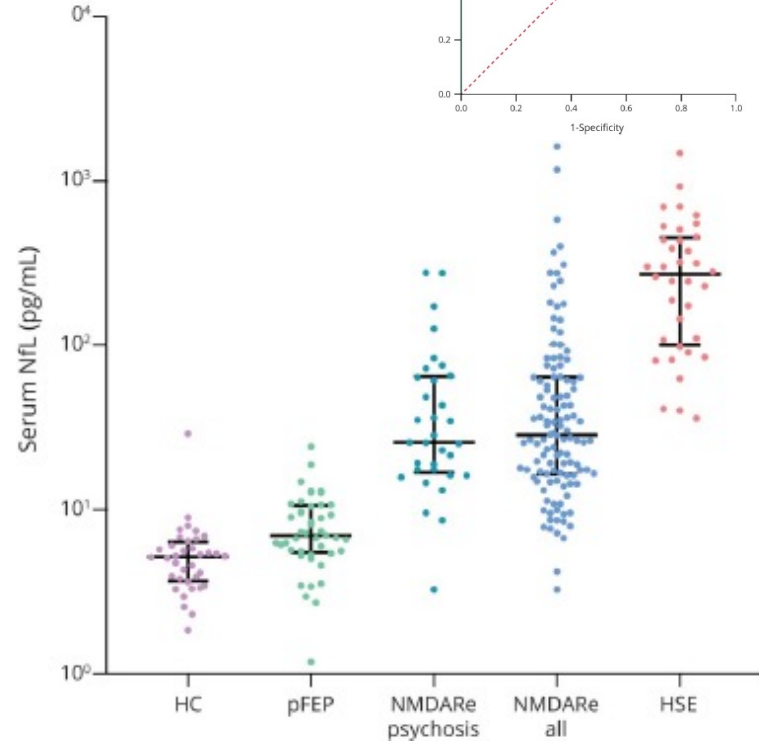
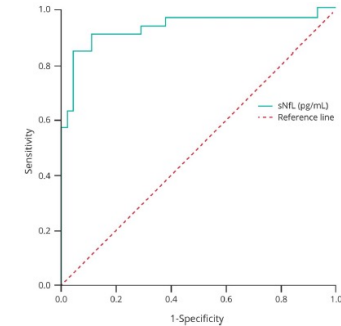
Mar Guasp, MD,* Lorena Martín-Aguilar, MD, PhD,* Lidia Sabater, PhD, Miquel Bioque, MD, PhD, Thaïs Armangué, MD, PhD, Eugenia Martínez-Hernández, MD, PhD, Jon Landa, MSc, Estibaliz Maudes, MSc, Roger Borràs, MSc, Amaia Muñoz-Lopetegui, MD, Albert Saiz, MD, PhD, Josefina Castro-Fornieles, MD, PhD, Francesc Graus, MD, PhD, Eduard Parellada, MD, PhD, Luis Querol, MD, PhD,[†] and Josep Dalmau, MD, PhD[†]

Correspondence
Dr. Dalmau
jdalmau@clinic.cat

Neurology® 2022;98:e1489-e1498. doi:10.1212/WNL.00000000000020021



Serum NFL 15pg/ml
Sensitivität 85%, Spezifität 96%, PPR 19

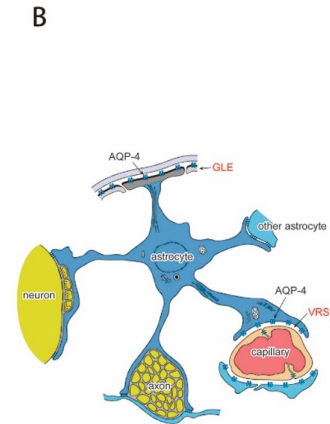
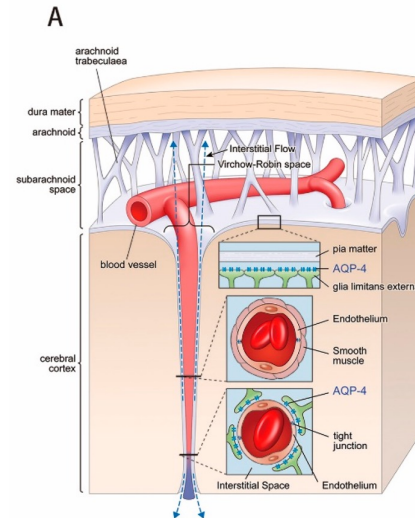


Gliederung

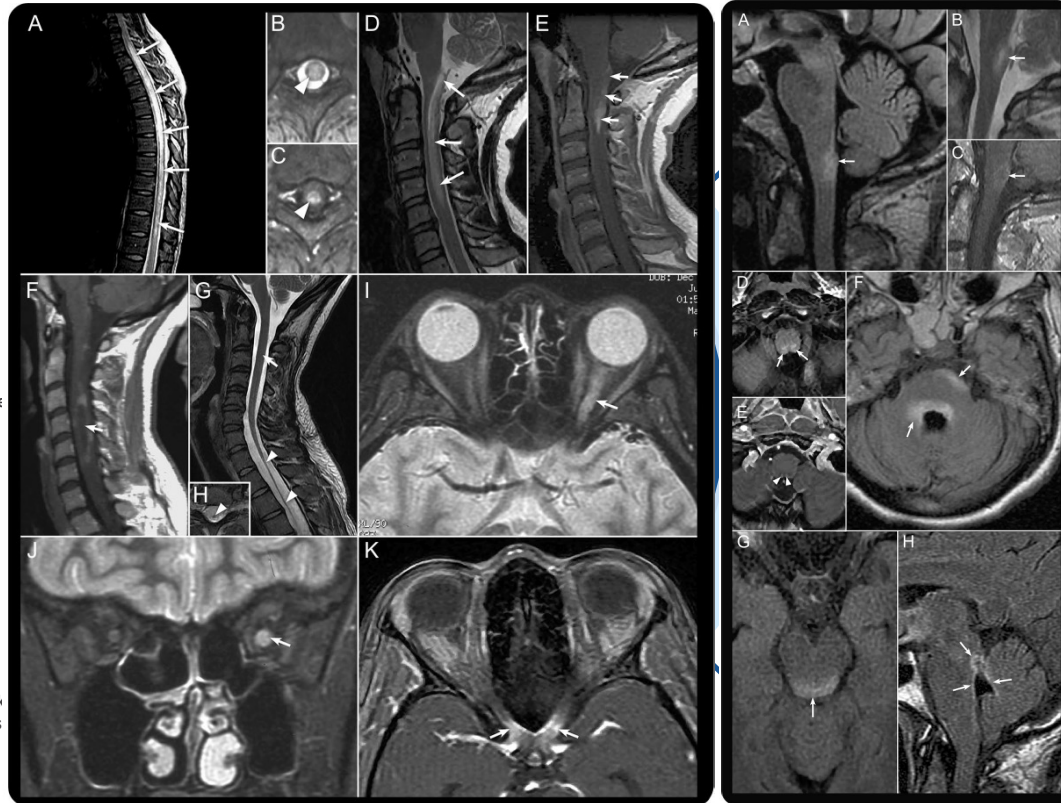
- Liquor – Basics
- Immunglobuline im Liquor
- Erregerdiagnostik im Liquor
- Zytologie und FACS
- „Emerging“ Biomarker
- **Typische Veränderungen bei glialer und neuronaler Autoimmunität**
- Antikörperdiagnostik bei Autoimmunität im Kindesalter
- Liquordiagnostik „at the frontier“

AQP4-Spektrums-Erkrankungen

- Sehr selten im Kindesalter
- Demyelinisierende Erkrankung des ZNS mit Prädeliktionsstellen
- Phänotypische, pathologische und therapeutische Unterschiede zu MS und AQP4-SD
- Definiert durch Klinik und Serum AQP4-AK als Biomarker
- Endstrecke maßgeblich Komplementvermittelt
- Destruierende Läsionen/Immunologischer Notfall
- Starke Rezidivneigung



