

Bachelorstudiengang Physician Assistant  
Hochschule für angewandte Wissenschaften Neu-Ulm

**BACHELORARBEIT**

Thema

**Wertigkeit des nephelometrischen Nachweises einer  
intrathekalen monoklonalen Leichtkettensynthese bei der  
Diagnostik intrathekaler B-Zell-Neoplasien**

Verfasserin:	Dominique Daniela Latina
Matr.-Nr.:	284972
Geburtsdatum:	08.10.1984
Erstbetreuer:	Prof. Dr. Spiegel, Hochschule Neu-Ulm
Zweitbetreuer:	Prof. Dr. Mantz, Hochschule Neu-Ulm
Thema erhalten:	17.05.2023
Arbeit abgeliefert:	05.10.2023
Sperrvermerk:	Nein
Anlagen:	Ethikvotum

## Zusammenfassung

Lymphome mit Beteiligung des zentralen Nervensystems sind seltene Erkrankungen, jedoch haben sie, in den meisten Fällen, eine sehr limitierende Lebenserwartung von Wochen bis wenige Monaten. Die sichere Diagnostik erfordert, aufgrund fehlender zuverlässiger Biomarker im Liquor oder Blut, noch immer eine Biopsie mit histologischer Sicherung, was eine zeitliche und körperliche Belastung für die Betroffenen bedeutet. In dieser Arbeit wurde die Bedeutung der Bestimmung der freien Leichtketten im Liquor bei der Diagnostik intrathekalen B-Zell-Neoplasien untersucht. Die Fragestellung war ob der Nachweis freier Leichtketten im Liquor ein Marker für B-Zell-Neoplasien mit intrathekaler Beteiligung sein kann. Hierzu wurden in der Neurologischen Klinik der Universitätsklinik Ulm im Rehabilitationskrankenhaus Ulm die Daten aller Patient\*innen von 2013-2023 mit kodierte Lymphomdiagnosen untersucht. Verschiedene Liquorparameter und Biomarker, durchflusszytometrische Untersuchungsergebnisse und mögliche Befunde freier Leichtketten wurden aus den Systemen der Uniklinik Ulm und des Rehabilitationskrankenhauses Ulm dokumentiert. Bei den eingeschlossenen Patient\*innen wurden bei 17 die nephelometrische Bestimmung der freien Leichtketten im Liquorlabor des Rehabilitationskrankenhauses Ulm durchgeführt. Die Ergebnisse zeigten für die bekannten Biomarker die erwarteten unspezifischen Ergebnisse. Die Befunde der durchflusszytometrischen Untersuchungen zeigten die bekannte geringe Sensitivität. Die Zahlen für die Ergebnisse der freien Leichtketten in Liquor und Serum waren denen der durchflusszytometrischen Untersuchung sehr ähnlich. Für die Kombination der durchflusszytometrischen Untersuchung und der nephelometrischen Bestimmung der freien Leichtketten in Liquor und Serum konnte ein entscheidender Vorteil gegenüber nur einem der beiden Verfahren eruiert werden.

Schlüsselwörter: B-Zell-Neoplasien, Liquor, freie Leichtketten, Nephelometrie, Biomarker

## Abstract

Lymphomas involving the central nervous system are a rare disease, but in most cases they have a very limited life expectancy of weeks to a few months. Due to the lack of reliable biomarkers in the cerebrospinal fluid or blood, reliable diagnosis still requires a biopsy with histological confirmation, which is a time-consuming and physically demanding procedure for the patients. In this study, the significance of the determination of free light chains in the CSF in the diagnosis of intrathecal B-cell neoplasia was investigated. The question was whether the detection of free light chains in the CSF can be a marker for B-cell neoplasia with intrathecal involvement. For this purpose, the data of all patients from 2013-2023 with coded lymphoma diagnoses were examined in the Neurological Clinic of the University Hospital Ulm in the „Rehabilitationskrankenhaus Ulm“. Various CSF parameters and biomarkers, flow cytometric examination results and possible findings of free light chains were documented from the systems of the Ulm University Hospital and the „Rehabilitationskrankenhaus Ulm“. In 17 of the included patients, the nephelometric determination of free light chains was carried out in the CSF laboratory of the „Rehabilitationskrankenhaus Ulm“. The results showed the expected non-specific results for the known biomarkers. The findings of the flow cytometric examinations showed the known low sensitivity. The figures for the free light chain results in CSF and serum were very similar to those of the flow cytometric examination. The combination of flow cytometric examination and nephelometric determination of free light chains in CSF and serum showed a decisive advantage over only one of the two methods.

Keywords: B-cell neoplasia, CSF, free light chains, nephelometry, biomarker

**Inhaltsverzeichnis**

<b>Inhaltsverzeichnis.....</b>	<b>III</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>V</b>
<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>VI</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>VII</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1 Leichtketten.....	2
1.2 Wissenschaftliche Einordnung.....	5
1.3 Gegenstand der Arbeit.....	7
<b>2 Begriffsbestimmung .....</b>	<b>8</b>
2.1 Inhaltsstoffe des Liquors .....	8
2.2 Stufen der Liquordiagnostik.....	9
2.3 Definition der Biomarker im Liquor .....	10
2.3.1 Laktat.....	10
2.3.2 Zellzahl.....	10
2.3.3 Ferritin.....	10
2.3.4 $\beta$ -2-Mikroglobulin.....	11
2.3.5 CXCL 13 .....	11
2.3.6 Albumin-Liquor/Serum-Quotient .....	12
2.3.7 Diagramm nach Reiber .....	13
2.3.8 Immunglobuline .....	14
2.3.9 Oligoklonale Banden.....	14
2.4 Verfahren.....	16
2.4.1 Nephelometrie .....	16
2.4.2 Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS)-Analyse .....	16
<b>3 Methodik.....</b>	<b>17</b>
3.1 Studiendesign .....	17
3.1.1 Einschlusskriterien .....	17
3.1.2 Ausschlusskriterien .....	17
3.2 Datenerhebung .....	18
3.3 Technische Durchführung.....	19
3.4 Auswertung der Daten.....	20
3.4.1 Fisher`s exakter Test .....	21

---

<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>22</b>
4.1	Patient*innen.....	22
4.2	Basisanalytik .....	24
4.3	Biomarker.....	27
4.4	Befunde der FACS-Analysen.....	29
4.5	Leichtkette des Tumors über alle Diagnostikverfahren .....	31
4.6	Übereinstimmung FACS-Befund im Liquor und andere Befunde einer Leichtkettenrestriktion .....	32
4.7	Leichtketten.....	33
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>41</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>44</b>
	<b>Anhang .....</b>	<b>IX</b>
	<b>Eidesstattliche Erklärung.....</b>	<b>XII</b>

**Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1 Dreiteiliges Stufenprogramm der Liquordiagnostik .....	9
Abb. 2 Diagramm nach Reiber .....	13
Abb. 3 Anzahl der Patient*innen mit B-Zell-Neoplasien unterteilt in die Gruppen PCNSL, SCNSL und systemisches Lymphom ohne Liquor/CNS-Beteiligung.....	23
Abb. 4 Auffällige Werte in der Basisanalytik bei den verschiedenen Gruppen in %	25
Abb. 5 Erhöhte Biomarkerwerte nach Kohorte in % .....	28
Abb. 6 Anteil der unterschiedlichen FACS-Befunde in den Lymphomgruppen in %	30
Abb. 7 Ratio und inverse Ratio $>$ und $<$ 2,6 der FLC im Liquor.....	37

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Alter der Patient*innen, Median, oberer und unterer Interquartilsabstand und Anzahl .....	22
Tabelle 2 Geschlechterverteilung in den Gruppen, Anzahl und Prozent .....	22
Tabelle 3 Ergebnisse Basisanalytik.....	24
Tabelle 4 Bandenstatus nach Subgruppen.....	26
Tabelle 5 Übersicht Biomarker der Subgruppen mit erhöhten Werten.....	27
Tabelle 6 Patient*innen mit, ohne und mit unklarer monoklonaler B-Zell-Population im FACS-Befund in Anzahl und Prozent.....	30
Tabelle 7 Untergruppen (PCNSL, SCNSL und systemisches Lymphom ohne ZNS-Beteiligung) mit FACS-Befund in Anzahl und Prozent .....	31
Tabelle 8 Leichtketten der Tumore .....	32
Tabelle 9 Übereinstimmung FACS-Befunde des Liquors und andere Befunde von Leichtkettenrestriktionen.....	32
Tabelle 10 Messergebnisse FLC in der Gruppe system. Lymphom ohne ZNS-Beteiligung in mg/l.....	33
Tabelle 11 Messergebnisse FLC in der Gruppe PCNSL in mg/l.....	34
Tabelle 12 Messergebnisse FLC in der Gruppe SCNSL in mg/l.....	34
Tabelle 13 Kappa FLC im Liquor Übersicht .....	35
Tabelle 14 Kappa FLC im Serum Übersicht.....	35
Tabelle 15 Lambda FLC im Liquor Übersicht.....	35
Tabelle 16 Lambda FLC im Serum Übersicht .....	36
Tabelle 17 Kappa-Quotienten nach Gruppen.....	38
Tabelle 18 Lambda-Quotienten nach Gruppen .....	38
Tabelle 19 FLC-Quotienten erhöht und normal nach Senel .....	38
Tabelle 20 Bereinigte Qlambda .....	38
Tabelle 21 Bereinigte QFLC-Erhöhungen .....	39
Tabelle 22 Leichtkettenrestriktion in der Liquor-FACS-Analyse .....	39
Tabelle 23 Vergleich der Befunde FACS/FLC .....	40

**Abkürzungsverzeichnis**

WHO	World Health Organisation
DLBCL	Diffuse Large Cell B-Cell-Lymphoma
PZNSL	Primäres ZNS-Lymphom
SZNSL	Sekundäres ZNS-Lymphom
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
Vgl	vergleiche
Ig	Immunglobulin
$\kappa$	Kappa
$\lambda$	Lambda
FLC	Free Light Chain
CXCL13	C-X-C-Motif-Chemokin-Ligand 13
mg	Milligramm
l	Liter
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
QAlb	Albuminquotient
lim	Limes
QIgG	Immunglobulin G Quotient
QIgM	Immunglobulin M Quotient
QIgA	Immunglobulin A Quotient
ZNS	Zentrales Nervensystem
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting
ICD	International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems
RKU	Rehabilitationskrankenhaus Ulm
NIND	Non-Inflammatory Neurological Disease
ZNSL	Lymphome im zentralen Nervensystem
IQR	Interquartilsabstand
SL	Systemisches Lymphom
Et al.	et alii
DGN	Deutsche Gesellschaft für Neurologie
NOA	Neuroonkologische Arbeitsgemeinschaft
AIO	Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie

DGHO Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und medizinische  
Onkologie

## 1 Einleitung

Nach der World Health Organisation (WHO) Klassifikation von 2022 werden B-Zell Neoplasien in 19 Subgruppen unterteilt<sup>1</sup>. Das diffuse großzellige B-Zell-Lymphom (DLBCL) ist die häufigste maligne B-Zell-Neoplasie mit einer Inzidenz von etwa 5,6 pro 100000 Einwohner\*innen pro Jahr<sup>2</sup>. Intrathekale B-Zell-Neoplasien werden in zwei Gruppen unterschieden, das primäre Lymphom des zentralen Nervensystems (PZNSL) und das sekundäre Lymphom des zentralen Nervensystems (SZNSL). Beim PZNSL fehlt zum Zeitpunkt der Erstdiagnose jegliche systemische Manifestation der Erkrankung, das Lymphom entsteht primär im Nervensystem. Etwa 95% der PZNSL gehören zur Gruppe der diffus großzelligen B-Zell-Lymphome (DLBCL) mit einer Inzidenz von 0,5:100 000 Einwohner\*innen pro Jahr<sup>3</sup>. Bei 5% handelt es sich um T-Zell-, Marginalzonen-, Burkitt- und lymphoblastische Lymphome<sup>4</sup>. SZNSL werden entweder zeitgleich oder nach der systemischen Manifestation des Lymphoms diagnostiziert. Die Wahrscheinlichkeit, ein SZNSL zu entwickeln, liegt bei den primär systemischen Burkitt- und lymphoblastischen Lymphomen ohne Prophylaxe nach fünf Jahren bei 24,4%, bei niedrigmalignen Non-Hodgkin-Lymphomen (NHL) bei 2,8% und bei den anderen hochmalignen NHL bei 5,2%<sup>5</sup>. Die Wahrscheinlichkeit, ein SZNSL bei einem DLBCL zu erleiden, liegt zwischen 5-15%<sup>6</sup>.

Das mediane Überleben ohne Therapie beim PZNSL beträgt 1-2 Monate<sup>7</sup>. Die Prognose beim SZNSL im Rahmen eines DLBCL ist ebenfalls schlecht<sup>8</sup>. Eine schnelle, sichere und idealerweise für die Betroffenen schonende und wenig invasive Diagnosesicherung ist vor diesem Hintergrund ausgesprochen relevant für eine patientenorientierte Behandlung.

---

<sup>1</sup> Vgl Alaggio et al. 2022.

<sup>2</sup> Vgl. Ernst et al. 2023.

<sup>3</sup> Vgl. von Baumgarten L, Illerhaus G, Korfel A, Schlegel U, Deckert M, Dreyling M 2018.

<sup>4</sup> Vgl. Baraniskin und Schroers 2021.

<sup>5</sup> Vgl. Hollender et al. 2002.

<sup>6</sup> Vgl. Bobillo et al. 2023.

<sup>7</sup> Vgl. DGN, NOA, AIO, DGHO 2015

<sup>8</sup> Vgl. Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF 2022.

## 1.1 Leichtketten

B-Lymphozyten werden im Knochenmark gebildet und reifen in den sekundären lymphatischen Organen. Sie können große Mengen an Immunglobulinen mit mehr als  $10^9$  unterschiedlichen Spezifitäten bilden und sind damit die Grundpfeiler der humoralen Immunantwort. Die Hauptaufgabe der Immunglobuline liegt darin Antigene spezifisch mit hoher Affinität zu binden, um die Phagozytose, Komplementaktivierung oder zytotoxische Prozesse einzuleiten und so zur Elimination der Antigene beizutragen<sup>9</sup>. Immunglobuline (Ig) bestehen aus schweren ( $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\delta$ , oder  $\epsilon$ ) Ketten, die die Immunglobulinklassen (A, G, D, E oder M) definieren, und Leichtketten, die entweder dem Typ kappa ( $\kappa$ ) oder lambda ( $\lambda$ ) zuzuordnen sind. In einem Immunglobulin ist jeweils nur eine Leichtkettenart vertreten<sup>10</sup>.

Es werden ungefähr doppelt so viele  $\kappa$ - wie  $\lambda$ -Leichtketten produziert. Beide Leichtkettenarten werden über die Nieren ausgeschieden und metabolisiert. Leichtketten des Typs  $\kappa$  haben als Monomere eine Halbwertszeit von zwei bis vier Stunden. Bei  $\lambda$ -Leichtketten handelt es sich um Dimere, die aufgrund ihrer höheren Molekülgröße eine längere Halbwertszeit von drei bis sechs Stunden aufweisen. Dieser Unterschied erklärt den höheren Gewichtsanteil im Blutvolumen an  $\lambda$ -Leichtketten im Vergleich zu  $\kappa$ -Leichtketten, trotz der höheren Produktion von  $\kappa$ -Leichtketten<sup>11</sup>.

Bei den NHL handelt es sich als Subgruppe der B-Zell-Neoplasien um eine klonale proliferative Störung von reifen oder Vorläufer-B-Zellen<sup>12</sup>

Die Quantifizierung der Immunglobuline spielt bei der Diagnostik von systemischen NHL eine wesentliche Rolle<sup>13</sup>. Aufgrund einer Überproduktion von 10-40% der Leichtketten in Relation zu den schweren Ketten, finden sich kleinere Mengen freier Leichtketten (FLC) physiologischerweise im Serum<sup>14</sup>. Die FLC können im

---

<sup>9</sup> Vgl. e.Medpedia.

<sup>10</sup> Vgl. Witzig et al. 2014.

<sup>11</sup> Vgl. Pratt 2008.

