

Software für Liquordiagnostik und Statistik

Reiber H.

Übersetzung von Reiber H. Software for Cerebrospinal fluid diagnostics and statistics. Revista cubana de investigaciones Biomedicas 4/20

Zusammenfassung

Hintergrund: In der Liquoranalytik verfügen wir über wissensbasierte Software für die numerische und grafische Dateninterpretation, aber Softwareprogramme für die Statistik sind rar. Kostenlose, eigenständige Softwareprogramme, die alle Einzelfunktionen der Liquorproteinanalyse berechnen und die statistische Behandlung von Krankheitsgruppen numerisch und grafisch ermöglichen, werden für relevante Beispiele vorgestellt.

Der Nachweis einer intrathekalen Synthese bezieht sich auf die obere Grenze des Referenzbereichs, $Q_{lim} = Q_{mean} + 3SD$, aber die statistische Auswertung ihrer Häufigkeit bezieht sich auf $Q_{mean} + 2SD$. Bei der Quantifizierung der intrathekalen Synthese für die Statistik kann entweder die absolute Menge (IgGloc) oder der relative intrathekale Anteil (IgGIF) unter Bezugnahme auf die mittlere Referenzkurve Q_{mean} angegeben werden. Die kostenlose Software "CSF research Tool" für Immunglobuline ermöglicht diagnostische und statistische Auswertungen mit Reibergrammen sowie die Berechnung von Mittelwerten und Standardabweichungen von Krankheitsgruppen.

Die Software "FLC-K statistics" für freie Leichtketten Kappa bietet für Diagnostik und Statistik die numerische und grafische Interpretationsbasis für die statistische Verarbeitung in exportierten Excel-Tabellen. Eine kostenlose "CSF-App" für Smartphones bietet für die Diagnostik einzelner Patienten die Datenberechnung mit Beispielen krankheitsbezogener Datenmuster.

Ergebnisse: Patienten mit klinisch isoliertem Syndrom (CIS), die später als MS diagnostiziert wurden, zeigten keine immunologischen Unterschiede zu Patienten, bei denen ursprünglich MS diagnostiziert wurde (gleiche mittlere Menge an intrathekalen Synthese im CIS und MS nachweisbar für IgG und FLC-K). Die häufig behauptete diagnostisch höhere Sensitivität der FLCK-Analyse im Vergleich zu IgG lässt sich durch den bis zu 3-fach höheren mittleren intrathekalen Anteil von FLC-K erklären, was einer höheren Häufigkeit beim Nachweis der intrathekalen Synthese mit der FLCK-Analyse entspricht. Schlussfolgerung: Mit einer wissensbasierten Quantifizierung in der Liquoranalyse, unterstützt durch wissensbasierte Softwareprogramme, können wissenschaftlich und diagnostisch wichtige Ergebnisse erzielt und graphisch dokumentiert werden.

Einleitung

Die Bedeutung einer qualifizierten Liquordiagnostik ist bereits mehrfach für die Differentialdiagnose neurologischer Erkrankungen des einzelnen Patienten beschrieben worden (1-5). Zu diesem Zweck gibt es auch eine gute Laborsoftware, die Online- und Offline-Daten zu einem integrierten Befundbericht des Patienten zusammenführt (3,6-8). Die graphische Darstellung der Immunantwort in Quotientendiagrammen (Reibergramm) als Teil dieses Berichts (5) ermöglicht die schnelle Erkennung typischer Krankheitsbilder. Die theoretischen Grundlagen für die numerische und graphische Auswertung mit nichtlinearem Referenzbereich wurden ebenfalls ausführlich berichtet (9-12). Was seither jedoch kaum beschrieben wurde, ist die statistische Auswertung von Krankheitsgruppen auf dieser theoretisch fundierten Grundlage für die Liquoranalyse. Seit einiger Zeit gibt es jedoch freie Softwareprogramme (13), die kürzlich erweitert wurden. Ohne eine solche statistische Behandlung von Patientenkohorten stünde ein wichtiges Forschungsinstrument nicht zur Verfügung. Eine wissensbasierte Quantifizierung der intrathekalen Synthese kann hilfreich sein für den Vergleich der Immunantwort verschiedener Krankheitsgruppen mit Kontrollen, aber auch in klinischen Studien, in denen die Wirksamkeit therapeutischer Maßnahmen von Bedeutung ist. Zur Verbesserung der Diagnose kann es wichtig sein, die diagnostische Sensitivität durch die relativen intrathekalen Fraktionen verschiedener Parameter, wie IgG und freie Leichtketten, zu vergleichen (12). Als Anwendung in der Psychiatrie (14) war es hilfreich, eine entzündliche Ursache auszuschließen, z.B. bei Schizophrenie oder bipolaren Störungen (14).