AQP4-Spektrums-Erkrankungen



Symptomatische cerebrale

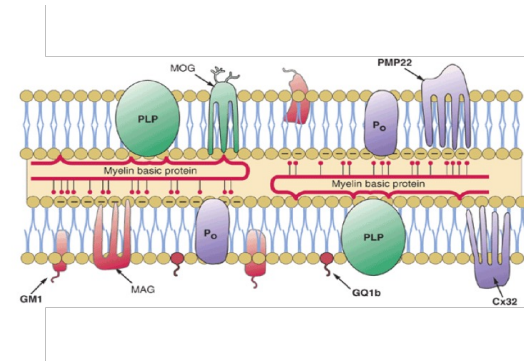
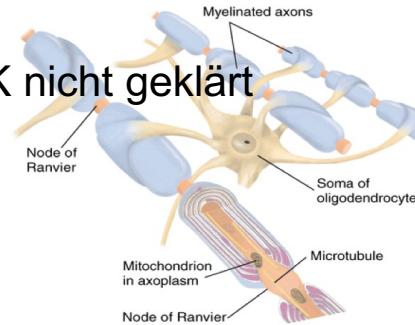


Symptomatische Nark
diencephales



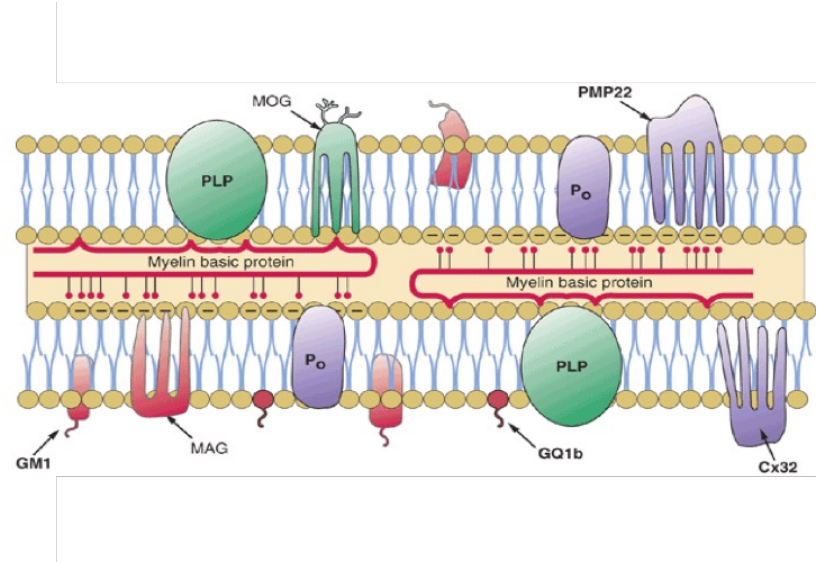
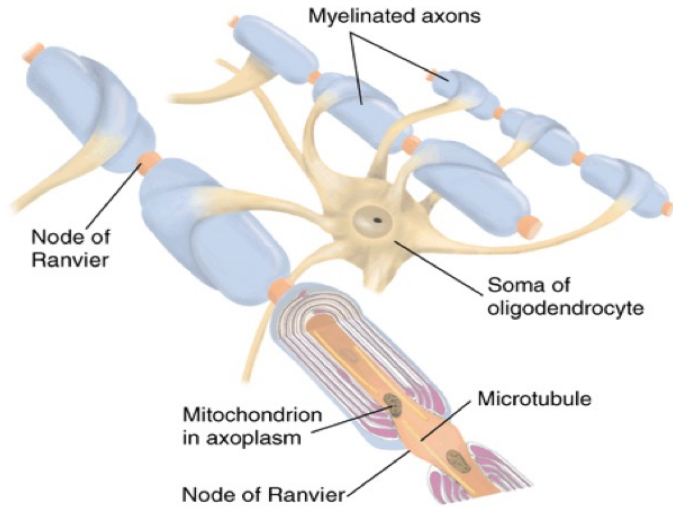
MOG-Spektrums-Erkrankungen

- MOGAD
- Demyelinisierende Erkrankung des ZNS
- Phänotypische, pathologische und therapeutische Unterschiede zu MS und AQP4-SD
- Definiert durch Klinik und MOG-AK als Biomarker
- Prävalenz Alters- und Syndromabhängig (ADEM 40%)
- Spezifische Aspekte bzgl. Testung
- Pathophysiologische Rolle der MOG-AK nicht geklärt



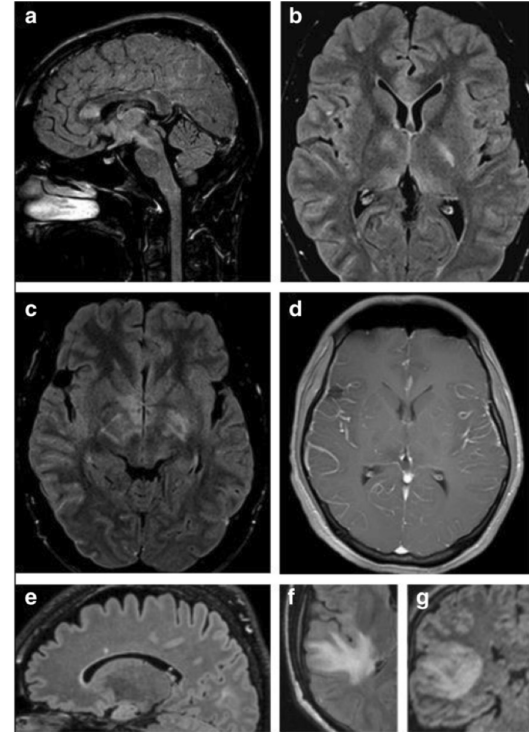
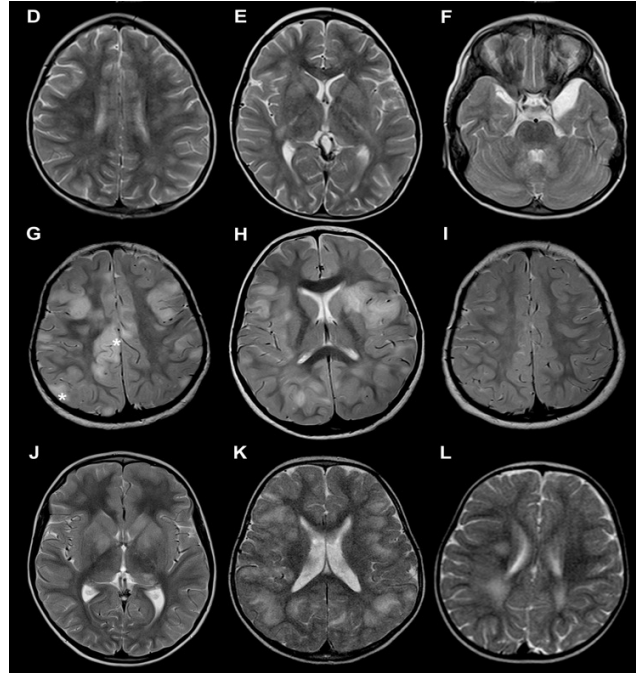
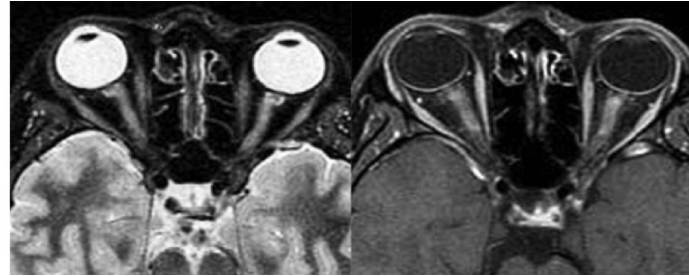
MOGAD: Kinder immer testen, MOG-AK Testbesonderheiten beachten!