<sup>12</sup> Vgl. lecturio GmbH 2023.

<sup>13</sup> Vgl. Dr. Gerd Herold 2021.

<sup>14</sup> Vgl. Nakano et al. 2011.

Nephelometer immunologisch quantifiziert werden. Bei Patienten mit systemischen Entzündungen oder Niereninsuffizienz können erhöhte  $\kappa$ - und  $\lambda$ -FLC-Spiegel im Serum gemessen werden, jedoch mit einer normalen FLC-Ratio. Typischerweise ist die Erhöhung der FLC-Spiegel bei B-Zell-Neoplasien monoklonal mit Erhöhung entweder der  $\kappa$ -FLC oder der  $\lambda$ -FLC und damit einer abnormen Ratio<sup>15</sup>.

Pathophysiologisch liegen B-Zell-Neoplasien eine klonale Vermehrung von B-Zellen zugrunde<sup>16</sup>. Verschiedene Arten von B-Zell-Neoplasien zeigen eine unterschiedliche Häufigkeit erhöhter FLC-Spiegel im Serum. Studien zeigen sowohl monoklonale als auch polyklonale erhöhte FLC-Spiegel im Serum bei Mantelzell-Lymphomen von 36%, bei DLBCL von 32%, bei lymphozytischen Lymphomen von 24% und bei chronisch lymphatischer Leukämie sogar bei 49%<sup>17</sup>.

Somit kann die Bestimmung der FLC und der FLC-Ratio im Serum als Biomarker für die Aktivität von B-Zellen ein wichtiges Kriterium in der Diagnostik von systemischen Plasmazellerkrankungen darstellen<sup>18</sup>. Nach der aktuellen Leitlinie des multiplen Myeloms ist die Bestimmung der FLC mit Ratio im Serum bei der Initialdiagnostik und zur Kontrolle des Therapieansprechens durchzuführen<sup>19</sup>.

Die Bestimmung der  $\kappa$ -FLC im Liquor zum Nachweis einer intrathekalen Immunglobulinsynthese gewinnt in der Diagnostik und Verlaufsbeurteilung entzündlicher Erkrankungen des zentralen Nervensystems, wie Multiple Sklerose (MS), zunehmend an Bedeutung<sup>20</sup>. Im Vergleich zum Goldstandard beim Nachweis einer intrathekalen IgG-Synthese, der Bestimmung von isolierten oligoklonalen Banden im Liquor, ist die nephelometrische Quantifizierung der intrathekalen  $\kappa$ -FLC-Synthese schnell, einfach, kostengünstig, mit einer Sensitivität und Spezifität bei MS von jeweils etwa 90% zuverlässig und untersuchungsunabhängig. Die Messung liefert

---

<sup>15</sup> Vgl. Witzig et al. 2014.

<sup>16</sup> Vgl. Jennifer R Brown, MD, PhD Arnold S Freedman, MD 2023.

<sup>17</sup> Vgl. Witzig et al. 2014.

<sup>18</sup> Vgl. Gulli et al. 2020.

<sup>19</sup> Vgl. Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF 2022.

<sup>20</sup> Vgl. Hegen et al. 2023.

ferner quantitative Ergebnisse, die die Vorhersage der MS-Krankheitsaktivität verbessern könnten<sup>21</sup>.

Die höhere Sensitivität der intrathekalen  $\kappa$ -FLC im Vergleich zur  $\lambda$ -FLC-Synthese lässt sich auf die Größe der Leichtkettenmoleküle zurückführen. Über die Nieren werden die kleineren  $\kappa$ -FLC effizienter ausgeschieden als die größeren  $\lambda$ -FLC, sodass deren Spiegel im Median um ca. 40% niedriger sind<sup>22</sup>. Da diese aus dem Blut in den Liquor filtriert werden, korrelieren in der Abwesenheit einer intrathekalen B-Zell-Aktivierung die FLC-Spiegel im Liquor mit den FLC-Spiegeln im Serum<sup>23</sup>. Die Liquor- $\kappa$ -FLC-Spiegel sind also geringer und können so frühzeitiger eine erhöhte intrathekale Synthese anzeigen, was zusammen mit der Tatsache, dass generell mehr  $\kappa$ -FLC produziert werden, die höhere Sensitivität des Nachweises einer intrathekalen  $\kappa$ -FLC-Synthese bei MS erklären könnte. Dies ist eine polyklonale intrathekale FLC-Synthese.

Die Arbeiten von Hu et al. und Schoers et al. zeigten jedoch bereits vielversprechende Ergebnisse für die Bestimmung der FLC im Liquor im Sinn einer monoklonalen FLC-Synthese als neuen Biomarker für die Diagnosestellung intrathekalen B-Zell-Neoplasien<sup>24,25</sup>.

Da bislang noch keine ausreichende Evidenz für die Bestimmung von Liquorparametern, wie den FLC vorliegt, sollte entsprechend der aktuell gültigen Leitlinien, aufgrund der prinzipiell kurativen Situation, eine Biopsie zur histologischen Sicherung der Diagnose PZNSL angestrebt werden<sup>26</sup>. Je nach Lage der intrathekalen Lymphommanifestation kann dies mit einer erheblichen Morbidität der Patient\*innen einhergehen.

---

<sup>21</sup> Vgl. Hegen et al. 2023.

<sup>22</sup> Pratt 2008.

<sup>23</sup> Vgl. Senel et al. 2019.

<sup>24</sup> Vgl. Hu et al. 2022.

<sup>25</sup> Vgl. Schroers et al. 2010.

<sup>26</sup> Vgl. DGN, NOA, AIO, DGHO 2015

## 1.2 Wissenschaftliche Einordnung

Nachdem bildgebend oder klinisch der Verdacht auf ein Lymphom mit ZNS-Beteiligung oder ein PZNSL gestellt wurde, ist die Untersuchung des Liquors einer der ersten diagnostischen Schritte, wenn keine Kontraindikationen wie erhöhter Hirndruck bestehen<sup>27,28</sup>. Die etablierten Marker im Liquor zur Detektion von intrathekalen B-Zell-Neoplasien (siehe unten) weisen alle mehr oder weniger große Schwächen auf. Mit der konventionellen Zytologie können Tumorzellen im Liquor nachgewiesen werden. Diese sind jedoch häufig nicht nachweisbar oder nicht eindeutig von entzündlich aktivierten Lymphozyten abgrenzbar. Selbst bei leptomeningealen Metastasen, also Metastasen mit direktem Anschluss an den Liquorraum, liegt die Sensitivität der Liquorzytologie zum Nachweis eines Lymphoms bei einmaliger Liquorpunktion nur bei 60%<sup>29</sup>, entsprechend schlechter ist die Sensitivität bei tief im Parenchym liegenden Tumoren ohne Anschluss an den Liquorraum. In der Leitlinie „Lumbalpunktion und Liquorpunktion“ werden die im Liquor bestimmbaren Parameter, die für ein B-NHL sprechen aufgezählt. Hierzu zählen eine Prädominanz von B-Zellen, deren Leichtkettenrestriktion (Monoklonalität) oder Fehlen einer Leichtkettenexpression, eine Ko-Expression unreifer oder aberranter Antigene auf oder in B-Zellen (unter anderem CD34, CD10, CD30, TdT, CD5) und gegebenenfalls eine intrathekale IgM-Synthese<sup>30</sup>.

Der humorale Marker  $\beta$ -2-Mikroglobulin ist wegen seiner mangelnden Spezifität nicht zur Unterscheidung einer intrathekalen Lymphommanifestation von lymphozytären Entzündungen geeignet. Für die Differenzierung einer Beteiligung des zentralen Nervensystems bei einem Lymphom steht momentan der C-X-C-Motif-Chemokin-Ligand 13 (CXCL13) mit einer Spezifität von 91% und einer Sensitivität 77% bei einem Cut-off von  $>103\text{pg/ml}$  zur Verfügung<sup>31</sup>.

Während die Durchflusszytometrie mit FACS-Analyse des Knochenmarks bei B-Zell-Neoplasien eine entscheidende Rolle in der Diagnostik und Differenzierung spielt, ist die Zellzahl, die aus dem Liquor gewonnen werden kann, meist zu niedrig, um nach

---

<sup>27</sup>Vgl. DGN, NOA, AIO, DGHO 2015

<sup>28</sup> Vgl. DGN, NOA, AIO, DGHO 2015

<sup>29</sup> Vgl. Sener et al. 2021.

<sup>30</sup> Vgl. Tumani H., Petereit H.-F. et al 2019.

<sup>31</sup> Vgl. Tumani H., Petereit H.-F. et al 2019.

allen, für die sichere Einordnung der Zellen, diagnostisch relevanten Oberflächenmarkern zu suchen. Deshalb beschränkt sich das verwendete Panel häufig auf lediglich vier Oberflächenmarker für B-Zell-Neoplasien: CD45 für alle Leukozyten, CD19 für B-Zellen sowie  $\kappa$  und  $\lambda$  gebundene Leichtketten für die Leichtkettenrestriktion. Es wird indirekt auf eine monoklonale B-Zell-Population geschlossen, wenn von den detektierten B-Zellen überproportional viele eine  $\kappa$ - oder  $\lambda$ -Leichtkette aufweisen. In dieser Konstellation wird von einer Leichtkettenrestriktion gesprochen. Der Nachweis monoklonaler B-Zell-Populationen bei primären und sekundären ZNS-Lymphomen mittels Durchflusszytometrie schwankt je nach Art des Lymphoms. Der Nachweis bei leptomeningealen primären ZNS-Lymphomen liegt bei 80%<sup>32</sup>.

Die durchflusszytometrische Untersuchung kann nur mit frischem Liquor durchgeführt werden, was unter Umständen im klinischen Alltag bspw. an Wochenenden oder in Kliniken, ohne entsprechend ausgerüstete hämatologische/pathologische Labore, nicht immer gewährleistet werden kann, somit ist eine erneute Liquorpunktion mit allen Risiken und Belastungen für den Patienten nötig.

Die nephelometrische FLC-Bestimmung im Liquor könnte prinzipiell Vorteile im Vergleich zur Durchflusszytometrie, Zytologie und den anderen humoralen Markern haben, oder ergänzend sowohl Sensitivität als auch Spezifität beim Nachweis einer B-Zell-Neoplasie mit Befall des zentralen Nervensystems erhöhen. FLC mit Leichtkettenrestriktion können als Nebenprodukt der Antikörpersynthese bei malignen B-Zellen anfallen und sich deshalb im Liquorraum anreichern und könnten somit sensitiver als die konventionelle Zytologie und spezifischer als  $\beta$ -2-Mikroglobulin auf ZNS-Lymphome hindeuten. Die Untersuchung des Liquors mit dem Nephelometer kann auch mit asservierten Liquores durchgeführt werden und ist somit zeitlich und räumlich unabhängig von der Liquorpunktion möglich, also können die Proben zu einem späteren Zeitpunkt analysiert und auch verschickt werden. Ein weiterer Vorteil der nephelometrischen Bestimmung der freien Leichtketten im Liquor und im Serum ist die Quantifizierung durch die Einheit mg/l. Hierdurch könnte sich die Möglichkeit des Therapiemonitorings ergeben.

---

<sup>32</sup> Vgl. Taylor et al. 2013.

### **1.3 Gegenstand der Arbeit**

Diese Arbeit soll die Bedeutung der FLC-Messung im Liquor für die Diagnostik intrathekalen B-Zell-Lymphome darstellen.

Die Arbeitshypothese lautet:

Der Nachweis einer monoklonalen intrathekalen FLC-Synthese durch nephelometrische Bestimmung der FLC kann ein Marker für B-Zell-Neoplasien mit intrathekalen Beteiligung sein.

Das Ziel der Arbeit war die bisher wenig untersuchten Biomarker FLC im Liquor im Zusammenhang mit einer Lymphomkrankung zu überprüfen. Wie bereits dargestellt ist eine schonende, schnelle und zuverlässige Methode zur Diagnostik von Lymphomen mit Beteiligung des zentralen Nervensystems von großer Bedeutung für die Therapie und Prognose von Betroffenen.

## 2 Begriffsbestimmung

### 2.1 Inhaltsstoffe des Liquors

Die Zusammensetzung des Liquors ist gut bekannt. Da sich die meisten Liquorinhaltsstoffe auch im Blut wiederfinden lassen, kann man den Liquor als Ultrafiltrat betrachten. Daher ist eine quantitative Bestimmung der meisten Liquorinhaltsstoffe ohne Bezug auf die Blutwerte nicht aussagekräftig. Aus diesem Grund müssen Liquor und Blut parallel abgenommen und untersucht werden. Ungefähr 80% der Liquorproteine des Gesunden stammen aus dem Blut. Wenn die Molekülgröße und die Serumkonzentration bekannt sind, kann die zu erwartende Konzentration im Liquor annähernd berechnet werden. Ist die Konzentration höher als rechnerisch erwartet, kann man von einer intrathekalen Synthese ausgehen. Intrathekal synthetisierte Liquorproteine machen ca. 20% der gesamten Proteine im Liquor aus. Der größte Anteil dieser Proteine wird in den Meningen synthetisiert<sup>33</sup>.

---

<sup>33</sup> Vgl. Prof. Dr. Uwe Zettl, Dr. Reinhard Lehmitz, Dr. Eilhard Mix 2005.

## 2.2 Stufen der Liquordiagnostik

Die Liquordiagnostik wird in drei Stufen unterteilt, in denen jeweils unterschiedliche Parameter erhoben werden, die erste Stufe entspricht der Eilanalytik, die zweite Stufe entspricht der Basisanalytik und die dritte Stufe entspricht der Spezialanalytik.

In der Eilanalytik werden Beschaffenheit, Zellzahl, Gesamtprotein und Laktat überprüft.

Die Basisanalytik beinhaltet die Quotienten von Albumin, IgG, IgA, IgM, oligoklonale Banden, Differenzialzellbild, Gramfärbung mit Kultur. Die Spezialanalytik kann je nach Fragestellung folgende Parameter umfassen:

- Erregerspezifische Antikörper
- ZNS-eigene Proteine
- Immunzytologie, Tumormarker
- Antigennachweis
- PCR <sup>34</sup>

Stufe	Parameter	Fragestellung/Information
Eilanalytik	Beschaffenheit (ggf. 3-Gläser-Probe), Zellzahl, Gesamtprotein, Laktat	akute Entzündung, bakteriell-viral, Blutung (SAB, ICB)
Basisanalytik	Quotienten von Albumin, IgG, IgA, IgM + oligoklonale Banden (OKB)	intrathekale Entzündung, Schrankenstörung
	Differenzialzellbild	Differenzierung von Entzündung, Blutung und Tumorbefall
	Gramfärbung + Kultur	Erregernachweis (Bakterien, Pilze)
Spezialanalytik	erregerspezifische Antikörper	Infekt vs. Autoimmunerkrankung
	ZNS-eigene Proteine	neurodegenerative Erkrankungen (AD, CJD, ALS, SMA, Narkolepsie usw.)
	Immunzytologie, Tumormarker	Tumor: Bestätigung + Typisierung
	Antigennachweis	Erregernachweis bzw. Bestätigung (V. a. Bakterien, Pilze)
	PCR	Goldstandard für Viren, ergänzend bei TBC, anderen Bakterien und Parasitosen*

Abbildung 1 Dreiteiliges Stufenprogramm der Liquordiagnostik<sup>35</sup>

<sup>34</sup> Vgl. Tumani H., Petereit H.-F. et al 2019.

<sup>35</sup> Vgl. Tumani H., Petereit H.-F. et al 2019.

### 2.3 Definition der Biomarker im Liquor

Eine erhöhte intrathekale Synthese von Proteinen kann auf verschiedene ZNS-Erkrankungen hindeuten oder die Diagnosen sichern. Die Diagnostik einer intrathekalen Beteiligung bei Lymphomen ist komplex, als Biomarker im Liquor werden in der Neurologischen Klinik der Universitätsklinik Ulm des Rehabilitationskrankenhauses Ulm (RKU) vor allem die Differetialzytologie, Ferritin,  $\beta$ -2- Mikroglobulin, CXCL13, IgA, IgM, IgG und oligoklonale Banden herangezogen.