Die immer noch häufig verwendete diagnostische Interpretationshilfe, der lineare IgG-Index (15), erlaubt es nicht, eine vertrauenswürdige Statistik zu erstellen, dies ist nur auf der Basis eines nichtlinearen, hyperbolischen Referenzbereichs möglich (10,12). Für die Auswertung mit nichtlinearem Referenzbereich werden in dieser Übersicht zwei freie Softwarepakete für Immunglobuline und für die freien Leichtketten Kappa beschrieben (16). Die Anwendung wird anhand von zwei aktuellen Problemen der Multiple-Sklerose-Forschung demonstriert: Die Diagnose der definitiven MS und des

klinisch isolierten Syndroms (CIS) (17) sowie die analytische Sensitivität der freien leichten Kette Kappa (FLC-K) mit der von IgG zum Nachweis einer intrathekalen Immunantwort (12). Die numerischen und graphischen Programme für die Statistik wurden kürzlich durch eine sogenannte Liquor-App, eine Interpretationssoftware für Smartphones, ergänzt (16).

Methoden

Statistik mit Liquordaten

Die intrathekale Synthese in Krankheitsgruppen kann mit zwei verschiedenen Methoden quantitativ charakterisiert und verglichen werden:

1. Die Anzahl der Patienten mit intrathekalen Synthese pro Gruppe

In Abb. 1 sind die Grenzen des Referenzbereichs für IgG in einem linearen Quotientendiagramm dargestellt. Für die Diagnose wird die obere Grenze Q_{lim} des Referenzbereichs mit $Q_{mean} + 3SD$ (s = Standardabweichung) verwendet. Für statistische Zwecke ist es jedoch ratsam, sich auf eine obere Grenze des Referenzbereichs mit $Q_{Mittelwert} + 2 SD$ zu beziehen. Der Referenzbereich mit dieser Obergrenze (gestrichelte Linie in Abb.1) deckt nur 96% der Kontrollen ab, führt aber zu einer höheren Empfindlichkeit. Ein Beispiel aus der softwaregestützten Berechnung für eine Gruppe von MS-Patienten (18) ist in Tabelle 1 dargestellt, um den Unterschied in Sensitivität und Spezifität zwischen den beiden Grenzwerten zu veranschaulichen. Die Maßeinheit ist entweder ein dimensionsloser Bruch in n/N oder in Prozent $n/N \times 100$ [%].

2. Die mittlere intrathekal synthetisierte Proteinmenge.

Für die statistisch verwertbare Quantifizierung der mittleren Menge ist der Mittelwert des

Referenzbereichs Q_{mean} heranzuziehen. Q_{mean} hat die Formel in (Gl.1). $Q_{mean} = a/b \sqrt{Q_{Alb}^2 + b^2} - c$. (Eq. 1)

Die Werte für a, b, c sind abhängig von der Molekülgröße mit Beispielen in Tabelle 2 (10-12). Die Interpretation der intrathekalen Menge kann sich entweder auf die absolute intrathekale Menge oder auf den relativen Anteil an der Gesamtkonzentration im Liquor beziehen.