MOG-Spektrums-Erkrankungen



MOGAD: Frühmanifeste, teils rezidivierende, AK-assoziierte Oligodendropathie

MOG-Spektrums-Erkrankungen



Red Flags: Bilaterale ON, „wolkige Läsionen“, thalamisch, Conus

MOGAD Varianten – Meningitis und Enzephalitis

Journal of Neuroimmunology 358 (2021) 577653



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Neuroimmunology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jneuroim



Review Article

Aseptic meningitis and leptomeningeal enhancement associated with anti-MOG antibodies: A review

Grace Y. Gombolay^{a,*}, Judith A. Gadde^{b,c}

^a Emory University, Children's Healthcare of Atlanta: Pediatrics Institute, United States of America

^b Emory University School of Medicine, Department of Radiology and Imaging Sciences & Pediatrics, United States of America

^c Ann & Robert H. Lurie Children's Hospital of Chicago, Northwestern University Feinberg School of Medicine, United States of America



ARTICLE OPEN ACCESS

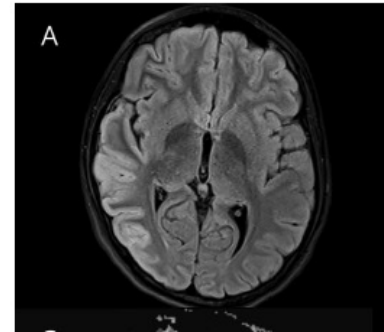
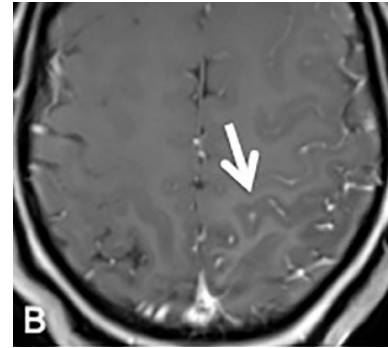
Clinical and imaging features of children with autoimmune encephalitis and MOG antibodies

Andreas Wegener-Panzer, MD, Robert Cleaveland, MD, Eva-Maria Wendel, MD, Matthias Baumann, MD, Annikki Bertolini, MD, Martin Häusler, MD, Ellen Knierim, MD, Edith Reiter-Fink, MD, Markus Breu, MD, Özcan Sönmez, MD, Adela Della Marina, MD, Renate Peters, MD, Christian Lechner, MD, Martin Piepkorn, MD, Claudia Roll, MD, Romana Höftberger, MD, Frank Leyboldt, MD, Markus Reindl, PhD, and Kevin Rostásy, MD

Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm 2020;7:e731. doi:10.1012/NXI.0000000000000731

Correspondence

Dr. Rostásy
k.rostasy@kinderklinik-datten.de



MOGAD: Breites Spektrum: ADEM, fokale Enzephalitis, Enzephalitis, Meningitis

GFAP-Spektrums-Erkrankungen

- Heterogene Klinik: Meningo-Optico-Papillo-Enzephalo-Myelo-Radikulitis
- Subakuter Verlauf, relapsierend, monophasisch und progredient
- Ältere Erwachsene, selten Kinder
- Tumoren (verschiedene, z.b. Teratome)
- Koexistente AK (z.b. NMDA)
- Testbesonderheiten: Liquor spezifischer, Bestätigungstest

Fang et al. JAMA Neurol 2016 Flanagan et al. Ann Neurol 2017



Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and anti-GFAP autoantibody in canine necrotising meningoencephalitis. 2007 Aug 25;161(8):261-4.

GFAP: Kein einheitliches Syndrom, MRT oder Verlauf

Liquorveränderungen im Vergleich

	AQP4	MOG	GFAP	MS
Zellzahl	++	+	++ bis +++	0 - +
Zytologie	Neutrophil /gemischt	lymphozytär	Neutrophil oder lymphozytär	lymphozytär
OKB	selten	gelegentlich	selten	95%
MRZ- Reaktion	Sehr selten	selten	selten	>70%
Glukose Laktat	normal	normal	Glukoseverba uch nicht ungewöhnlich	normal

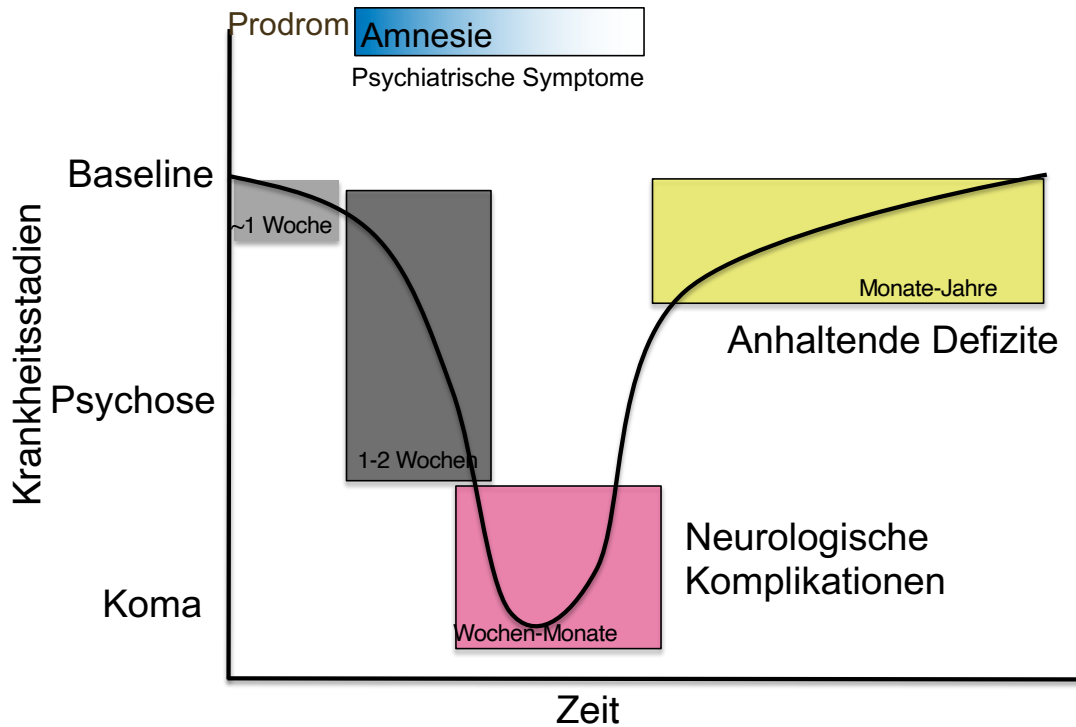
Autoimmune Enzephalitis

- Gruppe seltener Erkrankungen, kumulativ um 0.5/100.000/Jahr
- Kinder, Jugendliche, Erwachsene
- Hohe Morbidität, hohe sozioökonomische Kosten
- Heterogene Gruppe aber homogene antikörperdefinierte Untergruppen (~20)
- Gemeinsamkeit: Autoimmunität gegen Neurone
- Verschiedene Pathomechanismen: Antikörper vs. T-Zellvermittelt
- Verschiedene Triggerfaktoren: Tumore, Virusenzephalitis, weitere
- Teils genetische Prädisposition
- Therapie bisher empirisch, bei früher Behandlung oft gute Prognose