#### 2.3.1 Laktat

Laktat ist das Endprodukt des anaeroben Metabolismus der Glucose. Laktat gilt auch als wichtigster Marker einer Gewebshypoxie, da sich die Konzentration erhöht, wenn sich der Stoffwechsel unter Hypoxie neu ausrichtet. Laktat wird im Plasma und im Liquor bestimmt.

Einer Laktaterhöhung im Liquor können verschiedene entzündliche, vaskuläre, metabolische und neoplastische Erkrankungen des Gehirns oder der Meningen zugrunde liegen<sup>36</sup>.

Gemessen wird Laktat sowohl im Serum als auch im Liquor durch enzymatische Farbttests. Die Referenzbereiche sind beim venösen Plasma zwischen 0,5-2,2 mmol/l und im Liquor bei  $<2,1$  mmol/l<sup>37</sup>.

#### 2.3.2 Zellzahl

Die Zellzahl im Liquor ist der Laborparameter, der die Anzahl der Leukozyten im Liquor angibt. Er wird mikroskopisch bestimmt. Der Höchstwert liegt bei 4Zellen/ $\mu$ , wird dieser Wert überschritten spricht man von einer Pleozytose.

#### 2.3.3 Ferritin

Eine Veränderung der systemischen Eisenverteilung des gesamten Organismus und des intrazellulären Eisenstoffwechsels wird durch eine Aktivierung des Immunsystems bei Entzündungen, wie Infektionen oder autoimmun-entzündlicher Aktivität und malignen Tumoren, hervorgerufen. Inflammatorische Zytokine und die unter ihrem Einfluss

---

<sup>36</sup> Vgl. Lothar Thomas.

<sup>37</sup>Vgl. Lothar Thomas.

gebildeten Radikale wie Stickstoffmonoxid oder Sauerstoffradikale und die verstärkte Expression von Heparin sind dafür verantwortlich. Über Regulationsmechanismen werden Makrophagen aktiviert, was zu vermehrter Aufnahme von Eisen und Speicherung dessen als Proteinkomplex Ferritin in den Makrophagen führt. Dies ist der Grund für einen erhöhten Ferritinspiegel im Liquor bei aktiviertem Immunsystem. Ferritin wird mit mittels Nephelometrie bestimmt. Dieses Verfahren ist für Plasma akkreditiert, für Liquor bislang noch nicht. Die vom RKU festgelegten Referenzwerte im Serum sind bei Frauen 9-140 µg/l, 18-360 µg/l bei Männern und bei Kindern zwischen 9-63 µg/l, im Liquor liegt dieser bei <10 µg/l.

### 2.3.4 $\beta$ -2-Mikroglobulin

Als leichtkettige Untereinheit des Haupt-Histokompatibilitätskomplexes Klasse 1 (MHC Klasse 1) des humanen Leukozytenantigens (HLA), kommt  $\beta$ -2-Mikroglobulin auf der Zelloberfläche aller kernhaltigen Zellen vor. Durch Umsatz dieses Proteinkomplexes wird  $\beta$ -2-Mikroglobulin ins Blut freigesetzt. Auf bestimmten Tumorzellen wird  $\beta$ -2-Mikroglobulin vermehrt exprimiert und freigesetzt. Hier kann  $\beta$ -2-Mikroglobulin als Tumormarker für den Verlauf und die Prognoseabschätzung dienen. Erhöhte Serumwerte sind unspezifisch, es können verschiedene Erkrankungen zugrunde liegen, unter anderem auch bei NHL<sup>38</sup>. Als Marker für eine gesteigerte Aktivität des Immunsystems und Zelltod, ist die Bestimmung von  $\beta$ -2-Mikroglobulin im Liquor durch Immunnephelometrie von großer Bedeutung. Verschiedene Arbeiten zeigen beim Nachweis von Lymphomen mit ZNS-Beteiligung eine Sensitivität von 67% bis 89,4% bei einer Spezifität von 71% bis 88,5%<sup>39</sup>. Der im RKU angewendete Referenzwert für Liquor liegt bei 1,8mg/l, im Serum bei 2,0mg/l.

### 2.3.5 CXCL 13

Der C-X-C-Motif-Chemokin-Ligand 13 (CXCL13) wird in den Follikeln von lymphatischem Gewebe stark exprimiert und fördert die Migration von B-Lymphozyten. CXCL13 aktiviert den C-X-C-Chemokinrezeptor Typ 5 (CXCR5), der in B-Lymphozyten exprimiert wird, und ist somit für die Ansiedlung von B-Lymphozyten

---

<sup>38</sup> Vgl. Prof. Dr. Hans-Peter Buscher 2023.

<sup>39</sup>Vgl. van Westrhenen et al. 2018.

in Follikeln verantwortlich. Mehrere Studien zeigten, dass CXCL13 im Liquor als Marker für Lymphome mit ZNS-Beteiligung dienen kann<sup>40</sup>. Unterschiedliche Arbeiten zeigen eine Sensitivität von 69,9% bis 76,7% und eine Spezifität von 90,9% bis 92,7%<sup>41</sup>. Die Bestimmung von CXCL13 erfolgt mittels ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Die im RKU genutzten Referenzwerte liegen im Liquor bei 10pg/ml, im Serum zwischen 40-100pg/ml.

### 2.3.6 Albumin-Liquor/Serum-Quotient

Alle Proteine des Blutes werden entsprechend ihrer molekularen Größe mehr oder weniger schnell in den Liquor filtriert. Die Liquorkonzentration größerer Moleküle ist im Verhältnis zur Serumkonzentration kleiner.

Albumin gelangt nur aus dem Blut in den Liquor, da es ausschließlich in der Leber synthetisiert wird. Dadurch spiegelt die Liquor/Serum-Konzentration von Albumin alle Einflüsse wider, die bei der Passage zwischen Blut und Liquor von Bedeutung sind.

Der Albumin-Liquor/Serum-Quotient wird errechnet indem die Albumin-Liquorkonzentration durch die Albumin-Serumkonzentration geteilt wird. Er gilt als generell anerkanntes Maß für die Blut-Liquor-Schrankenfunktion. Die Normalwerte sind aufgrund der altersabhängigen Flussgeschwindigkeit des Liquors altersabhängig<sup>42</sup>.

Die Formel zur Berechnung des oberen Grenzwertes ( $Q_{Alb_{lim}}$ ) lautet<sup>43</sup>:

$$4+(\text{Alter}/15)*10^{-3}$$

---

<sup>40</sup> Vgl. Maeyama et al. 2020.

<sup>41</sup> Vgl. van Westrhenen et al. 2018.

<sup>42</sup> Vgl. Prof. Dr. Uwe Zettl, Dr. Reinhard Lehmitz, Dr. Eilhard Mix 2005.

<sup>43</sup> Vgl. Tumani H., Petereit H.-F. et al 2019.

### 2.3.7 Diagramm nach Reiber

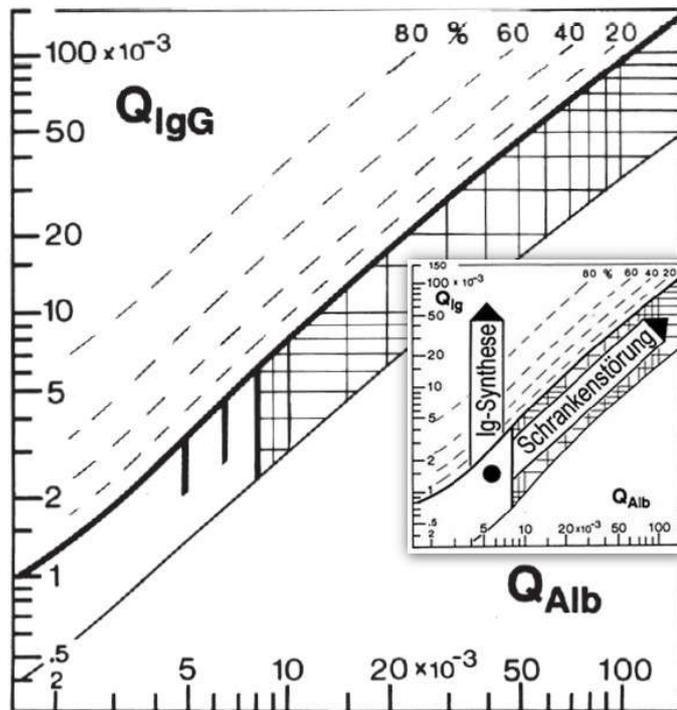


Abbildung 2 Diagramm nach Reiber<sup>44</sup>

Das von Hansotto Reiber entwickelte Quotientendiagramm dient der Analyse der Immunglobuline im Liquor. Es kann differenziert werden ob Immunglobuline über Diffusion oder durch intrathekale Synthese in den Liquorraum gelangt sind oder ob eine Mischform vorliegt.

Der Liquor/Serum-Quotient für IgG ( $Q_{IgG}$ ) wird gegen den Liquor/Serum-Quotienten für Albumin ( $Q_{Alb}$ ) im Graphen aufgetragen. Ebenso wird bei den Liquor/Serum-Quotienten für IgM ( $Q_{IgM}$ ) und IgA ( $Q_{IgA}$ ) vorgegangen.

Es werden zwei nach rechts ansteigende Linien und eine senkrechte Linie im Graphen dargestellt. Die vertikale Linie zeigt den oberen Referenzwert für den  $Q_{Alb}$  an. Zwischen den diagonalen Linien befindet sich der Referenzbereich für die Immunglobulin Quotienten. Zeigen sich Werte rechts der vertikalen Linie, liegt eine Schrankenstörung vor. Werte oberhalb des  $Q_{IgG/A/M}$ -Referenzbereiches beweisen eine intrathekale Immunglobulinsynthese<sup>45</sup>.

<sup>44</sup> Medicus of Borg 2006.

<sup>45</sup> Vgl. Bijan Fink, Dr. med. Norbert Ostendorf, Dr. Frank Antwerpes, Gregor Böttiger 2019.

### 2.3.8 Immunglobuline

Die bei Erkrankungen des zentralen Nervensystems einwandernden B-Zellen können Immunglobuline der Klassen IgA, IgG und IgM herstellen. Diese können im Liquor und parallel auch im Serum durch Immunnephelometrie quantifiziert und die Liquor/Serum-Quotienten im Diagramm nach Reiber dargestellt werden. Intrathekale Synthesen der verschiedenen Immunglobulinklassen treten unterschiedlich häufig auf, IgG häufiger als IgA und IgM.

Bei Entzündungen entsteht in etwa 50% der Fälle eine immunologische IgG Synthese. Außerdem ist IgG bei autoimmunen ZNS-Erkrankungen vermehrt nachweisbar.

Eine IgM Dominanz einer intrathekalen Immunglobulinsynthese im Liquor ist grundsätzlich, anders als im Blut, nicht als Zeichen einer akuten Phase der Erkrankung zu werten. Es erfolgt mit der Zeit kein isotypischer Wechsel, sondern die prädominante Antikörperklasse hat durchweg diagnostischen Wert. Eine intrathekale IgM-Synthese ist zum Beispiel typisch für eine akuten Neuroborreliose, bei afrikanischer Trypanosomiasis mit Beteiligung des zentralen Nervensystems, Neurosyphilis und auch bei NHL.

Eine intrathekale IgA-Synthese ist unter anderem bei Neurotuberkulose mit schwerer Schrankenstörung, symptomatischer cerebraler Adrenoleukodystrophie und in einigen Fällen von Hirnabszessen zu erwarten<sup>46</sup>.

Eine intrathekale Synthese der Immunglobuline ist anzunehmen wenn der Quotient der Immunglobuline aus Liquor und Serum größer ist als der durch den Albuminquotienten errechnete Bereich im Reiber Diagramm, oder bei einem Missverhältnis der Immunglobulinklassen bei intakter Blut-Hirn-Schranke. Da IgG das kleinste Molekül ist wird dies leichter in den Liquor filtriert als IgA und IgM. IgA ist größer als IgG, aber kleiner als IgM und wird somit weniger als IgG aber häufiger als IgM filtriert. IgM kommt als größtes Molekül natürlicherweise am wenigsten im Liquor vor.

### 2.3.9 Oligoklonale Banden

Intrathekal gebildetes IgG kann bei bestimmten Fragestellungen auch mittels isoelektroscher Fokussierung bestimmt werden. Dieses Verfahren ist bis zu 50-fach

---

<sup>46</sup> Vgl. Lothar Thomas.

empfindlicher als die quantitative Bestimmung mittels Immunnephelometrie und Immunturbidimetrie zur Detektion einer intrathekalen Synthese. Oligoklonale Banden bezeichnen qualitativ das charakteristische elektrophoretische Muster des intrathekal synthetisierten IgG.

Der Nachweis basiert auf dem Vergleich der parallelen isoelektrischen Fokussierung von Liquor und Serumproteinen und Darstellung des IgG. Da die IgG Moleküle im Serum eine große Vielfalt von individuellen Antikörpern repräsentieren, sind diese polyklonal. Manchmal können bestimmte Klone überwiegen, die dann oligoklonale Banden bilden, die identisch im filtrierten IgG im Liquor auftauchen. Intrathekal gebildete Antikörper bezeichnen die begrenzte immunologische Antwort gegen ein oder wenige Pathogene oder ein Autoantigen, sie sind oligoklonal. Diese finden keine Entsprechung im Serum. Beurteilt wird das sich nach isoelektroscher Fokussierung ergebende IgG-Bandenmuster anhand von fünf Standardinterpretationen:

- (1) Normalbefund, weder oligoklonale Banden im Liquor noch im Serum
- (2) Oligoklonale Banden nur im Liquor, nicht im Serum
- (3) Identische oligoklonale Banden in Liquor und Serum. Zusätzlich isolierte oligoklonale Banden im Liquor
- (4) Identische oligoklonale Banden in Liquor und Serum
- (5) Identische monoklonale Banden in Liquor und Serum

Als Ursache von oligoklonalen Banden sind akute und persistierende Infektionen ebenso wie chronisch inflammatorische oder autoimmune Erkrankungen des zentralen Nervensystems zu nennen.<sup>47</sup>

---

<sup>47</sup> Vgl. Lothar Thomas.

## 2.4 Verfahren

### 2.4.1 Nephelometrie

Für die Bestimmung der FLC wird das Verfahren der Immunnephelometrie genutzt. Hier wird ein spezifisches Antiserum mit der Probe in eine Messküvette gegeben. Die Antigene verbinden sich mit den Antigenen, in diesem Fall den FLC, zu Antikörper-Antigen-Komplexen. Ein Laserstrahl wird durch die Küvette geschickt und von den Komplexen gestreut. Über ein Linsensystem wird das Streulicht auf einem Photodetektor fokussiert. Der Photodetektor gibt ein elektrisches Signal proportional zur Streulichtintensität ab. Mittels Kalibrationskurve kann anhand des Streulichtsignals die Menge der Komplexe und damit die Konzentration des Antigens gemessen werden<sup>48</sup>.

### 2.4.2 Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS)-Analyse

Die FACS-Analyse funktioniert nach dem Prinzip der Durchflusszytometrie. Dabei wird durch hydrodynamische Fokussierung erreicht, dass die zu untersuchenden Zellen einzeln hintereinander durch eine Messkammer fließen. Die Zellen werden mit einem Laser angestrahlt und erzeugen dabei ein charakteristisches Streulicht, es wird größer je voluminöser und differenzierter die Strukturen im Zytoplasma sind. Bei der Fluoreszenz-Durchflusszytometrie oder FACS-Analyse werden zuvor Oberflächenantigene mittels fluoreszenzmarkierten monoklonalen Antikörpern markiert und die durch das Laserlicht entstehende Fluoreszenz jeder Zelle gemessen<sup>49</sup>.

---

<sup>48</sup>Vgl. Lothar Thomas.

<sup>49</sup>Vgl. Dr. Frank Antwerpes, Dr. med. Norbert Ostendorf, Clemens Wilhelm, Dr. No 2022.