Absolute synthetisierte Menge

Die Q_{mean} -bezogene lokale (intrathekale) Synthese als absolute Konzentration, z.B. IgG loc (Mittelwert) oder K_{loc} (Mittelwert) für die Freie Leichtkette Kappa, wird mit Gleichung (Eq 2) für jeden einzelnen Patienten berechnet und dann der statistische Mittelwert für das gesamte Kollektiv berechnet.

$$K_{loc}(\text{mean}) = [Q_{Kappa}(\text{total}) - Q_{Kappa}(\text{mean})] \times FLC\text{-}k_{\text{serum}} \quad [\text{mg/l}]. \quad (\text{Eq. 2})$$

Relative synthetisierte Menge

Für die diagnostische Sensitivität eines Parameters kann der relative Anteil seiner gesamten Liquorkonzentration (K_{CSF}), die intrathekale Fraktion, z.B. IgGIF oder KIF, berechnet mit Eq 3, von Interesse sein. Auch hier findet sich aus den berechneten Einzelwerten die statistische Mittelung im Kollektiv für IgGIF(Mittelwert) oder KIF(Mittelwert).

$$K_{IF}(\text{mean}) = K_{loc}/K_{CSF} \times 100 \text{ [%]} \quad \text{oder} \quad K_{IF} = (1 - Q_{mean}/Q_K) \times 100 \text{ [%]}. \quad (\text{Eq.3})$$

Software

Die Software "CSF research Tool/Reibergrams" (13,16) für Immunglobuline berechnet die IgG_{loc} - (Mittelwert) und IgG_{IF} - (Mittelwert) Werte für die aus Excel-Tabellen übertragenen Daten und bietet deren statistische Auswertung einer ausgewählten Gruppe mit Mittelwerten und

Variationskoeffizienten direkt an (Tabelle 3). Dies ist mit einer Reihe weiterer statistischer Auswertungen verbunden, wie z.B. der Häufigkeit einer Barrierestörung etc. Mit dieser Software werden die Daten auch in Reibungsprogrammen grafisch dargestellt (Abb. 2).

Die als Erweiterung vorgesehene Software "Statistik- und Grafikprogramm FLC-K" (16) für Freie Leichte Ketten Kappa berechnet für die aus Excel-Tabellen entnommenen Daten die K_{loc} - (Mittelwert) und K_{IF} - (Mittelwert) Werte. Nach dem Export in Excel-Tabellen können die Mittelwerte berechnet werden. Die grafischen Ergebnisse sind in Abb. 2 als Reibungsprogramm für FLCK dargestellt.

3 Die "CSF- App" (16) wurde für Android-basierte Smartphones entwickelt. Sie bietet die Berechnung von Albumin-, IgG-, IgA-, IgM- und FLC-K-Quotienten für einen vollständigen CSF-Datenbericht mit grafischen Ergebnissen in Reibergrammen (5). Die Berechnung des Antikörper-Index für die MRZ-Antikörper-Reaktion (19) wird ebenfalls zur Verfügung gestellt. Als Tutorial bietet dieses Programm Beispiele für die möglichen Dateninterpretationen und ein Archiv der Immunglobulinmuster von 15 verschiedenen neurologischen Erkrankungen mit Kommentaren zur Differentialdiagnose.

Patienten

Die Patientendaten und die Diagnose stammen aus dem Labor von Zeman D. und Kušnierová P., wie sie in ihren früheren Publikationen beschrieben wurden (Ref in (12)). Die Diagnose Multiple Sklerose wurde nach den aktuellen modifizierten Mc-Donald-Kriterien gestellt (20).

Ergebnisse

Multiple Sklerose und klinisch isoliertes Syndrom.