- Kindesalter: **NMDAR**, **MOG**, selten CASPR2, andere

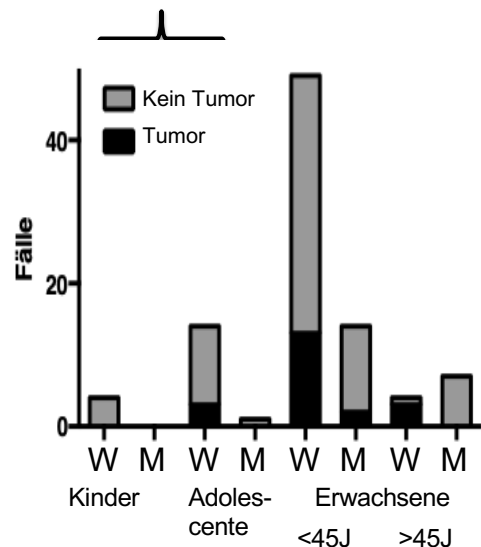
Anti-NMDAR Enzephalitis

Kinder, junge Erwachsene F>M



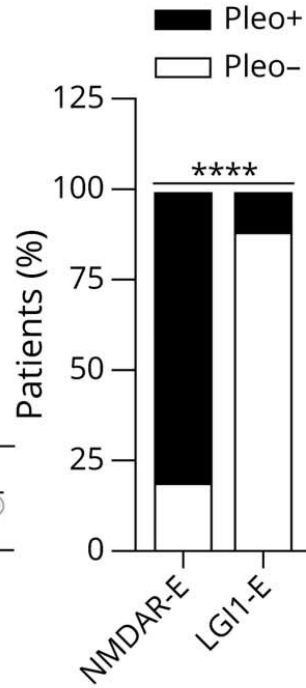
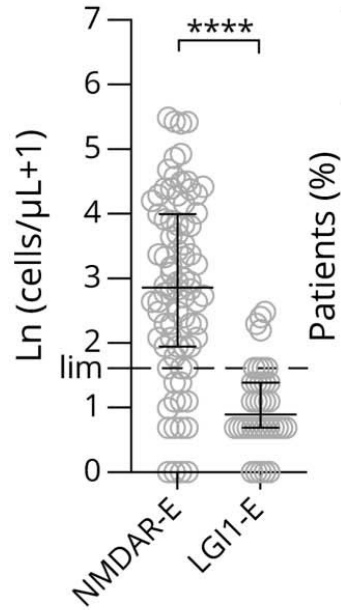
MRT unauffällig
EEG auffällig

25% Tumore, 100% Teratome

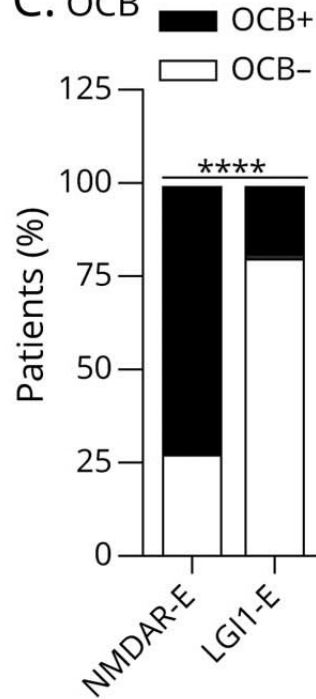


Anti-NMDAR Enzephalitis

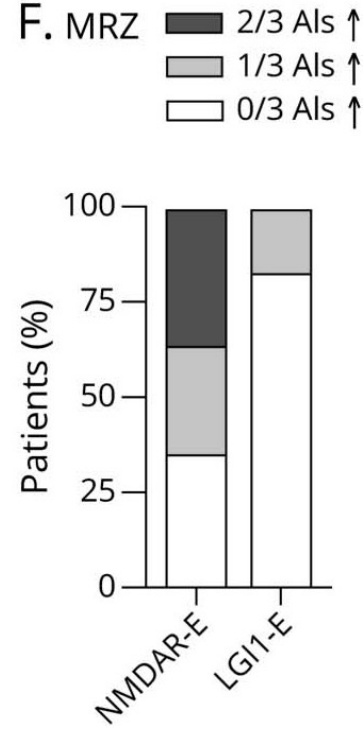
A. CSF cell count



C. OCB



F. MRZ



Post HSV Autoimmune Enzephalitis

- 25% autoimmune Rückfälle
 - 100% Liquor, 58% Serum
- 65% NMDAR, 35% andere
- 2 Monate (Mittel 32 Tage)

- Nachweis von synaptischen AK in Woche 3 hinweisend auf autoimmune Rückfälle im Verlauf (64%, OR 11,5)
- Auch bei anderen Viren



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Journal of the Neurological Sciences

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jns

Autoimmune encephalitis after Japanese encephalitis in children: A prospective study

Benke Liu^{a,b,c,d,e,f}, Jie Liu^{a,b,c,d,e,f}, Hong Sun^{a,c,d,e,f}, Mingdan Xie^{a,c,d,e,f}, Chen Yang^{a,c,d,e,f}, Yanan Pan^{a,c,d,e,f}, Dishu Huang^{a,c,d,e,f}, Li Cheng^{b,c,d,e,f}, Hengsheng Chen^{b,c,d,e,f}, Jiannan Ma^{a,b,c,d,e,f,*}, Li Jiang^{a,b,c,d,e,f,**}

^a Department of Neurology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, China

^b Pediatric Research Institute, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, China

^c National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Chongqing, China

^d Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing, China

^e China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, China

^f Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing, China

Liquorveränderungen im Vergleich

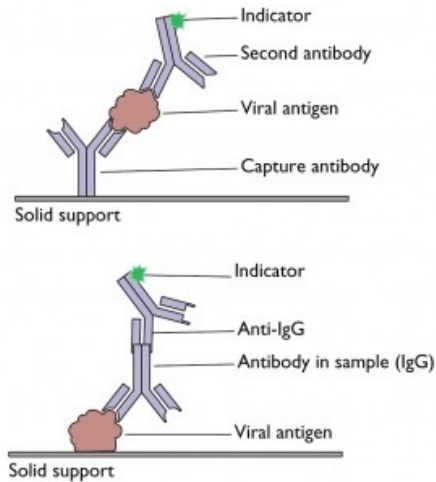
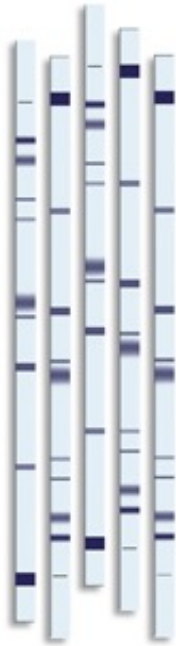
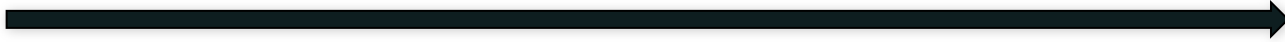
	NMDAR	Post-HSVE AE	HSVE
Zellzahl	+ - ++	+	++ - +++
Zytologie	lymphozytär	lymphozytär	lymphozytär
FACS	B-Zellen	B-Zellen	Wenig B-Zellen
OKB	50-75%	50%	selten
MRZ-Reaktion	Um 50%	selten	selten
Glukose/Laktat	normal	normal	normal
HSV-PCR	neg	neg	10^4 - 10^6 /ml

Gliederung

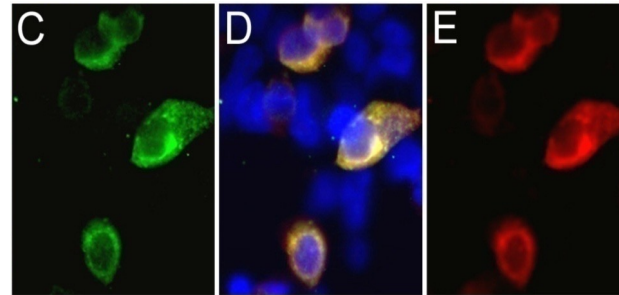
- Liquor – Basics
- Immunglobuline im Liquor
- Erregerdiagnostik im Liquor
- Zytologie und FACS
- „Emerging“ Biomarker
- Typische Veränderungen bei glialer und neuronaler Autoimmunität
- **Antikörperdiagnostik bei Autoimmunität im Kindesalter**
- Liquordiagnostik „at the frontier“

Antikörperdiagnostik – Testsysteme

Native Konformation



Peptid/Protein ELISA

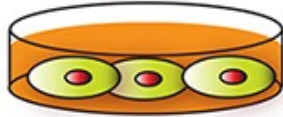


Zell-basierter Assay (CBA)

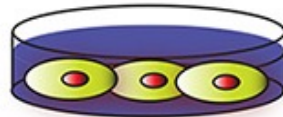
Immunoblot

Antikörper-Testung mit Zell-basierten Assays (CBA)