### **3 Methodik**

#### **3.1 Studiendesign**

Diese Bachelorarbeit basiert auf einer retrospektiven Analyse von Patientendaten sowie Erhebung zusätzlicher Analyse von  $\kappa$ - und  $\lambda$ -FLC im Liquor und Serum, wenn dies nicht schon im Rahmen der klinischen Routine erfolgt war, um eine Aussage zur Wertigkeit der nephelometrischen Messung von FLC im Liquor und Serum bei Patienten mit intrathekalen B-Zell-Neoplasien treffen zu können. Es wurden Patientendaten von 2013-2022 analysiert und die Daten von Patienten erfasst, die die definierten Einschlusskriterien erfüllten und die Ausschlusskriterien nicht erfüllten.

##### **3.1.1 Einschlusskriterien**

Für den Einschluss in die Studie mussten die Patient\*innen eine gesicherte Diagnose eines Lymphoms (systemisch oder mit intrathekaler Beteiligung) erhalten haben, eine FACS-Analyse des Liquors musste vorliegen, eine Liquoruntersuchung mit Bestimmung der Zellzahl (Leukozyten und Erythrozyten), IgG, IgA, IgM, Albumin, Laktat und Bandenstatus musste durchgeführt worden sein. Wenn keine Daten zu den FLC-Spiegeln in Liquor und Serum vorlagen, mussten asservierte Proben von mindestens 0,23ml Liquor und mindestens 0,23ml Serum in der Biobank der Neurologischen Klinik des Universitätsklinikums Ulm verfügbar sein, um die FLC in Serum und Liquor im Rahmen dieser Arbeit mittels Nephelometer quantifizieren zu können.

##### **3.1.2 Ausschlusskriterien**

Zum Ausschluss führten eine Erythrozytenzahl im Liquor über 1000/ $\mu$ l, verfügbares Probenmaterial unter 0,23ml für Liquor oder Serum und eine fehlende FACS-Analyse des Liquors.

### 3.2 Datenerhebung

Es wurden alle Patientennamen von 2013-2022 mit den ICD-10 Diagnoseschlüsseln C82.0 (Follikuläres Lymphom Grad I), C82.1 (Follikuläres Lymphom Grad II), C82.2 (Follikuläres Lymphom Grad III, nicht näher bezeichnet), C82.6+ (Kutanes Follikelzentrumslymphom), C82.7 (Sonstige Typen des follikulären Lymphoms), C82.9 (Follikuläres Lymphom, nicht näher bezeichnet), C83.0 (Kleinzelliges B-Zell-Lymphom), C83.1+ (Mantelzell-Lymphom), C83.3 (Diffus großzelliges B-Zell-Lymphom), C83.7 (Burkitt-Lymphom), C83.8 (Sonstige nicht follikulären Lymphome), C83.9 (Nicht follikuläres Lymphom, nicht näher bezeichnet), C88.00 (Makroglobulinämie Waldenström ohne Angabe einer kompletten Remission), C88.40 (Extranodales Marginalzonen-B-Zell-Lymphom des Mukosa-assoziierten lymphatischen Gewebes, MALT-Lymphom, ohne Angabe einer kompletten Remission), C91.00 (Akute lymphatische Leukämie, ALL, ohne Angabe einer kompletten Remission), C91.01 (Akute lymphatische Leukämie in kompletter Remission), C91.10 (Chronische lymphatische Leukämie vom B-Zell-Typ, CLL, ohne Angabe einer kompletten Remission), C91.11 (Chronisch lymphatische Leukämie vom B-Zell-Typ, CLL, in kompletter Remission), C91.40 (Haarzelleukämie ohne Angabe einer kompletten Remission), C91.51 (Adulte(s) T-Zell-Lymphom/Leukämie, HTLV-1-assoziiert, in kompletter Remission), C91.70 (Sonstige lymphatische Leukämie ohne Angabe einer kompletten Remission) in Haupt- und Nebendiagnose über das Controlling der Neurologischen Klinik der Universitätsklinik Ulm im RKU angefordert. Diese ICD-10 Diagnoseschlüssel lagen bei 146 Patient\*innen vor. Es wurde über das System des RKU in den Arztbriefen und Untersuchungsbefunden nach den Ein- und Ausschlusskriterien, mit Ausnahme der Feststellung der asservierten Proben, gesucht. In einer Excel-Tabelle wurden bei dieser ersten Datenüberprüfung bereits festgehalten welche Diagnose im Arztbrief formuliert wurde, es wurden die Liquorparameter Leukozytenzahl, Erythrozytenzahl, Laktat, Albuminquotient, IgG, IgM, IgA, Bandenstatus, Ferritin,  $\beta$ -2-Mikroglobulin und CXCL13 sowie die Serumwerte von IgG, IgM, IgA, Ferritin,  $\beta$ -2-Mikroglobulin und CXCL13 dokumentiert. Außerdem wurden die FACS-Befunde von Liquor und, wenn vorhanden, aus dem Blut und dem Knochenmark dokumentiert. Falls vorhanden wurden die in den Histologiebefunden gefundene Leichtkette dokumentiert. Bei unvollständigen Patientendatensätzen wurde zusätzlich im System der Universitätsklinik Ulm nach fehlenden Untersuchungen

und/oder Befunden gesucht, um die fehlenden Daten zu ergänzen. Ferner wurde ergänzt, wenn bei den Patient\*innen schon Messwerte für die  $\kappa$ -FLC oder die  $\lambda$ -FLC vorlagen. Bei allen Patient\*innen, die die Einschlusskriterien erfüllten und bei denen kein Ausschlusskriterium vorlag, wurde über das System der Biobank der Universitätsklinik Ulm nach asservierten Liquor- und Serumproben gesucht und die Biobank-Nummer sowie das Volumen der Proben dokumentiert.

Somit ergaben sich 29 Datensätze von Patient\*innen, bei 12 Patient\*innen lagen die FLC-Befunde von  $\kappa$  und  $\lambda$  in Liquor und Serum bereits vor. Bei 17 Probenpaaren musste die Messung mittels Nephelometer durchgeführt werden.

Als Vergleichskohorte wurde der Autorin freundlicherweise ein Datensatz von 989 Patient\*innen mit nicht entzündlichen neurologischen Erkrankungen (Non-Inflammatory Neurological Diseases = NIND) zur Verfügung gestellt, bei denen  $\kappa$ - und  $\lambda$ -FLC im Serum und im Liquor gemessen, die  $\kappa$ - und  $\lambda$ -FLC Quotienten und die  $\kappa$ - und  $\lambda$ -Quotienten  $\cdot 10^3$  berechnet wurden<sup>50</sup>. Mein herzlicher Dank geht an die gesamte Forschungsgruppe um Dr. Makbule Senel.

### 3.3 Technische Durchführung

Das Messverfahren erfolgt durch Nephelometrie an dem Gerät Atellica NEPH 630 der Firma Siemens Healthineers. Zur Bestimmung der FLC in Serum und Liquor werden folgende Reagenzien benötigt:

- N Latex FLC Kappa Reagenz
- N Latex FLC Lambda Reagenz
- N FLC Supplement Standard A und B
- N FLC Protein Standard SL
- N FLC control SL1
- N FLC control SL2
- Cleaner SCS
- N Reaktionspuffer
- N Diluens
- Waschflüssigkeit

Vor der Testdurchführung musste eine Referenzkurve erstellt werden. Hierfür wurden 2ml des N FLC Supplement Standard B in das N FLC Supplement Standard A

---

<sup>50</sup> Senel et al. 2019.

pipettiert. Diese Mischung wurde gemeinsam mit dem N FLC Protein Standard SL in das Nephelometer gegeben. Anschließend wurde über das System des Gerätes die Kalibration gestartet, die 30 Minuten dauerte.

Als zweiten Vorbereitungsschritt wurden Kontrollen für den oberen und unteren Messbereich der FLC durchgeführt. Dafür wurden die Reagenzien N FLC control SL1 und N FLC control SL2 in das Nephelometer gegeben und über das System jeweils die Kontrollen für die  $\kappa$ - und für die  $\lambda$ -FLC durchgeführt, dies dauerte jeweils 15 Minuten. Die Messung der SL1 konnte bei Lambda nicht durchgeführt werden, da der Referenzwert nicht eingegeben war. Nachdem das ergänzt wurde, konnte die Messung korrekt durchgeführt werden.

Alle untersuchten Liquor- und Serumproben wurden vor der Asservierung in den  $-80^{\circ}\text{C}$  Kühleinheiten zentrifugiert. Während der Kontrollmessungen wurden die Proben bei Raumtemperatur aufgetaut. Sie wurden in Eppendorfer Gefäße pipettiert und im Nephelometer mit den Nummern der Biobank und den Untersuchungen auf  $\kappa$ - und  $\lambda$ -FLC definiert. Für die Untersuchung des Liquors auf  $\kappa$ -FLC ist keine Verdünnung vorgesehen, bei der Untersuchung auf  $\lambda$ -FLC wird 1:5 verdünnt. Die Verdünnung der Serumproben erfolgt jeweils 1:20. Nach Eingeben der Proben in das Nephelometer begann die Untersuchung, die pro Probe und FLC jeweils 12 Minuten dauerte.

Die Analyse der Proben erfolgte im Tagesverlauf zweier Wochentage. Die Analysevorgänge wurden mehrfach unterbrochen um Reagenzien nachzufüllen. Leider kam es zu einem unvorhergesehenen Zwischenfall, bei dem das Gerät verstopfte. Dies hatte leider zur Folge, dass eine Probe nicht mehr ausgewertet werden konnte und nach Reparatur des Gerätes nicht mehr ausreichend Volumen zur erneuten Analyse vorhanden war.

Für die Messung der  $\lambda$ -FLC ist der niedrigste messbare Wert  $0,51\text{mg/l}$ , alle Werte darunter sind chargenbedingt nicht messbar. Die bereits erhobenen Daten hatten geringere unterste Messwerte und konnten somit auch sehr kleine Mengen von  $\lambda$ -FLC darstellen.

### **3.4 Auswertung der Daten**

Die ausgewählten Patient\*innen gehören alle zur Lymphomgruppe, sie wurden in drei Subgruppen unterteilt, in die PZNSL-Gruppe, die SZNSL-Gruppe und die Gruppe mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems. Die PZNSL- und SZNSL-Gruppe wird zur Auswertung und Differenzierung auch als Gruppe mit

Lymphom des zentralen Nervensystems (ZNSL) zusammengefasst. Als Kontrollgruppe diente der Datensatz der Forschungsgruppe um Dr. Senel mit 989 Patient\*innen.

Um eine Aussage zur statistischen Signifikanz zum Auftreten erhöhter oder auffälliger Untersuchungsergebnisse treffen zu können wurden für die Subgruppen untereinander die p-Werte ermittelt.

Zur Darstellung der Ergebnisse wurden in verschiedenen Auswertungen, der Median, der obere Interquartilsabstand (IQR<sub>high</sub>) und der untere Interquartilsabstand (IQR<sub>low</sub>), die Anzahl (N) und der Prozentsatz (%) beschrieben.

Nicht messbare Werte der  $\lambda$ -FLC der aktuell gemessenen Proben wurde zur Berechnung mit dem kleinsten messbaren Wert 0,51mg/l angegeben.

Die Berechnung für die Referenzbereich der FLC-Quotienten erfolgte nach Senel mit den Formeln<sup>51</sup>  $Q_{\lambda\text{lim}}=18,86+2,06*Q_{\text{Alb}}$  für den größten normalen  $\lambda$ -FLC-Quotienten, und  $Q_{\kappa\text{lim}}=14,85+2,41*Q_{\text{Alb}}$  für den größten normalen  $\kappa$ -FLC-Quotienten.

### 3.4.1 Fisher`s exakter Test

Die Ermittlung der p-Werte wurde in dieser Arbeit über den exakten Test nach Fisher vorgenommen. Dieser Test ist ein exakter Signifikanztest, stellt jedoch keine Voraussetzungen an den Stichprobenumfang. Die Berechnung der 2x2 Kontingenztafeln erfolgte mithilfe des online verfügbaren Rechners auf der Seite [www.socscistatistics.com](http://www.socscistatistics.com).

---

<sup>51</sup> Vgl. Senel et al. 2019.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Patient\*innen

Infolge der durchgeführten Datenrecherche wurden insgesamt 28 Patienten identifiziert, die den vorab festgelegten Auswahlkriterien entsprachen. Die eingeschlossenen Patient\*innen waren im Median in der ZNSL-Gruppe 63, in der PZNSL-Gruppe 62, in der SZNSL-Gruppe 67 und in der Gruppe der Patient\*innen mit systemischen Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems (SLozneZNS) 65 Jahre alt (Tabelle 1).

	Median	IQRlow	IQRhigh	N
ZNSL	63	58	69	17
PZNSL	62	57	64	7
SZNSL	67	59	71	10
SLozneZNS	65	59	73	11

*Tabelle 1 Alter der Patient\*innen, Median, oberer und unterer Interquartilsabstand und Anzahl*

Die Patient\*innen zeigten eine unterschiedliche Verteilung der Geschlechter. In der ZNSL-Gruppe konnten sechs (35%) Frauen und elf (65%) Männer identifiziert werden. Bei der PZNSL-Gruppe waren vier (57%) Frauen und drei (43%) Männer. In der SZNSL-Gruppe sahen wir zwei (20%) Frauen und acht (80%) Männer und in der Gruppe mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems fünf (45%) Frauen und sechs (55%) Männer (Tabelle 2).

	Frauen (N)	Männer (N)	Frauen (%)	Männer (%)
ZNSL	6	11	35	65
PZNSL	4	3	57	43
SZNSL	2	8	20	80
SLozneZNS	5	6	45	55

*Tabelle 2 Geschlechterverteilung in den Gruppen, Anzahl und Prozent*

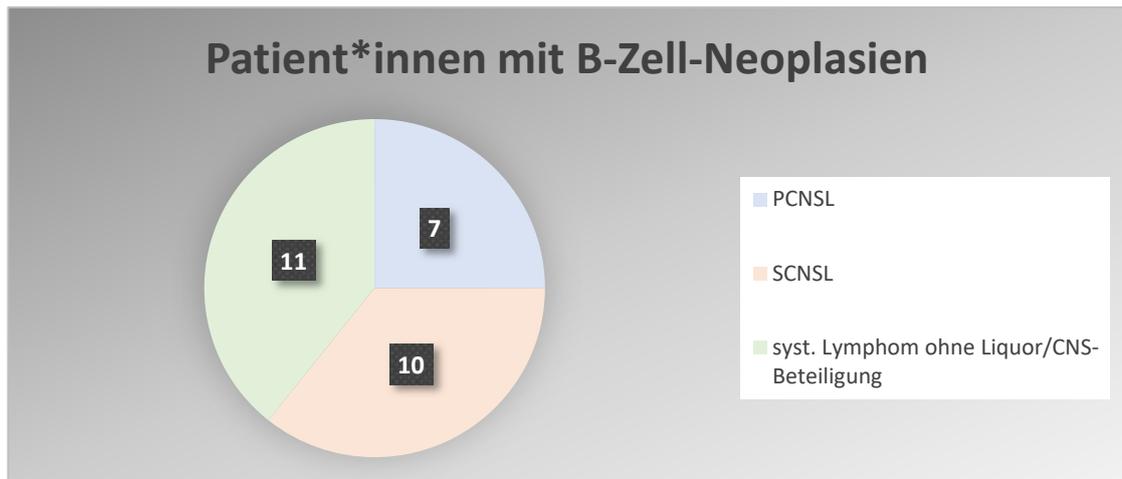


Abbildung 3 Anzahl der Patient\*innen mit B-Zell-Neoplasien unterteilt in die Gruppen PCNSL, SCNSL und systemisches Lymphom ohne Liquor/CNS-Beteiligung

Innerhalb der Gesamtheit ergaben sich nach den Diagnosen drei Gruppen (Abbildung 3). Die Gruppe mit den an PZNSL-Erkrankten umfasst sieben Patient\*innen (25%). In der Gruppe der Patient\*innen, die die Diagnose SZNSL erhielten sind zehn Patient\*innen (36%) eingeschlossen. Von den 28 Patient\*innen konnte bei elf Personen (39%) keine Lymphombeteiligung in Liquor oder dem zentralen Nervensystem nachgewiesen werden. Insgesamt gab es damit eine Beteiligung des zentralen Nervensystems bei 17 der 28 Patient\*innen (61%).