Patienten mit klinisch begründetem Verdacht auf Multiple Sklerose, die die Mc-Donald-Kriterien (20) nicht erfüllen, werden als klinisch isoliertes Syndrom (CIS) diagnostiziert (17). Für verschiedene Autoren ist der Unterschied zwischen CIS und Multipler Sklerose (MS) mit der Idee einer immunologischen Konversion assoziiert (21). Dies kann durch Quantifizierung der intrathekalen Immunantwort in beiden Gruppen untersucht werden. Neben dem Nachweis von intrathekalem IgG wird zunehmend die sensitivere FLC-K-Analyse im Liquor eingesetzt (12,17). Die Quantifizierung kann aber auch die spezifische Information liefern, warum der quantitative Nachweis von FLC-K empfindlicher ist als der von IgG. Die hier untersuchte CIS-Gruppe repräsentiert Patienten, die nach der CIS-Erstdiagnose später definitiv an MS erkrankten.

Durch den Vergleich der mittleren quantitativen intrathekalen Synthesemenge (IgGloc-Mittelwert und Kloc-Mittelwert in mg/l) zwischen MS und CIS (Tabelle 3) wird deutlich, dass keine signifikanten quantitativen Unterschiede im Sinne einer immunologischen Umwandlung von CIS in MS festgestellt werden können. Es entsteht vielmehr der Eindruck, dass die CIS-Gruppe im Durchschnitt etwas höhere Werte aufweist.

Mit der Analyse der mittleren intrathekal synthetisierten Fraktion (IgGIF(Mittelwert) und KIF (Mittelwert) in %) gewinnen wir einen weiteren Einblick. Der mittlere intrathekale Anteil von FLC-K ist fast dreimal größer als bei IgGIF (Tabelle 3 und Abb. 2). Das bedeutet, dass die relative Fraktion, die im Gehirn synthetisiert wird, bei FLC-K einen höheren Prozentsatz der Gesamtmenge im Liquor hat als bei IgG. Die Verwendung von FLC-K anstelle von IgG macht einen signifikanten Unterschied in der diagnostischen Sensitivität aus. Eine wichtige Voraussetzung ist jedoch die Bezugnahme auf den nichtlinearen Referenzbereich (12).

Wir haben jedoch noch ein weiteres analytisches Kriterium, nämlich die Häufigkeit der Synthese in den beiden Gruppen in Bezug auf die statistische Obergrenze $Q_{lim}(2s)$ (Tabelle 3 und Abb. 2). Bei IgG liegen nur 25/45 Patienten (MS) bzw. 37/50 (CIS) über dem statistisch relevanten Grenzwert ($Q_{IgG} > Q_{lim}(2)$), während bei den freien Leichtketten 42/45 (MS) bzw. 49/50 (CIS) über dem Grenzwert liegen ($Q_K > Q_{lim}(2)$). Dies bestätigt die theoretisch überlegene Sensitivität von FLC-K gegenüber IgG für die Diagnose eines entzündlichen Prozesses. Diese Verhältnisse sind numerisch in Tabelle 3 und grafisch in den Reibungsprogrammen von Abb. 2 dokumentiert.

Schlussfolgerung: Die Quantifizierung der intrathekalen Proteinsynthese liefert wichtige Informationen für die Diagnose und die Pathophysiologie.

Diskussion

Numerische und graphische Datendarstellung

Die grafische Darstellung der Immunglobulinantwort als Teil eines integrierenden Liquordatenberichts wurde eingeführt, um auf einen Blick mögliche krankheitstypische Immunglobulinmuster zu identifizieren (1,5). Die "Liquor-App" (16) bietet eine Sammlung solcher krankheitstypischer Muster mit differentialdiagnostischen Kommentaren.