Zellkultur



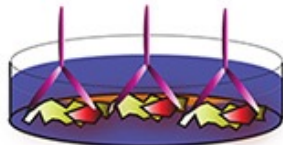
Transfektion



**Fixierung
Permeabilisierung**



Serum/Liquor

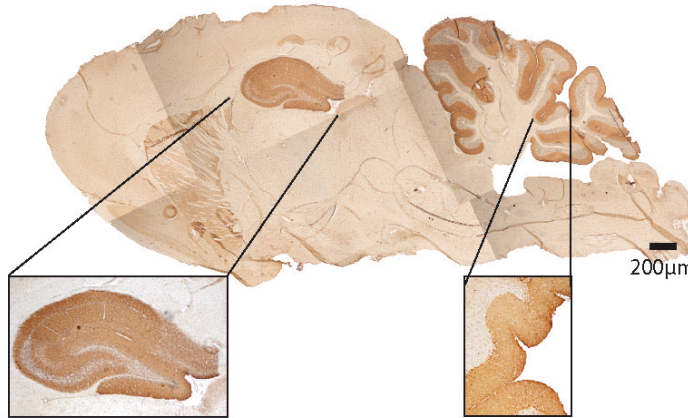


Detektionsantikörper Mikroskopie/FACS

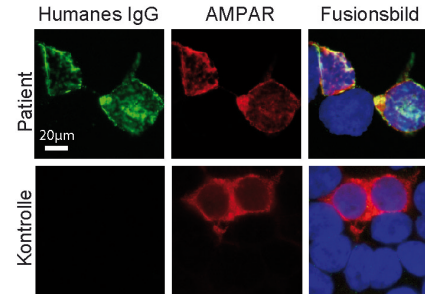


Erweiterte Antikörpertestung

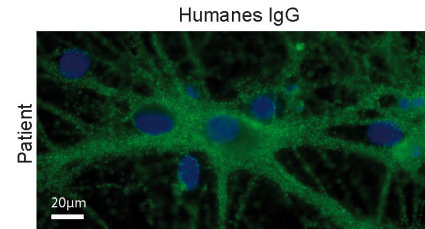
A Screening mit Gewebe-basiertem Test



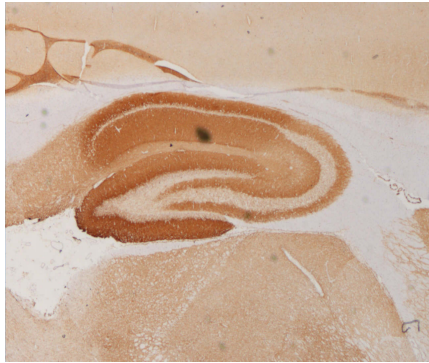
B Charakterisierung von Antikörpern gegen Oberflächenantigene mit Zell-basierten Testsystemen



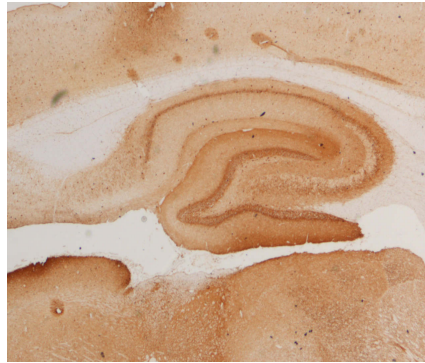
C Bestätigung neuer synaptischer Antikörper auf neuronalen Primärkulturen



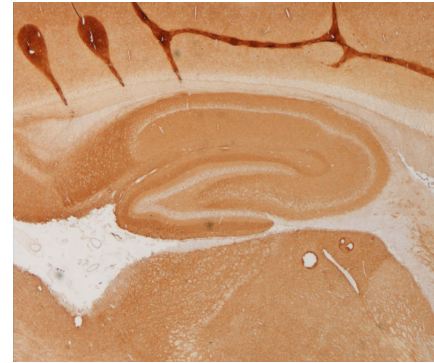
Antikörperdiagnostik – Gewebe-basierte Testung