## 4.2 Basisanalytik

	Gesamt	PZNSL	SZNSL	kein ZNS
Liquorpleozytose, N(%)	13 (46)	4 (57)	5 (50)	4 (36)
Laktat erhöht, N(%)	5 (18)	2 (29)	2 (20)	1 (9)
Schrankenstörung, N(%)	20 (71)	4 (57)	9 (90)	7 (64)
QIgG erhöht, N(%)	0 (0)	0 (0)	0 (9)	0 (0)
QIgA erhöht, N(%)	3 (11)	0 (0)	0 (0)	3 (27)
QIgM erhöht, N(%)	7 (25)	2 (29)	2 (20)	3 (27)

Tabelle 3 Ergebnisse Basisanalytik

Insgesamt wurden 28 Liquorproben untersucht, bei denen 13 Proben (46%) eine erhöhte Leukozytenzahl aufwiesen. In fünf Fällen (17%) konnten erhöhte Laktatwerte beobachtet werden. Eine Schrankenstörung wurde bei 20 von 28 Patient\*innen (71%) festgestellt. Hingegen zeigte keine der Messungen eine quantitative intrathekale IgG-Synthese. Eine intrathekale IgA-Synthese wurde in drei von 28 Proben (10.7%), eine IgM-Synthese wurde in sieben von 28 Proben (25%) festgestellt (Tabelle 3, Abbildung 6).

Bei den sieben PZNSL-Patient\*innen wurde in fünf Proben (71,4%) eine Pleozytose, also eine erhöhte Leukozytenzahl, im Liquor beobachtet. Die Bestimmung von Laktat aller Liquorproben ergab bei zwei PZNSL- Patient\*innen (28,6%) eine Erhöhung. Weiter konnte in dieser Gruppe bei fünf Patient\*innen (71,4%) eine Schrankenstörung ermittelt werden. Für die Immunglobuline IgA und IgG konnte keine intrathekale Synthese nachgewiesen werden. Für IgM konnte in drei von sieben Fällen (42,9%) eine intrathekale Synthese berechnet werden.

In der Gruppe mit SZNSL wurden zehn Proben untersucht, wobei bei fünf Proben (50%) eine Pleozytose festgestellt wurde. Ein erhöhter Laktatwert im Liquor konnte bei zwei Fällen (20%) erhoben werden. Bei neun von zehn Patient\*innen mit SZNSL (90%) wurde eine Schrankenstörung diagnostiziert. In dieser Gruppe wurde keine intrathekale IgG-Synthese gefunden. In einem von zehn Fällen (10%) wurde eine intrathekale IgM-Synthese nachgewiesen, in einem weiteren Fall (10%) wurde eine intrathekale IgA-Synthese erkannt.

In der Gruppe mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems wurde bei fünf von elf Patient\*innen (45,45%) eine Pleozytose im Liquor festgestellt. Von den insgesamt elf Patient\*innen wiesen sechs (54,54%) eine Schrankenstörung auf. Das Immunglobulin IgG wurde nicht intrathekal synthetisiert,

während die IgA-Synthese in zwei von elf Fällen (18,18%) nachweislich intrathekal stattfand. Eine intrathekale IgM-Synthese wurde in 3 von 11 Liquorproben (27,27%) nachgewiesen.

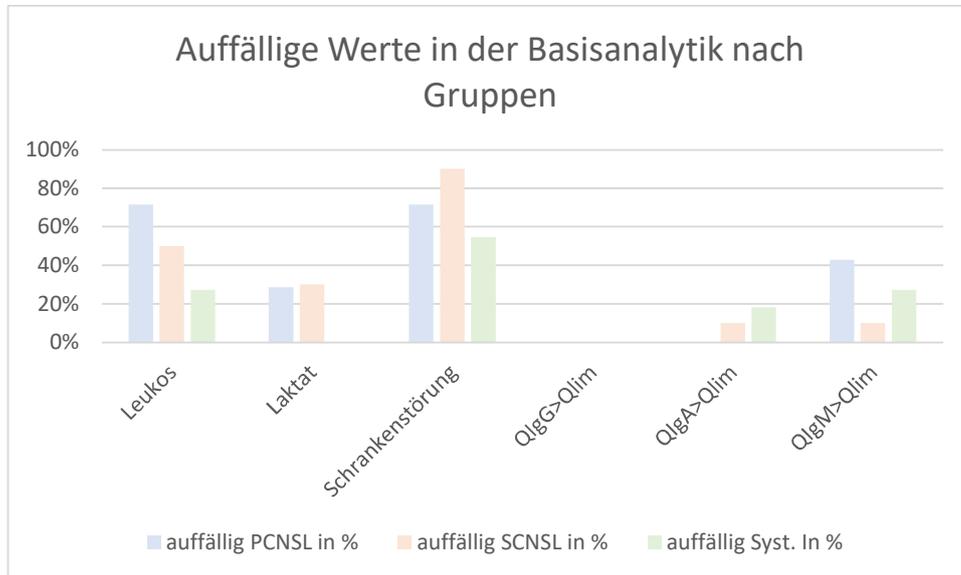


Abbildung 4 Auffällige Werte in der Basisanalytik bei den verschiedenen Gruppen in %

Eine erhöhte Leukozytenzahl im Liquor ist nicht statistisch signifikant häufiger bei PZNSL im Vergleich zum systemischen Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems ( $p=0,1448$ ). Der exakte Test nach Fisher ergab bei den Gruppen PZNSL und SZNSL keine Signifikanz ( $p=0,6221$ ) in der Erhöhung der Leukozytenzahl im Liquor, auch zwischen den Gruppen SZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems liegt der p-Wert mit 0,387 über einer signifikanten Häufung einer erhöhten Leukozytenzahl.

Ein erhöhter Laktatwert im Liquor ist nicht signifikant erhöht in den Gruppen PZNSL und SZNSL ( $p=1$ ). Auch zwischen den Gruppen PZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems zeigt sich keine signifikante Häufung eines erhöhten Wertes ( $p=0,1373$ ). Bei der Gruppe SZNSL ist im Vergleich zur Gruppe mit dem systemischen Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems eine signifikante Häufung des erhöhten Laktatwertes im Liquor zu beobachten ( $p=0,0124$ ).

Eine Schrankenstörung tritt bei den Gruppen PZNSL und SZNSL nicht signifikant gehäuft auf ( $p=0,5368$ ). Auch zwischen den Gruppen PZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems lässt sich keine signifikante Häufung feststellen ( $p=0,6371$ ). Dies ist auch der Fall bei den Gruppen SZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems ( $p=0,1486$ ).

Der IgA Quotient ist im Vergleich PZNSL zu SZNSL nicht signifikant verändert ( $p=1$ ), das gleiche Ergebnis fällt auch bei den Gruppen SZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems auf ( $p=1$ ). Auch im Vergleich der Gruppen PZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems zeigt sich keine signifikante Häufung ( $p=0,4967$ ).

Der IgM-Quotient zeigt keine signifikant gehäufte Erhöhung bei den Gruppen PZNSL und SZNSL ( $p=0,25$ ). Auch zwischen den Gruppen PZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems zeigt sich keine Signifikanz eines häufigeren Vorkommens eines erhöhten IgM-Quotienten ( $p=0,6267$ ). Die Berechnung des p-Wertes mit dem exakten Test nach Fisher für die Gruppen SZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems ergibt keine signifikante Häufung einer IgM-Quotientenerhöhung ( $p=0,5865$ ).

In der Untersuchung der oligoklonalen Banden wurden bei einer/m Patient\*in isolierte oligoklonale Banden im Liquor, bei zwei Patient\*innen isolierte und identische oligoklonale Banden im Liquor, bei einer/m Patient\*in monoklonale Banden im Liquor und bei einer/m Patient\*in isolierte und monoklonale Banden im Liquor festgestellt. In der PZNSL-Gruppe ist ein/e Patient\*in (14%) mit isolierten und identischen oligoklonalen Banden im Liquor, bei drei Patient\*innen (43%) zeigen sich keine Banden und bei drei Patient\*innen (43%) zeigen sich identische Banden im Liquor und Serum.

In der SZNSL-Gruppe zeigen alle Patient\*innen identische Banden in Liquor und Serum (100%). Die Gruppe mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems zeigte einen Befund von isolierten und identischen Banden im Liquor (9%), fünf Befunde von identischen Banden im Liquor (46%), zwei Befunde ohne Banden (18%), einen Befund von isolierten Banden im Liquor (9%), einen Befund von monoklonalen Banden in Liquor (9%) und Serum und einen Befund von isolierten Banden im Liquor und monoklonalen Banden in Liquor und Serum (9%).

Bandenstatus	1	2	3	4	5
ZNSL	3	0	1	13	0
PZNSL	3	0	1	3	0
SZNSL	0	0	0	10	0
SLohneZNS	0	1	1	5	2

Tabelle 4 Bandenstatus nach Subgruppen

### 4.3 Biomarker

	erhöht	Normwert g	gesamt	Erhöht PZNSL	erhöht SZNSL	erhöht SLohneZNS
Ferritin Liquor	13	4	17	2	5	6
Ferritin Serum	10	7	17	3	3	4
b2M Liquor	18	4	22	5	8	5
b2M Serum	12	5	17	3	3	6
CXCL13 Liquor	14	7	21	5	5	4
CXCL13 Serum	7	10	17	1	3	3

*Tabelle 5 Übersicht Biomarker der Subgruppen mit erhöhten Werten*

Von der Gesamtheit der 28 untersuchten Proben wurden bei 17 sowohl der Liquor als auch das Serum auf Ferritin untersucht. Die Konzentration von  $\beta$ -2-Mikroglobulin wurde im Liquor von 22 Patient\*innen und im Serum von 17 Patient\*innen gemessen. Des weiteren erfolgte die Bestimmung von CXCL13 in 21 Liquorproben und bei 17 Serumproben.

Innerhalb der Gruppe von Patienten mit PZNSL wurde das Ferritin im Liquor bei vier von sieben Patienten bestimmt, wobei bei zwei (50%) ein erhöhter Ferritinwert festgestellt wurde. In vier von sieben PZNSL-Proben wurde auch das Ferritin im Serum analysiert wobei bei drei (75%) dieser Proben ein erhöhter Wert beobachtet wurde. Die Konzentration von  $\beta$ -2-Mikroglobulin im Liquor wurde bei allen PZNSL Patient\*innen bestimmt, in fünf Fällen (71%) lag ein erhöhter Wert vor. Im Serum wurde  $\beta$ -2-Mikroglobulin bei vier PZNSL-Patienten gemessen, wobei bei drei von Ihnen (75%) eine Erhöhung des Wertes festzustellen war. CXCL13 wurde bei fünf PZNSL-Patienten im Liquor bestimmt wobei alle fünf Proben erhöhte Werte aufwiesen (100%). Im Serum wurde CXCL13 bei vier PZNSL-Patient\*innen analysiert, in einem Fall (25%) wurde eine Erhöhung beobachtet.

Insgesamt wurden zehn Proben von Patienten mit SZNSL untersucht. Bei sechs dieser Proben wurde das Ferritin im Liquor bestimmt, wobei in fünf Fällen (83%) ein erhöhter Ferritinwert festgestellt wurde. Die Konzentration von Ferritin im Serum wurde ebenfalls bei sechs SZNSL-Patienten gemessen wobei drei von ihnen (50%) erhöhte Werte aufwiesen.  $\beta$ -2-Mikroglobulin wurde im Liquor von acht SZNSL-Patienten bestimmt und in allen Fällen (100%) eine Erhöhung beobachtet. Im Serum wurde  $\beta$ -2-Mikroglobulin bei sechs Patienten analysiert, wobei drei von ihnen (50%) erhöhte Werte aufwiesen. CXCL13 wurde im Liquor von acht SZNSL-Patienten bestimmt,

wobei fünf Proben (62%) erhöhte Werte zeigten. Im Serum wurde CXCL13 bei sieben SZNSL-Patienten analysiert und in drei Fällen (42%) eine Erhöhung festgestellt.

Von den insgesamt elf Proben von Patienten mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems wurden bei sieben Patienten die Ferritinwerte im Liquor bestimmt, wobei in sechs Fällen (85%) eine Erhöhung festgestellt wurde. Ebenfalls wurde das Ferritin im Serum von sieben dieser Patienten analysiert, wobei vier (57%) erhöhte Werte aufwiesen. Die Konzentration von  $\beta$ -2-Mikroglobulin wurde in acht Liquorproben gemessen, wobei in fünf Fällen (62%) ein erhöhter Wert festgestellt wurde. Die Bestimmung von  $\beta$ -2-Mikroglobulin im Serum erfolgte bei sieben Proben, wobei in sechs Fällen (86%) eine Erhöhung festzustellen war. CXCL13 wurde in acht Fällen gemessen, wobei in vier Proben (50%) eine Erhöhung der Konzentration festgestellt wurde. Im Serum wurden CXCL13-Werte bei sechs Proben analysiert, und in drei Fällen (50%) wurde eine Erhöhung beobachtet (Abbildung 5).

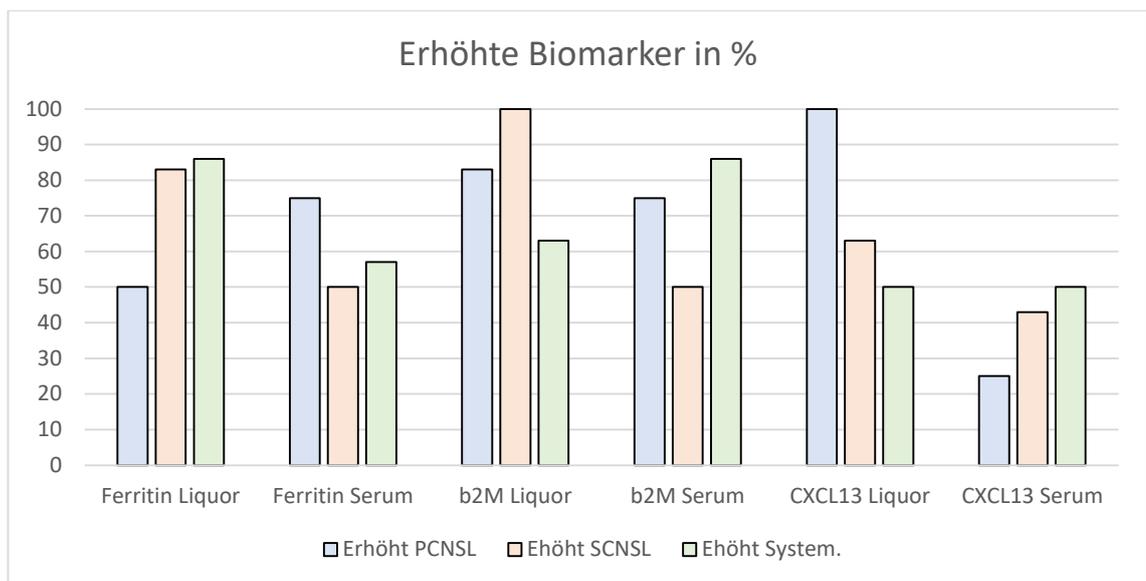


Abbildung 5 Erhöhte Biomarkerwerte nach Kohorte in %

Die Erhöhung von Ferritin im Liquor in den Gruppen PZNSL und SZNSL zeigt keine signifikante Vermehrung in einer der Gruppen ( $p=0,5238$ ). Bei den Gruppen SZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems zeigt sich ebenfalls keine signifikante Häufung ( $p=1$ ). Ebenso bei den Gruppen PZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems ( $p=0,4909$ ).

Erhöhte Serumferritinspiegel ergeben bei den Gruppen PZNSL und SZNSL keine signifikante Häufung ( $p=0,5714$ ). Auch bei den Gruppen PZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems ist keine signifikante

Häufung zu beobachten ( $p=1$ ). Gleiches gilt für die Gruppen SZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems ( $p=1$ ).

Die Erhöhung von  $\beta$ -2-Mikroglobulin ist bei den Gruppen PZNSL und SZNSL nicht signifikant gehäuft ( $p=0,4286$ ). Bei den Gruppen PZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems kann keine signifikante Häufung nachgewiesen werden ( $p=0,5804$ ). In den Gruppen SZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems kann ebenso keine signifikante Häufung festgestellt werden ( $p=0,2$ ).