Der Referenzbereich für Serumproteine im Liquor in den Quotientendiagrammen (Reibergramm) ist nichtlinear (10-12), d.h. er ist durch empirisch und theoretisch begründete hyperbolische Funktionen gekennzeichnet (Abb. 2). Wenn diese Diagramme nicht automatisch mit der Laborsoftware erstellt werden (6-8), ist es für viele Anwender schwierig, ein solches Diagramm mit einem Referenzbereich zu erstellen. Dies hat dazu geführt, dass viele Autoren immer noch die Auswertung mit linearem Index bevorzugen, obwohl falsch positive und falsch negative Interpretationen unvermeidlich sind (1). Um hier Abhilfe zu schaffen, wurden die Insellösungen der beschriebenen Softwareprogramme entwickelt (16). Es können sowohl Daten für einzelne Patienten als auch für Patientengruppen in publikationsfertiger Form erstellt werden. Die Softwareprogramme bieten auch eine Datenverarbeitung, um alle diagnostisch relevanten Werte (z.B. intrathekale Synthesemenge) numerisch zu ermitteln. Damit stellt sich auch die Frage nach der statistischen Nutzung dieser Daten von Krankheitsgruppen. Da nicht jeder Parameter, der gewonnen werden kann, für eine statistische Behandlung geeignet ist (siehe Methoden), werden alle statistisch relevanten Daten zusätzlich berechnet und können für erweiterte Statistiken als Excel-Tabellen exportiert werden.

Referenzbereiche und Statistik

Die in den Reiberdiagrammen verwendete Grenze, Qlim (Abb. 1 und 2), bietet die höchste Spezifität zur Diagnose eines Entzündungsprozesses (geringste Anzahl falsch positiver Interpretationen). Bei diesem Grenzwert sind 99% der Negativkontrollen in den Referenzbereich integriert, jedoch wird eine entsprechend geringere Sensitivität für Entzündungsprozesse akzeptiert. In der Statistik wird für Gruppenvergleiche üblicherweise eine Varianz von nur durchschnittlich ± 1 SD verwendet. Ein Vergleich der mittleren ± 2 SD erhöht die Genauigkeit für kleinere Gruppen oder Gruppen mit einer hohen analytischen Ungenauigkeit (Fehlerfortpflanzung in Quotienten). Der Referenzbereich für diese hier gewählte statistische Referenzkurve (gestrichelte Linie in Abb. 1) deckt immer noch 96% der Kontrollen ab (d.h. nur max. 2% falsch-positive Kontrollen).

Intrathekaler Anteil

Die intrathekale Fraktion, IF, wurde eingeführt, um die intrathekale Synthese im Quotientendiagramm verschiedener Proteine mit unterschiedlichen Gesamtmengen im Serum zu vergleichen (10,11). Dieser Wert wurde auf Qlim bezogen (Abb. 1). Diese Berechnungen in den Reibergrammen stellen das theoretische Minimum der intrathekalen Synthese der verschiedenen Immunglobulinklassen dar. Für den statistischen Vergleich der Gruppen muss die Berechnung der mittleren Synthesemengen natürlich auf Qmean, den Gruppenmittelwert, bezogen werden (Abb. 1). Aus den IF-Daten (Tabelle 3) geht hervor, dass die relative Konzentration der intrathekalen Fraktion umso größer ist, je kleiner die normale Serumkonzentration und damit die normale Liquorkonzentration ist (100-fache Differenz zwischen IgG und FLC-K) (Gl. 3). Dies bedeutet auch, dass die Nachweisempfindlichkeit für die intrathekale Synthese zunimmt (z.B. um fast das Dreifache der Differenz zwischen IgG und FLC-K in Tabelle 3).

Erweiterte Statistik

Die in der Software berechneten Einzeldaten für Igloc(Mittelwert) oder Kloc(Mittelwert) können in eine Excel-Tabelle exportiert werden und stehen damit für jede gewünschte Form der Statistik mit entsprechender Signifikanzanalyse zur Verfügung. Das "CSF research tool" (16) liefert auch die Daten für die Überprüfung der Nullhypothese.

Es ist zu beachten, dass nur Igloc- (Mittelwert) und Kloc- (Mittelwert) Werte als absolute Konzentrationen für Gruppenvergleiche geeignet sind. Die IgIF- (Mittelwert) und KIF- (Mittelwert) Werte sind als relative Werte nur für Parametervergleiche geeignet.