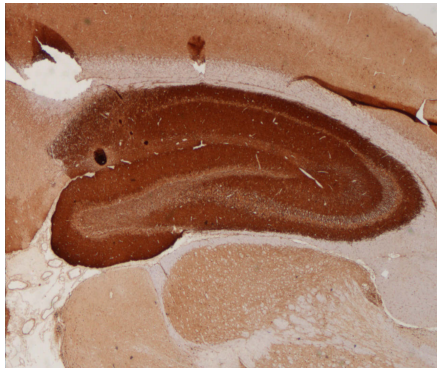
NMDAR



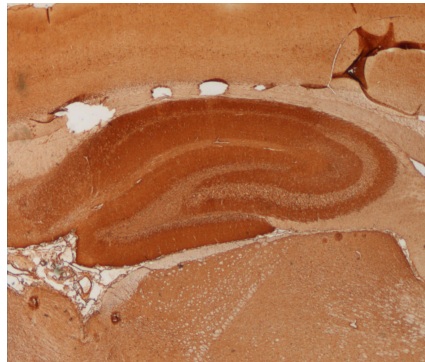
GAD



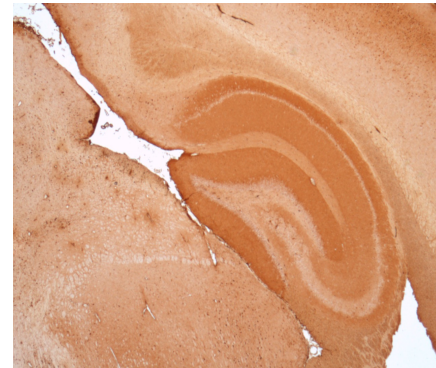
LGI1



AMPAR



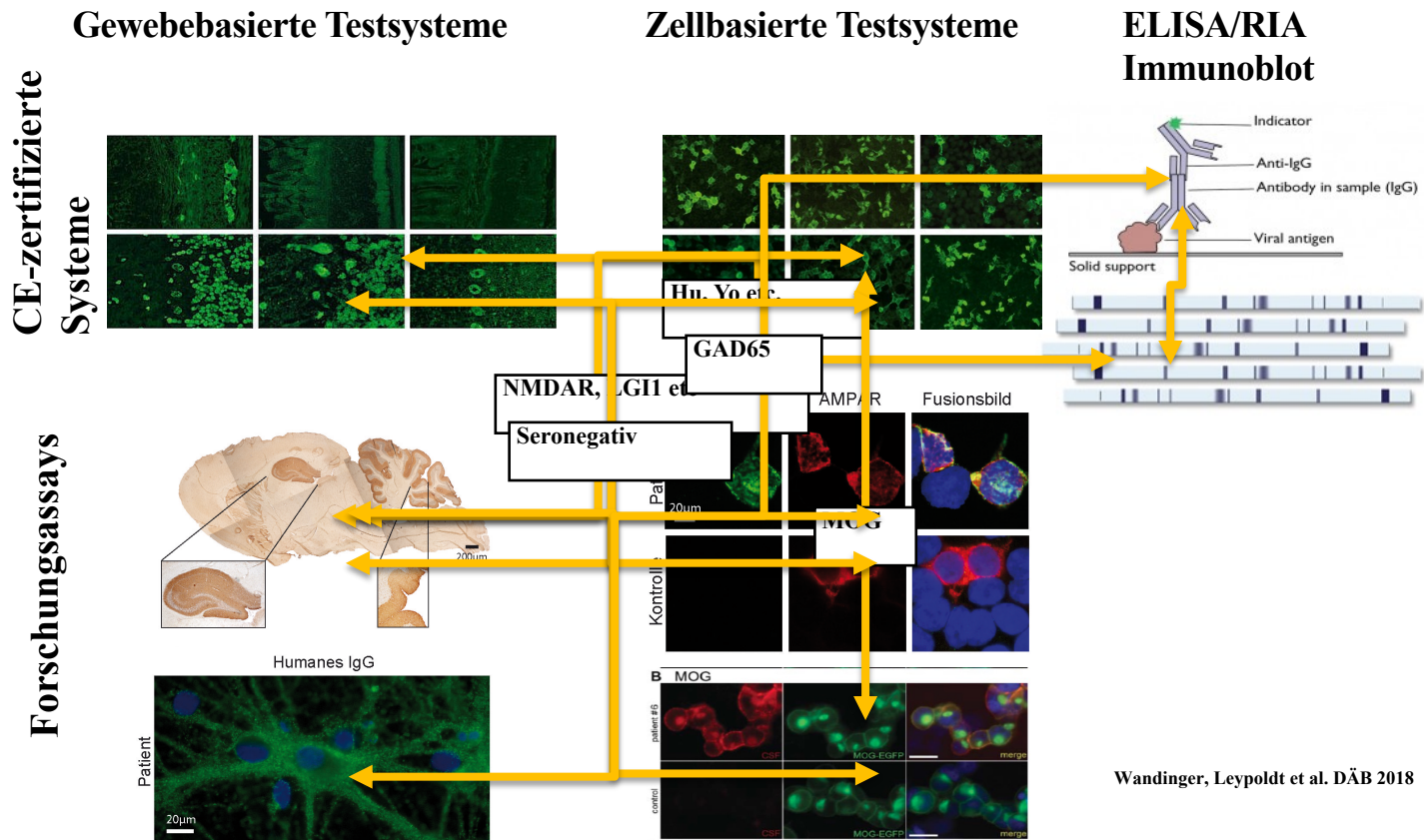
mGluR5



unbekannt

Diagnostik

- Wertung der AK nur im klinischen Kontext möglich!
- Liquorbefunde meist spezifisch (S+L)
- Relevanz/Spezifität eines Befundes nur in einem Testverfahren meist gering (z.B. nur Immunoblot Ma2)
- Niedrige Titer nur im Serum meist nicht relevant (Ausnahme LGI1)
- Diagnose Seronegativ nur bei umfassender Testung, wiederholt Dx hinterfragen

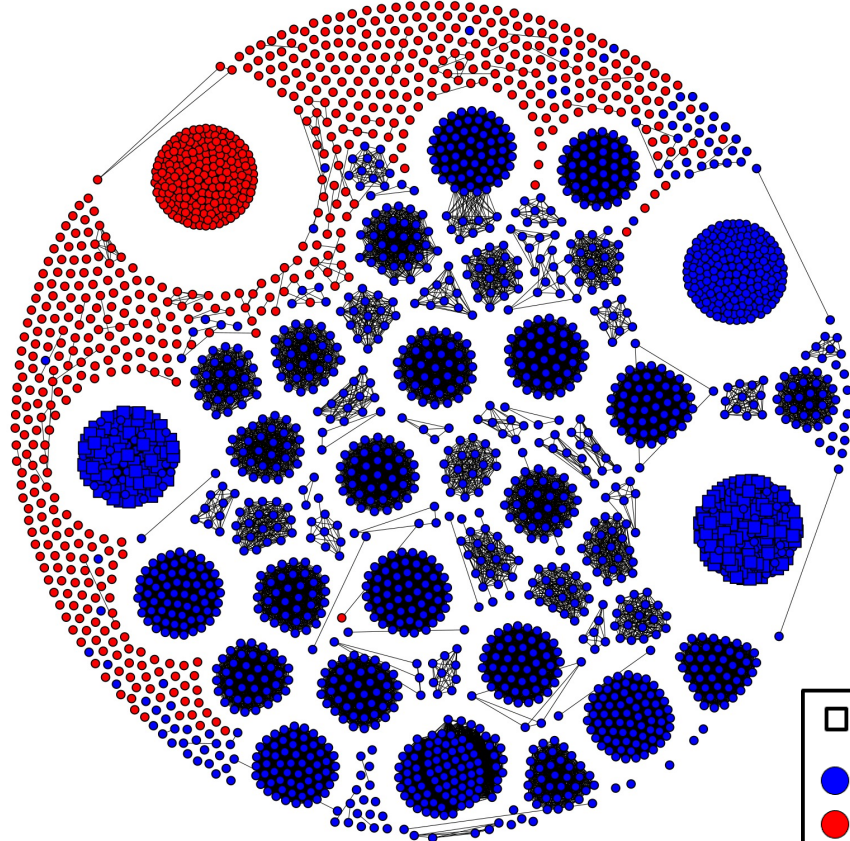
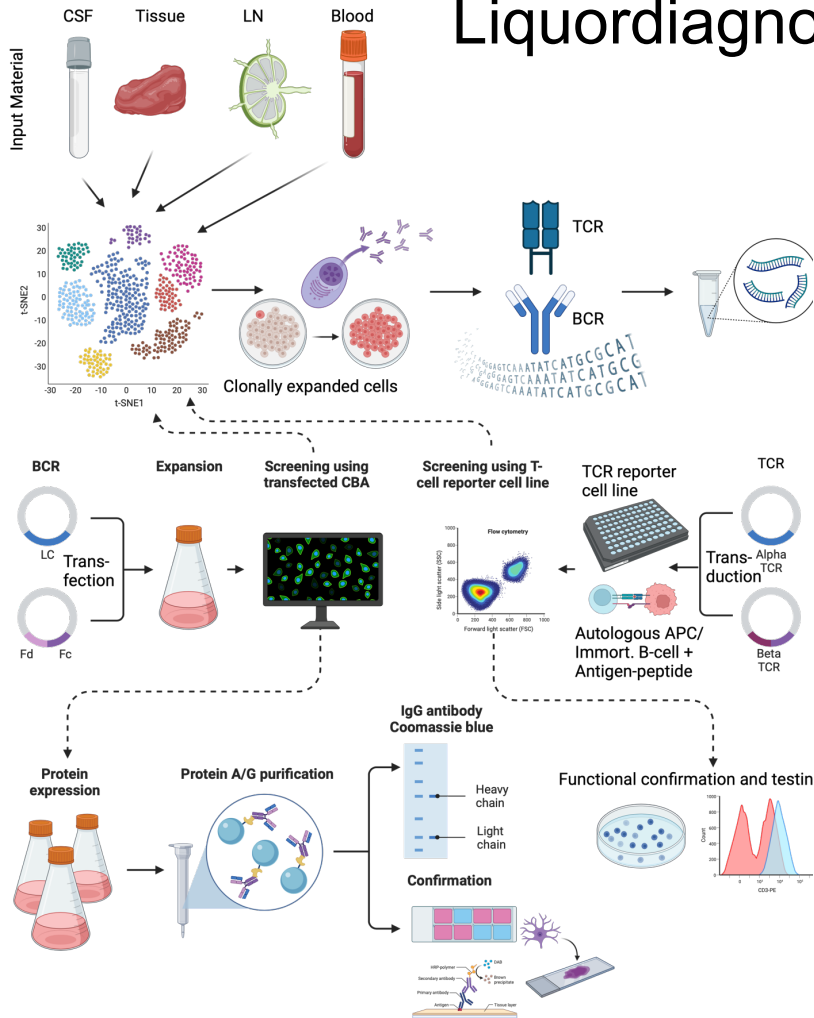