Eine Erhöhung des  $\beta$ -2-Mikroglobulin im Serum lässt sich bei den Gruppen PZNSL und SZNSL nicht signifikant gehäuft nachweisen ( $p=0,5714$ ). Bei den Gruppen PZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems kommt man zu dem gleichen Ergebnis, also keiner signifikanten Häufung ( $p=1$ ), ebenso wie bei den Gruppen SZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems ( $p=0,2657$ ).

Die Erhöhung von CXCL13 im Liquor ist im Vergleich der Gruppen PZNSL und SZNSL nicht signifikant gehäuft ( $p=0,0849$ ). Mit dem gleichen p-Wert von 0,0849 lässt sich eine Häufung eines erhöhten CXCL13 im Liquor auch zwischen den Gruppen PZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems nicht statistisch signifikant nachweisen. Im Vergleich der Gruppen SZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems ist keine Signifikanz nachweisbar ( $p=1$ ).

Die Erhöhung von CXCL13 im Serum ist bei den Gruppen PZNSL und SZNSL nicht signifikant gehäuft ( $p=1$ ). Bei den Gruppen PZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems lässt sich ebenfalls keine signifikante Häufung feststellen ( $p=0,5714$ ). Auch im Vergleich der Gruppen SZNSL und systemisches Lymphom ist keine signifikante Häufung festzustellen ( $p=1$ ).

#### **4.4 Befunde der FACS-Analysen**

Im Liquor dieser 28 Patient\*innen konnte bei 14 (50%) eine eindeutige monoklonale B-Zell-Population mittels Durchflusszytometrie nachgewiesen werden. Bei vier (14%) war das Ergebnis nicht eindeutig, aber suggestiv für eine monoklonale B-Zell-Population. Bei den übrigen zehn (36%) ergab sich kein Hinweis auf eine monoklonale B-Zell-Population (Tabelle 1, Abbildung 7).

Patienten insgesamt	28	100 %
Patienten mit verfügbaren Proben	28	100
1: Patienten mit monoklonaler B-Zellpopulation im Liquor	14	50
2: Patienten ohne monoklonale B-Zellpopulation im Liquor	10	36
3 :Patienten mit unklarer monoklonaler B-Zellpopulation im Liquor	4	14

Tabelle 6 Patient\*innen mit, ohne und mit unklarer monoklonaler B-Zell-Population im FACS-Befund in Anzahl und Prozent

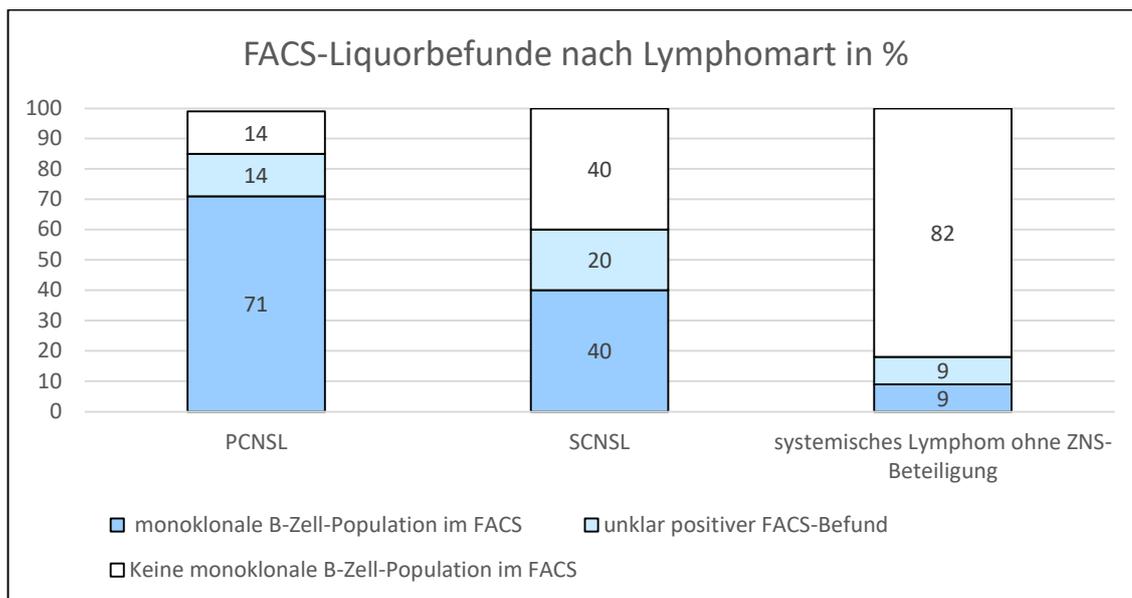


Abbildung 6 Anteil der unterschiedlichen FACS-Befunde in den Lymphomgruppen in %

In der Kohorte der Patient\*innen mit PZNSL konnte bei fünf der sieben Personen (71%) eine monoklonale B-Zell-Population im Liquor mittels FACS-Analyse nachgewiesen werden. Bei einem Betroffenen (14%) war der FACS-Befund nicht eindeutig. Bei einer/m weiteren (14%) wurde in der FACS-Analyse kein Hinweis auf eine monoklonale B-Zell-Population im Liquor gefunden.

Unter den zehn an einem SZNSL Erkrankten konnte bei vier (40%) von zehn, eine monoklonale B-Zell-Population detektiert werden. Bei zwei Betroffenen (20%) war das Ergebnis der FACS-Analyse nicht eindeutig, bei vier Patient\*innen (40%) wurde keine monoklonale B-Zell-Population nachgewiesen.

In der Gruppe der elf Patient\*innen, die bei Entlassung als an einem systemischen Lymphom Erkrankten ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems klassifiziert worden waren, konnte nur bei einer/m Patient/in (9%) eine monoklonale B-Zell-Population im Liquor nachgewiesen werden. In einem weiteren Fall (9%) war das Ergebnis der Analyse nicht eindeutig. Von elf Inkludierten konnte also bei neun (82%)

keine monoklonale B-Zell-Population im Liquor mittels FACS-Analyse nachgewiesen werden (Abbildung 7).

Untergruppen nach FACS-Befund und Diagnose	Anzahl	Prozent
PCNSL + monoklonale B-Zellpopulation im FACS	5	71
PCNSL - monoklonale B-Zellpopulation im FACS	1	14
PCNSL mit unklarem positivem FACS Befund	1	14
SCNSL + monoklonaler B-Zellpopulation im FACS	4	40
SCNSL - monoklonaler B-Zellpopulation im FACS	4	40
SCNSL mit unklar positivem FACS-Befund	2	20
system. Lymphom ohne ZNS + monoklonaler B-Zellpopulation im FACS	1	9
system. Lymphom ohne ZNS - monoklonaler B-Zellpopulation im FACS	9	82
systemisches Lymphom mit unklar positivem FACS-Befund	1	9

Tabelle 7 Untergruppen (PCNSL, SCNSL und systemisches Lymphom ohne ZNS-Beteiligung) mit FACS-Befund in Anzahl und Prozent

Dichtonomisiert man nun die Befunde dahingehend, ob eine monoklonale B-Zell-Population im Liquor sicher vorhanden war oder nicht, so war der sichere Nachweis einer Monoklonalität bei PZNSL im Vergleich zu Lymphomen ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems 7,9-fach häufiger, bei SZNSL 4,4-fach häufiger. Bei den PZNSL konnte eine sichere monoklonale B-Zell\_Population 1,8-fach häufiger als bei den SZNSL nachgewiesen werden.

Analysiert man diese Unterschiede mit dem exakten Test nach Fischer hinsichtlich ihrer statistischen Signifikanz so zeigt sich, dass eine monoklonale B-Zellpopulation im Liquor bei PZNSL signifikant häufiger ist als bei den Lymphomen ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems ( $p=0,0076$ ), jedoch nicht bei SZNSL ( $p=0,1176$ ). Andererseits war eine monoklonale B-Zell-Population nicht häufiger bei PZNSL als bei SZNSL zu sichern ( $p=0,3007$ ).

#### 4.5 Leichtkette des Tumors über alle Diagnostikverfahren

In der SZNSL-Gruppe konnte bei sechs (35%) eine  $\kappa$ -Leichtkette, bei sechs (35%) eine  $\lambda$ -Leichtkette und bei fünf (29%) keine Leichtkette im Tumor nachgewiesen werden. Diese Gruppe teilt sich in die PZNSL-Gruppe in der die  $\kappa$ -Leichtkette ein Mal (14%), die  $\lambda$ -Leichtkette drei Mal (43%) und drei Mal (43%) keine Leichtkette festgestellt wurde und die SZNSL-Gruppe in der in fünf Fällen (50%) eine  $\kappa$ -Leichtkette, in drei Fällen (30%) eine  $\lambda$ -Leichtkette und in zwei Fällen (20%) keine Leichtkette zu eruieren war. In der Gruppe der Patient\*innen mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung

des zentralen Nervensystems wurde drei Mal (27%) eine  $\kappa$ -Leichtkette, zwei Mal (18%) eine  $\lambda$ -Leichtkette und sechs Mal (55%) keine Leichtkette erkannt (Tabelle 8).

	kappa	lambda	unbekannt	kappa (%)	lambda (%)	unbekannt (%)
ZNSL	6	6	5	35	35	29
PZNSL	1	3	3	14	43	43
SZNSL	5	3	2	50	30	20
SlohneZNS	3	2	6	27	18	55

Tabelle 8 Leichtketten der Tumore

#### 4.6 Übereinstimmung FACS-Befund im Liquor und andere Befunde einer Leichtkettenrestriktion

	Sicher N(%)	Möglich N(%)	Nein N(%)	Summe N
ZNSL	8 (67)	1 (8)	3 (25)	12
PZNSL	4 (100)	0 (0)	0 (0)	4
SZNSL	4 (50)	1 (12)	3 (38)	8
SlohneZNS	1 (25)	1 (25)	2 (50)	4

Tabelle 9 Übereinstimmung FACS-Befunde des Liquors und andere Befunde von Leichtkettenrestriktionen

Stellt man die Befunde der FACS-Analysen denen der anderen diagnostischen Verfahren zur Leichtkettenidentifizierung gegenüber zeigt sich in der Gruppe der ZNSL eine Übereinstimmung in acht Fällen (67%), eine mögliche Übereinstimmung in einem Fall (8%) und in drei Fällen (25%) keine Übereinstimmung der Untersuchungsergebnisse. Darunter sieht man eine Übereinstimmung bei allen vier (100%) PZNSL-Patienten, und eine Übereinstimmung in vier Fällen (50%) der SZNSL Patient\*innen, einer (12%) zeigt eine mögliche Übereinstimmung und in drei Fällen (38%) liegt bei der SZNSL-Gruppe keine Übereinstimmung der Untersuchungsergebnisse vor. In der Gruppe der Patient\*innen mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems zeigt sich ein anderes Bild, hier ist in einem Fall (25%) eine sichere Übereinstimmung, in einem Fall (25%) eine mögliche und in zwei Fällen (50%) keine Übereinstimmung zu sehen. Hier zeigt sich im Gruppenvergleich keine statistische Signifikanz für eine häufigere Übereinstimmung in einer der Gruppen.

#### 4.7 Leichtketten

In der Gruppe der Patient\*innen mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems liegt der Mittelwert von  $\kappa$ -FLC im Liquor bei 1,39 mg/l, bei einem Median von 0,47mg/l. Der höchste Wert liegt bei 2,99mg/l, der kleinste gemessene Wert liegt bei 0,11mg/l.

Für die  $\kappa$ -FLC im Serum ergibt sich ein Mittelwert von 20,17mg/l und ein Median von 17,20mg/l. Der höchste gemessene Wert in dieser Kohorte ist 41mg/l, der kleinste Wert 3,37mg/l.

Die  $\lambda$ -FLC im Liquor liegen im Mittelwert in dieser Gruppe bei 0,41 mg/l, der Median bei 0,51mg/l. Der höchste Wert liegt bei 0,54mg/l, der geringste Wert bei 0,10.

Die Werte für  $\lambda$ -FLC im Serum ergeben einen Mittelwert von 15,53mg/l, bei einem Median von 7,97mg/l. Der größte gemessene Wert liegt bei 68,8mg/l, der kleinste bei 3,24mg/l (Tabelle 10).

SL ohne ZNS-Beteiligung	Kappa FLC Liquor mg/l	Kappa FLC Serum mg/l	Lambda FLC Liquor mg/l	Lambda FLC Serum mg/l
	1,03	15,50	0,10	68,80
	0,53	41,00	0,54	14,80
	0,11	4,57	0,52	3,24
	0,14	17,20	0,10	14,10
	0,36	20,50	< 0,51	5,41
	0,80	33,50	< 0,51	7,97
	0,40	13,10	0,38	18,00
	7,70	21,40	0,30	7,12
	0,40	10,70	< 0,51	6,48
	0,47	41,00	< 0,51	21,20
	2,99	3,37	< 0,51	3,66

Tabelle 10 Messergebnisse FLC in der Gruppe system. Lymphom ohne ZNS-Beteiligung in mg/l

Die Gruppe der Patient\*innen mit PZNSL zeigen bei den  $\kappa$ -FLC im Liquor einen Mittelwert von 1,67mg/l bei einem Median von 0,40mg/l. Der maximale gemessene Wert beträgt 8,84mg/l, der minimal gemessene Wert 0,21mg/l. Im Serum liegt der Mittelwert der  $\kappa$ -FLC bei 34,31mg/l bei einem Median von 29mg/l. Der höchste Wert ist 78,7mg/l, der kleinste Wert 6,63mg/l.

Die  $\lambda$ -FLC im Liquor ergeben im Mittelwert bei der PZNSL Gruppe 1,67mg/l, bei einem Median von 0,4mg/l. Der maximal gemessene Wert ist 3,18mg/l, der geringste Wert liegt bei 0,10mg/l. Im Serum sieht man einen Mittelwert der  $\lambda$ -FLC von 20,77mg/l

und einen Median von 17mg/l. Am höchsten gemessen wurde eine Probe mit 58,8mg/l, der kleinste gemessene Wert liegt bei 7,21mg/l (Tabelle 11).

PZNSL	Kappa FLC Liquor in mg/l	Kappa FLC Serum in mg/l	Lambda FLC Liquor in mg/l	Lambda FLC Serum in mg/l
	8,84	29,00	0,29	10,50
	0,22	7,13	0,10	7,50
	0,91	69,90	< 0,51	58,80
	0,33	19,00	3,18	17,00
	0,21	6,63	0,21	7,21
	0,75	29,80	0,23	18,50
	0,40	78,70	0,51	25,90

Tabelle 11 Messergebnisse FLC in der Gruppe PCNSL in mg/l

Die untersuchten Proben der Patient\*innen mit SZNSL zeigen im Liquor einen Mittelwert für die  $\kappa$ -FLC von 0,79mg/l und einen Median von 0,78mg/l. Der größte Wert liegt bei 1,9mg/l, der kleinste Wert bei 0,17mg/l. Im Serum zeigt sich ein Mittelwert für die  $\kappa$ -FLC von 27,3mg/l und ein Median von 14,5mg/l. Als Maximalwert wurden 78,7mg/l gemessen, als Minimalwert 9,68mg/l.

Für die  $\lambda$ -FLC errechnet sich der Mittelwert im Liquor auf 3,83mg/l, der Median liegt bei 0,4mg/l. Der höchste im Liquor gemessene Wert für die  $\lambda$ -FLC ist 16,4mg/l, der kleinste Wert 0,1mg/l. Im Serum findet sich der Mittelwert bei 14,01mg/l und ein Median von 13,1mg/l. Der höchste Wert liegt bei 25,9mg/l, der kleinste Wert bei 3,24mg/l (Tabelle 12).