Immunantwort bei MS und CIS

Der Goldstandard für den Nachweis einer intrathekalen IgG-Synthese ist die qualitative Analyse der oligoklonalen IgG-Banden. Diese Methode erlaubt jedoch keine quantitative Unterscheidung zwischen verschiedenen Krankheitsgruppen wie CIS und MS. Die quantitative Analyse in Quotientendiagrammen erlaubt es, zumindest das Ausmaß der intrathekalen Synthese (intrathekaler Anteil in %) für den einzelnen Patienten zu charakterisieren (wie Dominanz der Immunglobulin-Gläser oder Unterschied in den IgG-, IgA-, IgM-Mustern (1,5)). Um Unterschiede oder Ähnlichkeiten zwischen Gruppen zuverlässig vergleichen zu können, benötigen wir Statistiken. Für das gewählte Beispiel von CIS und MS erhalten wir Ergebnisse, aus denen wir schliessen können, dass die Integration der intrathekalen Fraktionen von FLC-K in die Mc Donald-Kriterien zu einer früheren empfindlicheren Diagnose von MS führen könnte, obwohl der spezifischste Parameter für den Nachweis einer intrathekalen Immunantwort, die MRZ-Antikörpersynthese (19), zunehmend für die MS-Diagnose untersucht wird (22).

Literatur

- 1.Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis – disease-related data patterns and evaluation programs. J Neurol Sci. 2001; 184: 101-122.
- 2.Dorta-Contreras AJ. Reibergramas: elemento esencial en el análisis inmunológico del líquido cefalorraquídeo. REV NEUROL 1999;28:996-998
- 3.Regeniter A, Kuhle J,Mehling M,Möller H,Wurster U, Freidank H et al. A modern approach to CSF analysis: Pathophysioly, clinical application, proof of concept and laboratory reporting. Clin Neurol Neurosurg 2009; 111(4):313-8
- 4.Akaishi T, Narikawa K, Suzuki Y, Mitsuzawa S, Tsukita K, Kuroda H, et al. Importance of the quotient of albumin, quotient of immunoglobulin G and Reibergram in inflammatory neurological disorders with disease-specific patterns of blood–brain barrier permeability. Neurol Clin Neurosci. 2015;3(3):94–100. DOI:10.1111/ncn3.158
- 5.Reiber, H.: Cerebrospinal fluid data compilation and knowledge-based interpretation of bacterial, viral, parasitic, oncological, chronic inflammatory and demyelinating diseases: Diagnostic patterns not to be missed in Neurology and Psychiatry. Arq Neuropsiquiatr 2016;74(4):337-350
- 6.Albaum W. CSF-Lab. Labororganisation für das Liquorlabor (www.albaum.it).
- 7.Wormek A. Desktop application as knowledge based system for cerebrospinal fluid (CSF) analysis.