Gliederung

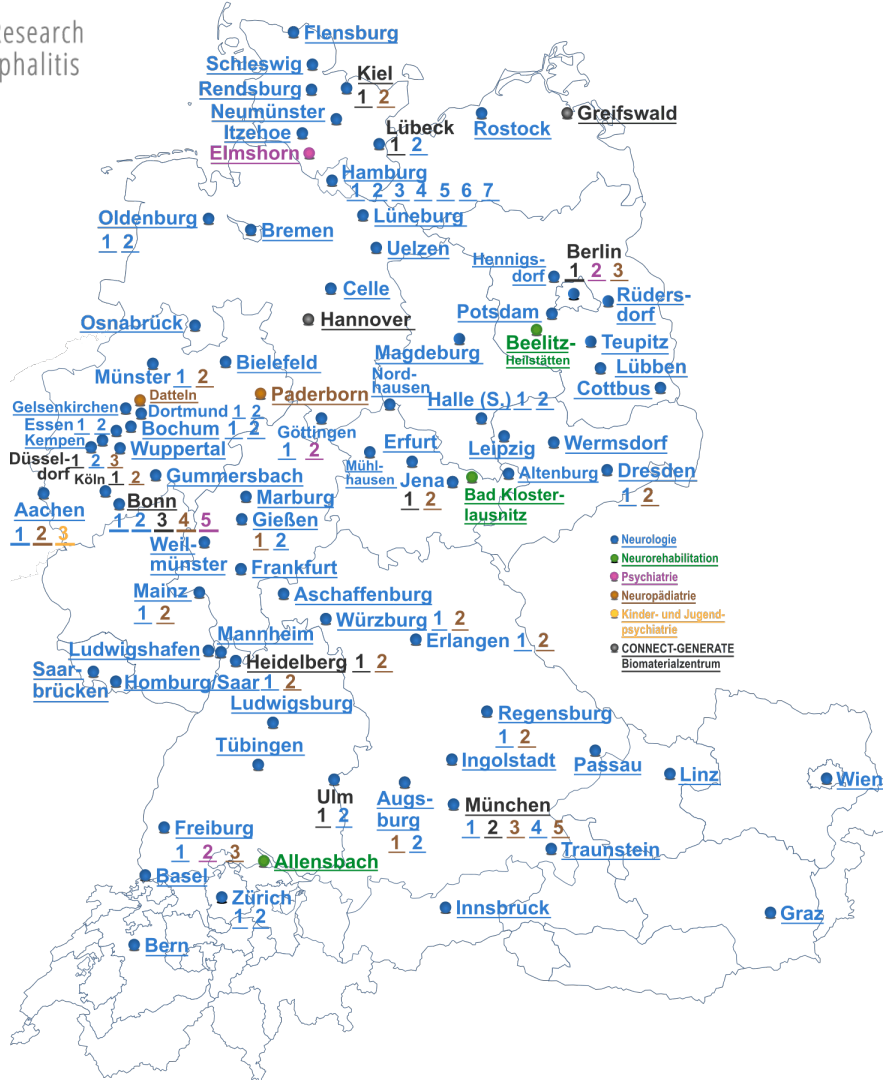
- Liquor – Basics
- Immunglobuline im Liquor
- Erregerdiagnostik im Liquor
- Zytologie und FACS
- „Emerging“ Biomarker
- Typische Veränderungen bei glialer und neuronaler Autoimmunität
- Antikörperdiagnostik bei Autoimmunität im Kindesalter
- **Liquordiagnostik „at the frontier“**

Liquordiagnostik "at the frontier"

CASPR2



- Aktuell
- >130 centers
- >60 recruiting centers
- >2000 patients
- GENERATE-Junior
- Kevin Rostasy



www.generate-net.de
info@generate-net.de

Vorstand
 Frank Leypoldt
 Nico Melzer
 Harald Prüss
 Christian Geis

Neuroimmunologie – Klinik und Diagnostik

UKSH Kiel/Lübeck

Klaus-Peter Wandinger
 Frank Leypoldt
 Klarissa Stürner
 Katja Hummel
 Robert Markewitz
 Justina Dargvainiene
 Insa Tautorat
 Johannes Plenge
 Johannes Piel
 Olga Zimmermann
 Daniela Esser
 Martina Jansen
 Sarah Kuckertz
 Ligia Abrante
 Ina-Isabelle Schmütz
 Ina Schröder
 Nele Kirsch
 Hannah Hülst
 Kim Falk
 Gunnar Nissen
 Annika Heinius
 Julia Kreipe
 Anna Peuser
 Fritz Krause
 Max Frömmer
 Franziska Moellers
 Robbin Lüddecke
 Solveigh Mostaf

Kooperationspartner
 UKSH

Immunologie:
 Alexander Scheffold
 Petra Bacher
 Carina Saggau

IKMB
 Andre Franke
 Elisa Rosati
 Sören Franzenburg

Neurogenetik
 Gregor Kuhlenbäumer
 Anja Tietz



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK



Christian-Albrechts-Universität zu Kiel



UNIVERSITÄTSKLINIKUM
 Schleswig-Holstein

GENERATE

German Network for Research
 on Autoimmune Encephalitis

Nationale und Internationale Kooperationspartner:

Josep Dalmau (BCN)
 Myrna Rosenfeld (BCN)
 Thais Armangue (BCN)
 Jerome Honnorat (Lyon)
 Roland Martin (Zürich)
 Sven Schippling (Zürich)
 Christian Geis (Jena)
 Harald Prüß (Berlin)
 Carsten Finke (Berlin)
 Kathrin Doppler (Würzburg)
 Ilya Aizenberg (Bochum)
 Thomas Grüter (Bochum)
 Tanja Kümpfel (München)
 Franziska Thaler (München)
 Nico Melzer (Münster)
 Gerd Meyer zur Hörste (Münster)
 Jan Lewerenz (Ulm)
 Romana Höftberger (Wien)
 Inga Konietzky (Wien)
 Maarten Titulaer (Rotterdam)