SZNSL	Kappa FLC Liquor in mg/l	Kappa FLC Serum in mg/l	Lambda FLC Liquor in mg/l	Lambda FLC Serum in mg/l
	0,59	14,30	0,10	9,51
	0,78	15,70	0,10	9,31
	0,36	12,50	0,30	13,10
	0,55	9,87	16,40	6,71
	1,01	78,70	< 0,51	25,90
	0,91	69,90	< 0,51	3,24
	0,85	19,90	0,40	20,90
	1,90	14,50	0,37	18,10
	0,17	9,68	15,80	19,30

Tabelle 12 Messergebnisse FLC in der Gruppe SCNSL in mg/l

Die zur Verfügung gestellten Daten der gesunden Vergleichskohorte zeigen einen Mittelwert im Liquor bei  $\kappa$ -FLC von 0,19mg/l und einen Median von 0,15mg/l. Hier ist der höchste Wert 2,1mg/l und der kleinste Wert 0,0352mg/l. Im Serum ist die  $\kappa$ -FLC mit einem Mittelwert von 55,2mg/l und einem Median von 12,7mg/l zu erkennen. Im

Serum wurde ein Mittelwert der  $\kappa$ -FLC von 15,5376mg/l und ein Median von 12,7mg/l gemessen. Der höchste gemessene Wert liegt bei 179mg/l, der kleinste bei 3,5mg/l.

Die  $\lambda$ -FLC der gesunden Vergleichskohorte ergeben einen Mittelwert im Liquor von 0,2858mg/l und einen Median von 0,2215mg/l, bei einem maximalen Wert von 2,58mg/l und einem minimalen Wert von 0,0903mg/l. Die  $\lambda$ -FLC im Serum zeigen einen Mittelwert von 20,3605mg/l, einen Median von 16,3mg/l bei einem Maximalwert von 170mg/l und einem Minimalwert von 0,778 mg/l.

Für diese Gruppe konnte Senel et al. bereits eine signifikante Korrelation zwischen den Liquor und den Serumwerten der FLC und dem Albuminquotienten ermitteln<sup>52</sup>.

Liquor Kappa	Mittelwert mg/l	Median mg/l	Max. in mg/l	Min. in mg/l
SLozneZNS	1,36	0,47	2,99	0,11
PZNSL	1,67	0,4	8,84	0,21
SZNSL	0,79	0,78	1,9	0,17
NIND	0,19	0,15	2,1	0,0352

Tabelle 13 Kappa FLC im Liquor Übersicht

Der Median für die  $\kappa$ -FLC im Liquor sind für die PCNSL-Gruppe 2,5fach höher, für die SCNSL-Gruppe 3,1fach und für die Gruppe mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems 5,2fach höher als in der Kontrollgruppe.

Serum Kappa	Mittelwert mg/l	Median mg/l	Max. mg/l	Min. mg/l
SLozneZNS	20,17	17,2	41	3,37
PZNSL	34,31	29	78,7	6,63
SZNSL	27,3	14,5	78,7	9,68
NIND	55,2	12,7	179	3,5

Tabelle 14 Kappa FLC im Serum Übersicht

Die Mediane von NIND, SZNSL und systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems zeigen nur kleine Unterschiede. Der Median von PZNSL ist im Vergleich zur NIND-Gruppe 2,3fach höher.

Liquor Lambda	Mittelwert mg/l	Median mg/l	Max. in mg/l	Min. in mg/l
SLozneZNS	0,41	0,34	0,54	0,1
PZNSL	1,67	0,26	3,18	0,1
SZNSL	3,83	0,37	16,4	0,1
NIND	0,2858	0,2215	2,58	0,0903

Tabelle 15 Lambda FLC im Liquor Übersicht

<sup>52</sup> Vgl. Senel et al. 2019.

Die Mediane der Gruppen PCNSL und NIND zeigen keine großen Unterschiede. Für SZNSL und die Gruppe mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems sind die Median über 1,5fach höher als in der NIND Gruppe.

Serum Lambda	Mittelwert mg/l	Median mg/l	Max. in mg/l	Min. in mg/l
SLoheZNS	15,53	7,97	68,8	3,24
PZNSL	20,77	17	58,8	7,21
SZNSL	14,01	13,1	25,9	3,24
NIND	20,3605	16,3	170	0,778

*Tabelle 16 Lambda FLC im Serum Übersicht*

Für die Serumwerte der  $\lambda$ -FLC kann man im Median einen 2fach höheren Wert bei der NIND-Gruppe im Vergleich zur Gruppe mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems erkennen. Der Median in der SZNSL Gruppe ist leicht erniedrigt im Vergleich zur Kontrollgruppe, während der Median bei der PZNSL-Gruppe nur gering höher ist.

Die Berechnung der Ratio  $\kappa/\lambda$  und der inversen Ratio  $\lambda/\kappa$  im Liquor der Vergleichskohorte zeigt 5% über einem Wert von 2,6. Vergleicht man die gesamte für diese Arbeit untersuchte Kohorte ergeben sich 12 Werte der Ratios über 2,6, dies entspricht 44%. Hier wird mit einem p-Wert von  $<0,00001$  eine hochsignifikante Häufung einer Ratio  $>2,6$  in der Lymphomgruppe gegenüber der Vergleichsgruppe erreicht. Die Gruppen untereinander zeigen keine signifikante Häufung (systemisches Lymphom zu PZNSL  $p=1$ , systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems zu SZNSL  $p=0,6534$  und PZNSL zu SZNSL  $p=1$ ). In der Gruppe mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems zeigt sich ein Auftreten einer höheren FLC-Ratio bei vier von elf, also 36%, in der PZNSL Gruppe bei drei von sieben, also bei 43% und in der SZNSL Gruppe bei fünf von neun, also 56%.

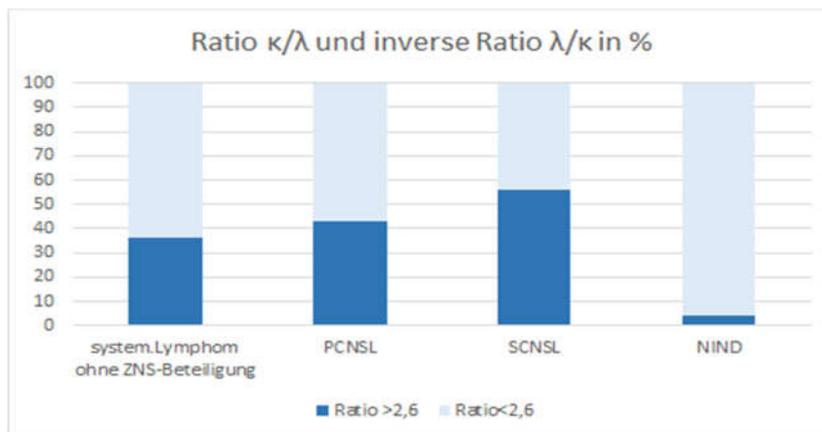


Abbildung 7 Ratio und inverse Ratio  $>$  und  $<$  2,6 der FLC im Liquor

Da für die Ratio ein validierter Normwert fehlt, geht dieser Wert nicht weiter in die Betrachtung dieser Arbeit ein.

Die Quotienten aus Liquor/(Serum  $\cdot 10^{-3}$ ) der  $\kappa$ -FLC ergibt in der Gruppe der Betroffenen mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems einen Mittelwert von 134,46, einen Median von 23,94 bei einem Maximalwert von 887,24 und einem Minimalwert von 8,2. In der gleichen Gruppe zeigt sich ein Mittelwert für den  $\lambda$ -FLC-Quotienten von 61,01, der Median liegt hier bei 42,56 bei einem Maximalwert von 160,80 und einem Minimalwert von 1,45.

Für die PZNSL Gruppe liegt der Mittelwert des Quotienten der  $\kappa$ -FLC bei 61,29, der Median bei 25,30. Es ergibt sich ein Maximalwert von 304,83 und ein Minimalwert von 5,13. Der  $\lambda$ -FLC-Quotient zeigt einen Mittelwert von 42,57, den Median von 19,77 bei einem Maximalwert von 187,06 und einem Minimalwert von 8,71.

Die Gruppe mit einem SZNSL zeigt einen Mittelwert des  $\kappa$ -FLC-Quotienten von 43,51 und einen Median von 40,91. Der höchste Wert liegt bei 131,03, der niedrigste bei 12,83. Der  $\lambda$ -FLC- Quotient ergibt einen Mittelwert von 391,46, mit einem Median von 20,33, bei einem Höchstwert von 2444,11 und dem kleinsten Wert von 10,52.

In der gesunden Vergleichskohorte liegt der Mittelwert für den  $\kappa$ -FLC-Quotienten bei 12,419 und der Median bei 11,12. Der höchste Wert liegt bei 58,379 und der kleinste Wert bei 3,517. Für den  $\lambda$ -FLC- Quotienten ergibt sich ein Mittelwert von 14, 832, ein Median von 13,5 und einen Maximalwert von 168,38 und einen Minimalwert von 3,614 (Tabelle 17, Tabelle 18).

Quotient $\kappa$ Liquor/(Serum* $10^{-3}$ )	Mittelwert	Median	Max.	Min.
SLohneZNS	134,46	23,94	887,24	8,2
PZNSL	61,29	25,3	304,83	5,13
SZNSL	43,51	40,91	131,03	12,83
NIND	12,419	11,12	58,379	3,517

Tabelle 17 Kappa-Quotienten nach Gruppen

Quotient $\lambda$ Liquor/(Serum* $10^{-3}$ )	Mittelwert	Median	Max.	Min.
SLohneZNS	61,01	42,56	160,8	1,45
PZNSL	42,57	19,77	187,06	8,71
SZNSL	391,46	20,33	2444,11	10,52
NIND	14,832	13,5	168,38	3,614

Tabelle 18 Lambda-Quotienten nach Gruppen

Nach Berechnung des maximalen Quotienten nach Senel ergeben sich in sieben Fällen (26%) erhöhte  $\kappa$ -Quotienten und in neun Fällen (33%) erhöhte  $\lambda$ -Quotienten.

	Qkappa N(%)	Qlambda N(%)
erhöht	7 (26)	9 (33)
normal	20 (74)	18 (67)
Insgesamt	27	27

Tabelle 19 FLC-Quotienten erhöht und normal nach Senel

In einigen Fällen war der Wert der  $\lambda$ -FLC im Liquor zur Berechnung mit 0,51mg/l für die Berechnung genutzt worden, dieser Wert war aber nicht messbar und wurde mit  $<0,51$ mg/l ausgegeben. Somit kam es zu einer Verzerrung der  $\lambda$ -Quotienten und in den betroffenen Fällen wird eine Erhöhung dargestellt, die so nicht sicher nachweisbar ist. Nach Bereinigung dieser Daten ergeben sich fünf (19%) sicher erhöhte Werte für den  $\lambda$ -Quotienten und 22 (81%) Werte ohne sichere Erhöhung.

	Qlambda N(%)
erhöht	5 (19)
normal	22 (81)

Tabelle 20 Bereinigte Qlambda

Insgesamt zeigt sich so eine Erhöhung einer der FLC-Quotienten bei zwölf (44%), bei 15 (56%) kann keine sichere Erhöhung berechnet werden.

Die FLC-Quotienten können sowohl durch entzündliche Reaktionen als auch durch monoklonale Leichtkettenproduktion erhöht sein. Um die Daten mit fraglicher Entzündungsreaktion ausschließen zu können wurden die oligoklonalen Banden betrachtet, diese zeigen sehr sensitiv eine Entzündungsreaktion an mit Muster 2 oder Muster 3, also isolierten oligoklonalen Banden im Liquor. Schließt man diese aus der

Gesamtrechnung aus zeigt sich eine sehr wahrscheinliche Erhöhung des FLC-Quotienten durch monoklonale Leichtkettenproduktion bei acht Patient\*innen (30%), bei 19 Patient\*innen (70%) kann nicht sicher von einer monoklonalen Leichtkettenproduktion ausgegangen werden (Tabelle 21).

	ZNSL N(%)	PZNSL N(%)	SZNSL N(%)	Sohne ZNS N(%)
QFLC erhöht bereinigt	7 (41)	2 (29%)	5 (50)	1 (9)
QFLC nach Bereinigung nicht erhöht	10 (59)	5 (71)	5 (50)	10 (91)

Tabelle 21 Bereinigte QFLC-Erhöhungen

In den unterschiedlichen Gruppen sieht man eine unterschiedliche Verteilung des Ergebnisses. In der Gruppe der ZNSL zeigen sieben (41%) einen erhöhten QFLC, bei messbarer  $\lambda$ -FLC im Liquor und ohne isolierte oligoklonale Banden im Liquor, bei zehn (59%) zeigen sich die QFLC mit den genannten Kriterien nicht erhöht. Dieses Ergebnis setzt sich zusammen aus zwei (29%) Erhöhungen mit erfüllten Kriterien in der PZNSL-Gruppe und fünf (71%) ohne die definierte Erhöhung der QFLC, in der SZNSL-Gruppe zeigen sich vier (40%) der Fälle erhöht und sechs (60%) nicht erhöht. In der Gruppe der systemischen Lymphome ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems konnte ein (9%) erhöhter QFLC und bei zehn Fällen (91%) keine Erhöhung erfasst werden.

Vergleicht man dieses Ergebnis mit dem der Liquor-FACS-Befunde zeigen sich ähnliche Zahlen. Es fällt allerdings das umgekehrte Verhältnis bei der PZNSL-Gruppe auf, hier könnte eine intrathekale Leichtkettensynthese seltener vorkommen (Tabelle 21, Tabelle 22).

	ZNSL N(%)	PZNSL N(%)	SZNSL N(%)	Sohne ZNS N(%)
Sichere Leichtkettenrestriktion im Liquor	9 (53)	5 (71)	4 (40)	1 (9)
Keine sichere Leichtkettenrestriktion im Liquor	8 (47)	2 (29)	6 (60)	10 (91)

Tabelle 22 Leichtkettenrestriktion in der Liquor-FACS-Analyse

Vergleicht man nun die beiden Gruppen ZNSL und systemisches Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems unter dem Gesichtspunkt der Ergänzung der FLC und FACS Befunde des Liquors erkennt man in der ZNSL Gruppe vier Patient\*innen (25%) mit positivem FACS aber negativem FLC Ergebnis, vier Patient\*innen (25%) mit positivem FACS und positivem FLC Ergebnis, drei (19%) mit negativem FACS aber positivem FLC-Ergebnis und fünf (31%) mit negativen Befunden in beiden Untersuchungen. In der Gruppe des systemischen Lymphoms ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems zeigt sich ein (9%) positiver FACS- bei

negativem FLC-Befund, kein positives FACS- und FLC-Ergebnis, ein (9%) negatives FACS- bei positivem FLC-Ergebnis und neun (82%) Patient\*innen mit negativen Befunden in den FACS- und FLC-Analysen (Tabelle 23).

	FACS+/FLC-	FACS+/FLC+	FACS-/FLC+	FACS-/FLC-
ZNSL	4 (25)	4 (25)	3 (19)	5 (31)
SL ohne ZNS	1 (9)	0	1 (9)	9 (82)

*Tabelle 23 Vergleich der Befunde FACS/FLC*

In dieser Untersuchung reduziert sich die Wahrscheinlichkeit der ZNSL Gruppe mit negativem Ergebnis der FACS-Analyse durch Kombination der FLC-Analyse und Quotientenbestimmung von 50% auf 31%.

## 5 Diskussion

Intrathekale B-Zell-Neoplasien sind rasch fortschreitende Erkrankungen, die unbehandelt innerhalb von Wochen bis Monaten zum Tode führen können<sup>53</sup>. Die histopathologische Sicherung der Diagnose durch eine Biopsie bezeichnet den Goldstandard. Die bislang untersuchten Biomarker im Liquor scheinen Schwächen in Sensitivität oder Spezifität zu haben. Erhöhte Werte freier Leichtketten im Liquor und Serum könnten theoretisch auf eine monoklonale B-Zell-Population im zentralen Nervensystem zurückzuführen sein. Diese Studie untersuchte die FACS-Analysen und Liquorparameter von Patient\*innen mit PZNSL, SZNSL und systemischen Lymphomen ohne klinisch apparente Beteiligung des zentralen Nervensystems. Es wurden die  $\kappa$ - und  $\lambda$ -FLC erhoben, Ratios und Quotienten berechnet und teilweise mit denen einer Vergleichskohorte von 989 Patient\*innen mit nicht-entzündlichen neurologischen Erkrankungen verglichen. Es sollte die Hypothese überprüft werden, ob der Nachweis einer monoklonalen Leichtkettensynthese im Liquor durch nephelometrische Bestimmung der FLC ein Marker für B-Zell-Neoplasien mit intrathekaler Beteiligung sein kann.