www.wormek.org

8. Protis system. Automated CSF assessment. www.siemens-healthineers.com/diagnostics-it
9. REIBER, H.: Knowledge-base for interpretation of Cerebrospinal fluid data patterns - Essentials in Neurology and Psychiatry. *Arq Neuropsiquiatr* 2016;74(6):501-512
10. Reiber, H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) - a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci* 1994; 122: 189-203.
11. Reiber H (2003) Proteins in cerebrospinal fluid and blood: Barriers, CSF flow rate and source-related dynamics. *Rest Neurol Neurosci* 21: 79–96
12. Reiber H, Zeman D, Kušnierová P, Mundwiler E, Bernasconi L. Diagnostic relevance of Free light chains in Cerebrospinal fluid – The hyperbolic reference range for reliable data interpretation in quotient diagrams. *Clin Chim Acta* 2019; 497: 153-162
13. Reiber H, Albaum W. Statistical evaluation of intrathecal protein synthesis in CSF/Serum quotient diagrams. *Acta Neuropsychiatrica* 2008; 20 (Supplement 1): 48-49
14. Bechter K, Reiber H, Herzog S, Fuchs D, Tumani H, Maxeiner HG. Cerebrospinal fluid analysis in affective and schizophrenic spectrum disorders. Identification of subgroups with immune responses and blood-CSF barrier dysfunction. *Journal Psychiatric Research* 2010; 44:321-330
15. Link H, Tibbling G. Principles of albumin and IgG disorders. Evaluation of IgG synthesis within the central nervous system in multiple sclerosis. *Scan J Clin Lab Invest* 37 (1977) 397-401.
16. Albaum W. CSF -App; CSF Research Tool/Reibergrams; FLC-K Statistics and Graphic program. www.Albaum.it (Visit 4/2020)
17. Pesslauer, S., Milosavljevic, D., Huebl, W., Aboulenein-Djamshidian, F., Krugluger, W., Deisenhammer, F., et al.. Validation of kappa free light chains as a diagnostic biomarker in multiple sclerosis and clinically isolated syndrome: A multicenter study. *Mult Scler*, 2016; 22, 502-10.
18. Reiber H, Teut M, Pohl D, Rostasy K.M, Hanefeld F.. Paediatric and adult Multiple Sclerosis: Age Related Differences and time course of the neuroimmunological response in Cerebrospinal fluid. *Multiple Sclerosis* 2009; 15: 1466-1480
19. Reiber H. Polyspecific antibodies without persisting antigen in multiple sclerosis, neurolupus and Guillain-Barré syndrome: immune network connectivity in chronic diseases. *Arq Neuropsiquiatr* 2017, 75(8):580-588, doi.org/10.1590/0004-282X20170081
20. Polman CH, Reingold SC, Banwell B et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol* 2011; 69(2):292-302.
21. Villar LM, Espiño M, Costa-Frossard L, Muriel A, Jiménez J, Álvarez-Cermeño JC. High levels of cerebrospinal fluid free kappa chains predict conversion to Multiple sclerosis. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 813-816
22. Jarius S, Eichhorn P, Franciotta D, Petereit HF, Akman-Demir G, Wick M, Wildemann B. The MRZ reaction as a highly specific marker of multiple sclerosis: re-evaluation and structured review of the literature. *J Neurol*. 2017 Mar;264(3):453-466. doi: 10.1007/s00415-016-8360-4. Epub 2016 Dec 22

Tabellen

Tab 1 Referenzbereichsbezogene Frequenz der intrathekalen IgG-, IgA- und IgM-Synthese in einer Gruppe von MS-Patienten. Die Daten stammen aus einer früheren Studie (18). Die Kohorte der Patienten mit definitiver MS hatte bei der ersten diagnostischen Punktion ein Alter von 28-29 Jahren. Gemäss Abb. 1 wurde entweder die diagnostische Referenzgrenze $QLim = Qmean + 3s$ oder der statistische Bezug mit $QLim(2s) = Qmean + 2s$ verwendet. s = Standardabweichung, SD. Berechnet mit der Software "CSF research Tool" (www.albaum.it).

Frequency of intrathecal synthesis in MS patients			
Reference	IgG	IgA	IgM
QLim (3s)	23	2	6
QLim (2s)	28	5	8
N	29	29	29

Tab. 2 Parameter der mittleren hyperbolischen Referenzfunktion für IgG, IgA, IgM (10) und freie leichte Kette Kappa, FLC-K (12). Die Parameter charakterisieren mit $s = a/b$ die Steigung und das Ordinatenintervall (c) der Asymptote der hyperbolischen Funktionen mit den Parametern a/b , b^2 , c .

	a/b	b ² (x 10 ⁶)	c (x 10 ³)
QlgG (mean)	0,65	8	1,4
QlgG (mean)	0,47	27	2,1
QlgG (mean)	0,33	306	5,7
QKappa (mean)	1.95	33	4,85

Tab. 3 Statistische Daten von Kohorten von MS- und CIS-Patienten. Definitive MS wird nach den Mc Donald-Kriterien diagnostiziert. CIS-Patienten wurden später im Krankheitsverlauf als definitive MS diagnostiziert. Die Daten wurden mit der freien Software "CSF research tool" und "FLC-K statistics and graphic program" von www.albaum.it berechnet.