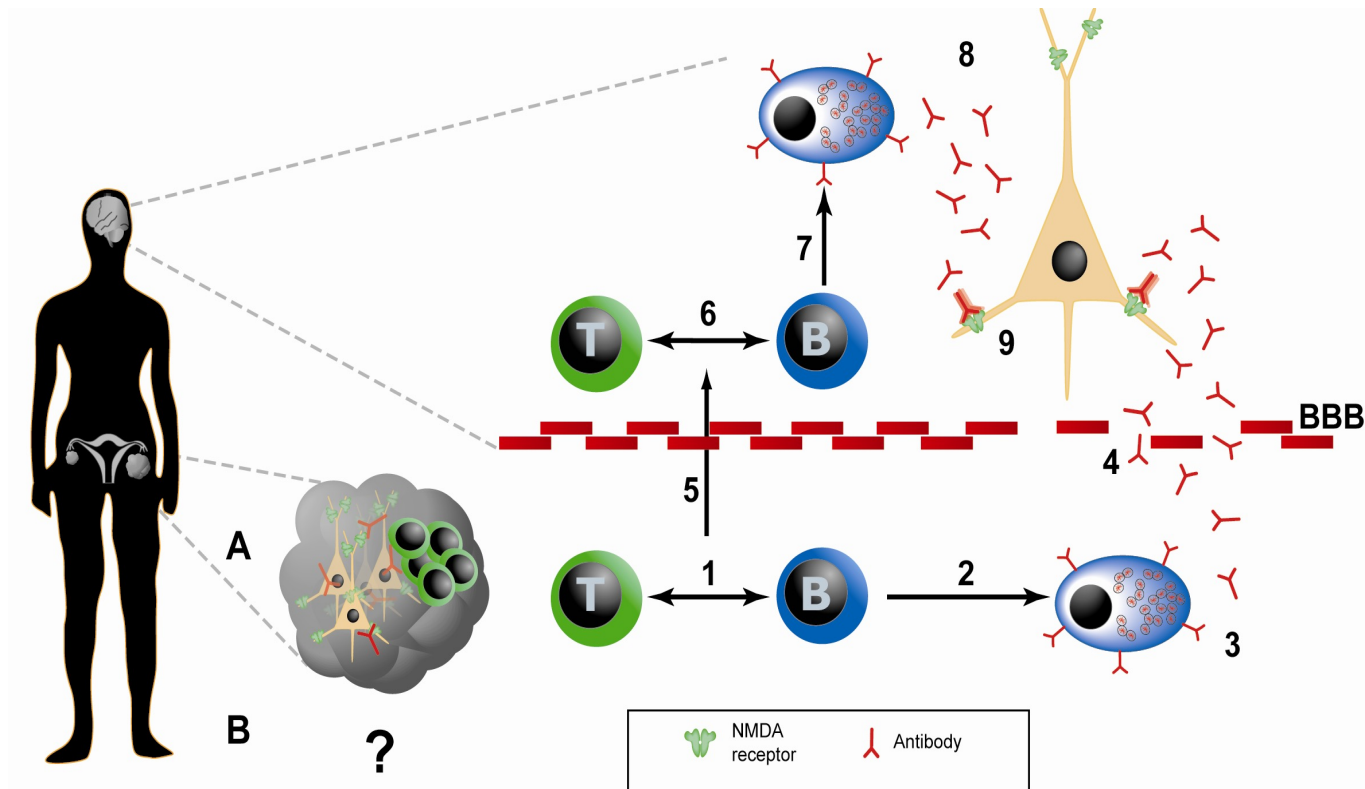


UltraAIE



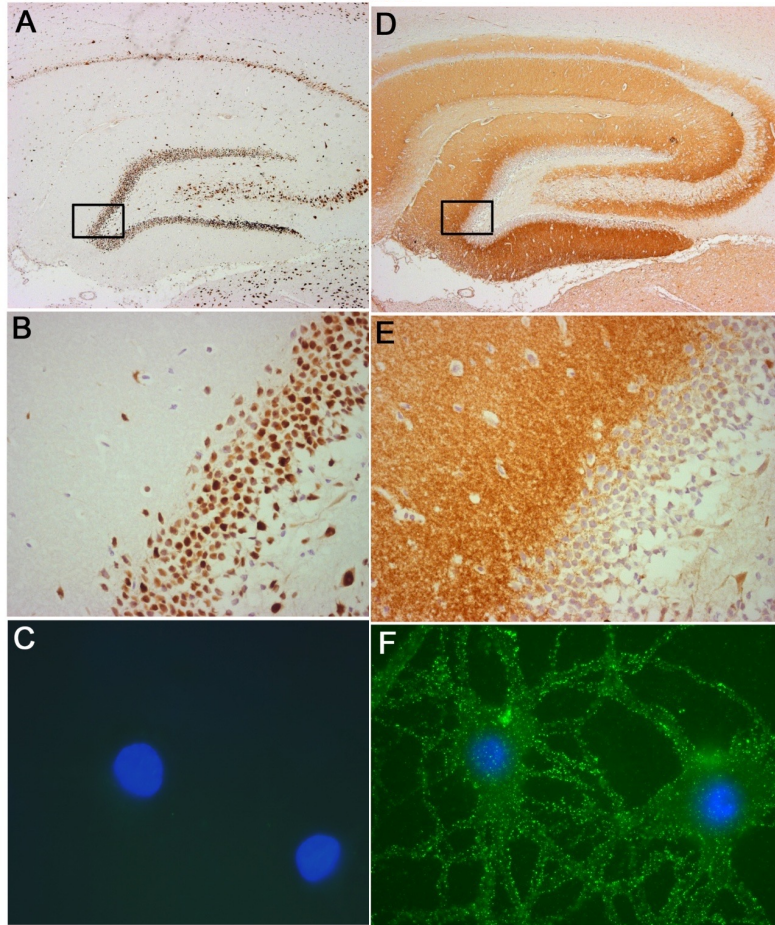
Bundesministerium
 für Bildung
 und Forschung

NMDAR Enzephalitis Pathomechanismus



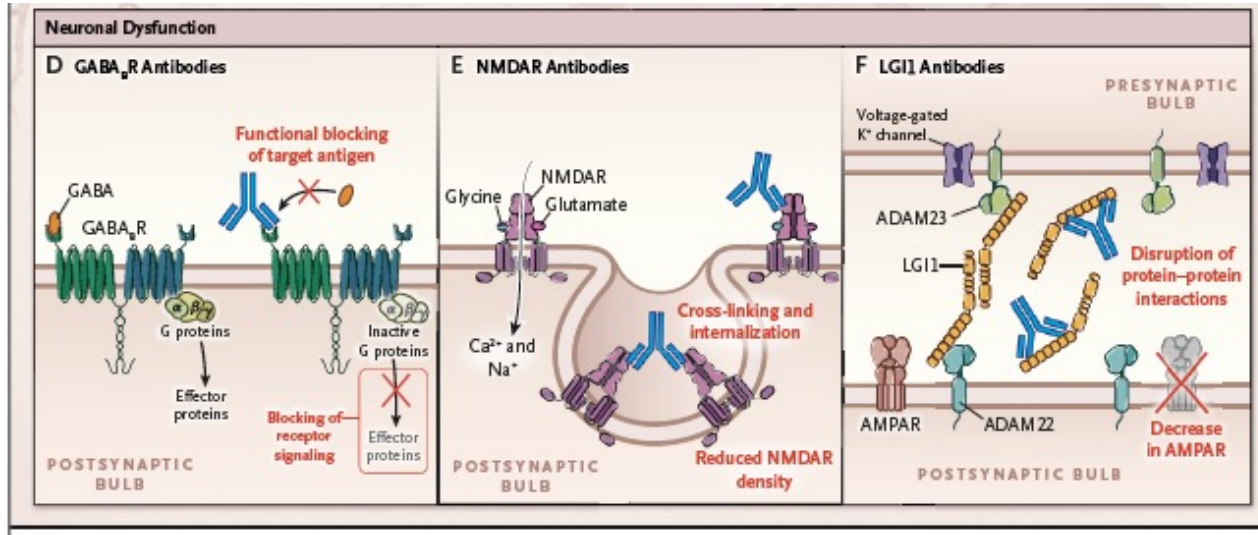
Intrazelluläre vs. Synaptische Antikörper

Hu-AK
CRMP5-AK
Amphiphysin-AK
...



Lgi1-AK, AMPAR-AK,
GABA(b)R-AK
...

Mechanismen der Signalstörung durch neuronale Oberflächen-Autoantikörper



Indikationen für eine Liquoruntersuchung

- Nachweis und Ausschluss (?) einer entzündlichen ZNS-Erkrankungen
- Nachweis von Tumorzellen
- Liquordruckmessung
- Blutungsnachweis
- Nachweis krankheitsspezifischer Marker im Liquor

Gesamteiweiß und Zellzahl

Zellzahl:

- x/3 Zellen obsolet
- Grenzwert 4/ μ l
- CAVE: artifizielle Blutbeimengung

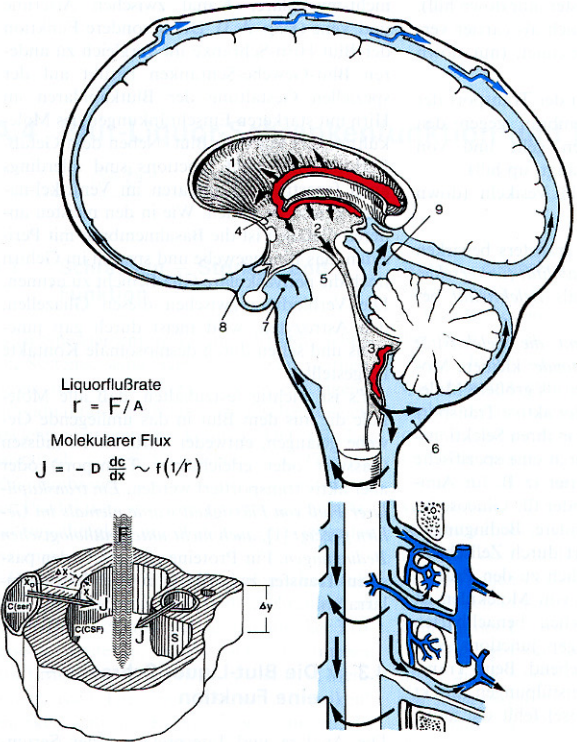
Gesamteiweiß:

- Grober Anhalt für Schrankenstörung

Laktat und Glukose:

- Maß für den Glukoseumsatz (Meningitis, Meningeosis)

Liquorproduktion



Ca. 500 ml/Tag

Mechanisms