Means		MS	CIS
K loc (mean)	mg/l	5,3	6,1
IgG loc (mean)	mg/l	17,8	20,2
K IF (mean)	%	79	94
IgG IF (mean)	%	31	40
QK > Qlim (2s).	n/N	42/45	49/50
QIgG > QLim (2s).	n/N	25/45	37/50
QAlb	$\times 10^{-3}$	5.4	4.7
Barrier dysfunction	n/N	7/45	6/50
N		45	50
CSF IgG (Co)	mg/l	20	
CSF FLC-K (Co)	mg/l	0.2	

Abbildungen

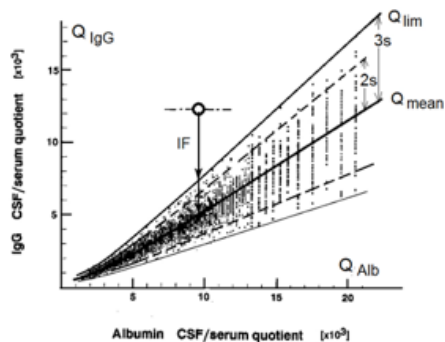


Abb. 1 Hyperbolischer Referenzbereich der aus Blut gewonnenen Proteine im Liquor. Das lineare Diagramm zeigt die obere diagnostische Grenze (Qlim) und die mittlere Funktion Qmean des hyperbolischen Referenzbereichs (10). Qlim ist definiert durch $Q_{Lim} (3s) = Q_{mean} + 3 SD$. Die statistisch relevante obere Grenzlinie (gestrichelte Linie) ist definiert durch $Q_{Lim}(2s) = Q_{mean} + 2SD$. Unterschiede in der diagnostischen Sensitivität der verschiedenen Qlim-Linien sind in Tabelle 1 dargestellt.

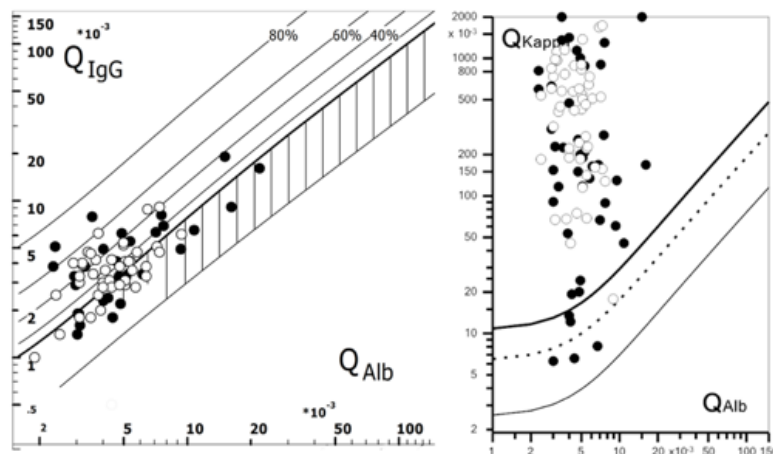


Abb. 2 Quantifizierung von Proteindaten in Quotientendiagrammen (Reibergramme) für IgG (links) und Freilichtketten Kappa (rechts). Die ausgefüllten Kreise repräsentieren Patienten, bei denen eine eindeutige MS diagnostiziert wurde. Offene Kreise stellen Patienten dar, bei denen zunächst ein klinisch isoliertes Syndrom (CIS), später eine definitive MS diagnostiziert wurde. Die Daten für IgG und FLC-K stammen aus den gleichen Kohorten von CIS- oder MS-Patienten. Entsprechende statistische Daten sind in Tabelle 3 aufgeführt. Die Grafiken wurden mit der Software "CSF research tool" und "FLC-K statistics and graphic program" (www.albaum.it) entwickelt.