In dieser Studie konnte dargestellt werden, dass FLC in Liquor und Serum bei der Lymphomgruppe Auffälligkeiten zeigt im Vergleich zur NIND-Gruppe. Die beobachteten Auffälligkeiten sind in größeren Studien zu überprüfen, die kleine Studienpopulation kann hier nur als explorative Untersuchung gesehen werden.

Die Ergebnisse der gesammelten Daten mit Ausnahme der FLC zeigt im Gruppenvergleich kaum Signifikanz, hier fehlt der Vergleich zu einer Kontrollgruppe mit unauffälligen Werten. Auch der Vergleich zwischen den Lymphomgruppen bei den FLC zeigt keine signifikanten Unterschiede, die Spezifität ist hier gering. Um dies abschließend beurteilen zu können sollten die Patienten mit systemischem Lymphom ohne Beteiligung des zentralen Nervensystems weiter beobachtet werden. Da eine Manifestation im zentralen Nervensystem eine relevante Komplikation bei B-Zell-Neoplasien darstellt ist auch denkbar, dass, bei den hier untersuchten Patient\*innen, mit den üblichen diagnostischen Methoden, zwar noch keine Beteiligung des zentralen Nervensystems nachgewiesen werden konnte, eine gesteigerte intrathekale

---

<sup>53</sup> Vgl. von Baumgarten L, Illerhaus G, Korfel A, Schlegel U, Deckert M, Dreyling M 2018.

Leichtkettensynthese aber bereits darauf hindeutete und sich im Verlauf eine Beteiligung des zentralen Nervensystems auch mit anderen diagnostischen Methoden erfassen ließe. Hier handelt es sich um eine Momentaufnahme ohne die Dokumentation der weiteren Krankheitsgeschichte.

Im Vergleich der absoluten Werte fällt auf, dass es bei keiner der Gruppen eine Normalverteilung gibt. Zum Vergleich der Gruppen wurde aus diesem Grund der Median herangezogen.

In der differentialdiagnostischen Abklärung bei Verdacht auf ein PZNSL oder eine Beteiligung des zentralen Nervensystems bei einem bekannten systemischen Lymphom kann die Abgrenzung zu einer primär entzündlichen Erkrankung ein Problem darstellen, beispielsweise zu einer granulomatösen Erkrankung oder bei bekanntem systemischen Lymphom eine paraneoplastische Erkrankung des Nervensystems oder eine infektiöse Affektion durch die Schwächung des Immunsystems durch die B-Zell-Neoplasie selbst oder die entsprechenden Chemo- oder Immuntherapien.

$\beta$ -2-Mikroglobulin ist bei vielen Differentialdiagnosen der intrathekalen Beteiligung eines Lymphoms ebenfalls erhöht<sup>54</sup>. Auch CXCL13 ist bei vielen Infektionen des Nervensystems erhöht<sup>55</sup>. Eine Ferritinerhöhung im Liquor ist auch ein relativ unspezifischer Marker<sup>56</sup>. Die geringe Spezifität der Marker Ferritin,  $\beta$ -2-Mikroglobulin und CXCL13 findet ihren Ausdruck darin, dass diese Marker nicht eindeutig zwischen Lymphomerkkrankung mit sicherer intrathekaler Beteiligung und ohne diese Beteiligung unterscheiden. Spezifischere Biomarker für eine intrathekale Lymphommanifestation sind also notwendig.

Die FACS-Analyse kann indirekt die Monoklonalität der Lymphomzellen nachweisen, die das Nervensystem betreffen, wenn eine ausreichende Anzahl dieser Zellen auch im Liquor zirkuliert und/oder nicht zu viele andere B-Lymphozyten als entzündliche Mitreaktion von dem Lymphom rekrutiert werden. Letzteres könnte theoretisch das überzufällige Vorkommen von B-Zellen mit Restriktion auf nur eine Leichtkette maskieren. Der Nachweis der zellgebundenen Leichtketten im FACS und der freigesetzten freien Leichtkette nur einer der beiden Subtypen ist nicht gleichzusetzen. Während der erste Fall die Zirkulation der Zellen im Liquorraum voraussetzt, ist beim zweiten Fall eine Freisetzung dieser Proteine in größeren Mengen Voraussetzung. Dies

---

<sup>54</sup> vgl Adachi 1991.

<sup>55</sup> Vgl. Smíšková et al. 2023.

<sup>56</sup> Vgl. Kolodziej et al. 2014.

kann theoretisch je nach Lymphomsubtyp sehr unterschiedlich sein. Komplizierend kommt jedoch bei der Detektion einer „monoklonalen“ intrathekalen Leichtketten-Synthese hinzu, dass eine intrathekale Leichtkettensynthese auch bei den als Differentialdiagnosen möglichen entzündlichen Erkrankungen vorkommen kann. Hier muss einschränkend gesagt werden, dass bei entzündlichen Erkrankungen in der Regel eine intrathekale Leichtkettensynthese mit gleichzeitigem Nachweis oligoklonaler Banden auftritt (beispielsweise bei der Multiplen Sklerose). Von Lymphomen wird oft kein IgG gebildet, sondern IgA oder IgM<sup>57</sup>. Damit ist die intrathekale Leichtkettensynthese hier in der Regel nicht Ausdruck einer oligoklonalen intrathekalen IgG-Synthese. Im Rahmen dieser Arbeit wurde deshalb eine intrathekale Leichtkettensynthese nicht als eindeutig monoklonal eingestuft, wenn gleichzeitig isolierte oligoklonale Banden im Liquor nachweisbar waren. Erschwerend bei dieser Arbeit kommt hinzu, dass sich der Nachweis der intrathekalen  $\kappa$ -FLC-Synthese inzwischen gut etabliert hat, da dieser aufgrund der kleineren Größe der  $\kappa$ -Leichtkette und der größeren Zahl an  $\kappa$ -Lymphozyten zum Nachweis einer oligoklonalen intrathekalen Leichtkettensynthese eine höhere Sensitivität aufweist als die  $\lambda$ -Leichtkette. Möglicherweise wird deshalb die Messung der  $\lambda$ -Leichtkette nur noch selten in der Nephelometrie des Liquors eingesetzt. Das könnte der Grund dafür sein, dass die aktuelle Ausführung der Reagenzien, mit derer im Rahmen der Arbeit 17 Proben gemessen wurden, eine relativ hohe Nachweisgrenze von 0,51 mg/l haben. Diese führte dazu, dass die  $\lambda$ -FLC-Konzentration bei vielen Proben, die für diese Arbeit gemessen wurden, nicht sicher quantifiziert werden konnte und unter der Annahme des höchstmöglichen  $\lambda$ QFLC sogar eine intrathekale Synthese vorlag. Auch diese Werte mussten letztlich ausgeschlossen werden.

Unter der Sichtweise, dass unspezifische Befunde im Sinne einer möglicherweise oligoklonalen intrathekalen oder artifiziellen Leichtkettensynthese ausgeschlossen werden, zeigt sich, dass eine intrathekale „monoklonale“ Leichtkettensynthese einen komplementären Marker darstellen könnte, der bei etwa einem Drittel aller intrathekalen Lymphome die FACS-Resultate unabhängig bestätigen kann und bei einem weiteren Drittel trotz negativem FACS-Befund einen Hinweis auf ein intrathekales Lymphom liefert.

---

<sup>57</sup> Vgl. Lothar Thomas.

## Literaturverzeichnis

### 6 Literaturverzeichnis

Adachi, N. (1991): Beta-2-microglobulin levels in the cerebrospinal fluid: their value as a disease marker. A review of the recent literature. In: *European neurology* 31 (4), S. 181–185. DOI: 10.1159/000116674.

Alaggio, Rita; Amador, Catalina; Anagnostopoulos, Ioannis; Attygalle, Ayoma D.; Araujo, Iguaracyra Barreto de Oliveira; Berti, Emilio et al. (2022): The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. In: *Leukemia* 36 (7), S. 1720–1748. DOI: 10.1038/s41375-022-01620-2.

Baraniskin, Alexander; Schroers, Roland (2021): Liquid Biopsy and Other Non-Invasive Diagnostic Measures in PCNSL. In: *Cancers* 13 (11). DOI: 10.3390/cancers13112665.

Bijan Fink, Dr. med. Norbert Ostendorf, Dr. Frank Antwerpes, Gregor Böttiger (2019): Reiber-Schema. nach Hansotto Reiber (geb. 1949), deutscher Biochemiker. Hg. v. DocCheck Community GmbH. Online verfügbar unter <https://flexikon.doccheck.com/de/Reiber-Schema>, zuletzt aktualisiert am 26.11.2019, zuletzt geprüft am 06.09.2023.

Bobillo, Sabela; Khwaja, Jahanzaib; Ferreri, Andrés J. M.; Cwynarski, Kate (2023): Prevention and management of secondary central nervous system lymphoma. In: *Haematologica* 108 (3), S. 673–689. DOI: 10.3324/haematol.2022.281457.

Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF, o.V. (2022): Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): Diagnostik, Therapie und Nachsorge für erwachsene Patient\*innen mit einem diffusen großzelligen B-Zell-Lymphom und verwandten Entitäten. Langversion 1.01. Hg. v. Leitlinienprogramm Onkologie der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e. V. (AWMF), Deutschen Krebsgesellschaft e. V. (DKG) und der Stiftung Deutsche Krebshilfe (DKH) (AWMF-Registernummer: 018/038OL). Online verfügbar unter <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/dlbcl/>, zuletzt geprüft am 20.07.2023.

Dr. Frank Antwerpes, Dr. med. Norbert Ostendorf, Clemens Wilhelm, Dr. No (2022): Durchflusszytometrie. Hg. v. DocCheck Community GmbH. Online verfügbar unter <https://flexikon.doccheck.com/de/Durchflusszytometrie>, zuletzt aktualisiert am 13.05.2022, zuletzt geprüft am 08.09.2023.

Dr. Gerd Herold (Hg.) o.V. (2021): Innere Medizin. 2021. Köln: Herold. S.80  
e.Medpedia (Hg.): Physiologie der B- und T-Lymphozyten. o.V. Pädiatrie. Springer Verlag. Online verfügbar unter [https://www.springermedizin.de/emedpedia/paediatric/physiologie-der-b-und-t-lymphozyten?epediaDoi=10.1007%2F978-3-642-54671-6\\_94](https://www.springermedizin.de/emedpedia/paediatric/physiologie-der-b-und-t-lymphozyten?epediaDoi=10.1007%2F978-3-642-54671-6_94), zuletzt geprüft am 22.08.2023.

Ernst, Moritz; Dührsen, Ulrich; Hellwig, Dirk; Denz, Georg; Skoetz, Nicole; Borchmann, Peter (2023): Clinical practice guideline: Diffuse large B-cell-lymphoma and related entities - diagnosis, treatment and follow-up. In: *Dtsch Arztebl Int* 2023 (120), S. 289–296. Online verfügbar unter 10.3238/arztebl.m2023.0035.

- Gulli, F.; Marino, M.; Napodano, C.; Pocino, K.; Pandolfi, F.; Gasbarrini, A. et al. (2020): Biomarkers in HCV-related mixed cryoglobulinemia patients with non-Hodgkin lymphoma. In: *European review for medical and pharmacological sciences* 24 (15), S. 8067–8074. DOI: 10.26355/eurev\_202008\_22490.
- Hegen, Harald; Arrambide, Georgina; Gnanapavan, Sharmilee; Kaplan, Batia; Khalil, Michael; Saadeh, Ruba et al. (2023): Cerebrospinal fluid kappa free light chains for the diagnosis of multiple sclerosis: A consensus statement. In: *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 29 (2), S. 182–195. DOI: 10.1177/13524585221134217.
- Hollender, A.; Kvaloy, S.; Nome, O.; Skovlund, E.; Lote, K.; Holte, H. (2002): Central nervous system involvement following diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma: a risk model. In: *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* 13 (7), S. 1099–1107. DOI: 10.1093/annonc/mdf175.
- Hu, Yao; Xiang, Jin; Luo, Xiao; Lu, Meijuan; Xu, Dongwen; Chen, Bobin; Guan, Ming (2022): Application of cerebrospinal fluid free light chain in diagnosis of primary central nervous system lymphoma and monitoring of associated chemotherapy efficacy. In: *Clinica Chimica Acta* 533, S. 48–52. DOI: 10.1016/j.cca.2022.06.011.
- Jennifer R Brown, MD, PhD Arnold S Freedman, MD (2023): Overview of the pathobiology of the non-Hodgkin lymphomas. Hg. v. UpToDate, Inc. Online verfügbar unter [https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-pathobiology-of-the-non-hodgkin-lymphomas?search=non%20hodgkin%20lymphoma&source=search\\_result&selectedTitle=5~150&usage\\_type=default&display\\_rank=5](https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-pathobiology-of-the-non-hodgkin-lymphomas?search=non%20hodgkin%20lymphoma&source=search_result&selectedTitle=5~150&usage_type=default&display_rank=5), zuletzt aktualisiert am 10.03.2023, zuletzt geprüft am 07.2023.
- Kolodziej, Malgorzata A.; Proemmel, Peter; Quint, Karl; Strik, Herwig M. (2014): Cerebrospinal fluid ferritin--unspecific and unsuitable for disease monitoring. In: *Neurologia i neurochirurgia polska* 48 (2), S. 116–121. DOI: 10.1016/j.pjnns.2013.09.004.
- lecturio GmbH (Hg.) (2023) o.V.: Non-Hodgkin-Lymphome. Online verfügbar unter <https://www.lecturio.de/artikel/medizin/non-hodgkin-lymphome/>, zuletzt aktualisiert am 16.02.2023, zuletzt geprüft am 22.08.2023.
- Lothar Thomas: Labor und Diagnose. Online verfügbar unter [https://www.labor-und-diagnose.de/k52.html#\\_idTextAnchor15270](https://www.labor-und-diagnose.de/k52.html#_idTextAnchor15270), zuletzt geprüft am 22.08.2023.
- Maeyama, Masahiro; Sasayama, Takashi; Tanaka, Kazuhiro; Nakamizo, Satoshi; Tanaka, Hiroto; Nishihara, Masamitsu et al. (2020): Multi-marker algorithms based on CXCL13, IL-10, sIL-2 receptor, and  $\beta$ 2-microglobulin in cerebrospinal fluid to diagnose CNS lymphoma. In: *Cancer medicine* 9 (12), S. 4114–4125. DOI: 10.1002/cam4.3048.
- Medicus of Borg (2006): Quotientendiagramm zur Beurteilung der Immunglobuline im Liquor cerebrospinalis. Online verfügbar unter <https://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Reiber-Diagramm.jpg>, zuletzt geprüft am 03.10.2023.
- Nakano, Takanari; Matsui, Masanori; Inoue, Ikuo; Awata, Takuya; Katayama, Shigehiro; Murakoshi, Takayuki (2011): Free immunoglobulin light chain: Its biology and implications in diseases. In: *Clinica Chimica Acta* 412 (11), S. 843–849. DOI: 10.1016/j.cca.2011.03.007.

- Pratt, Guy (2008): The evolving use of serum free light chain assays in haematology. In: *British journal of haematology* 141 (4), S. 413–422. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07079.x.
- Prof. Dr. Hans-Peter Buscher (2023): BETA2-Mikroglobulin. Hg. v. Facharztwissen. Mediconsult GmbH. Online verfügbar unter <https://www.medicoconsult.de/beta2-mikroglobulin/>, zuletzt geprüft am 29.08.2023.
- Prof. Dr. Uwe Zettl, Dr. Reinhard Lehmitz, Dr. Eilhard Mix (2005): Klinische Liquordiagnostik. 2. Aufl. Berlin: Walter de Gruyter GmbH & Co. KG. S.50, S.62
- Schroers, Roland; Baraniskin, Alexander; Heute, Christoph; Kuhnenn, Jan; Alekseyev, Andriy; Schmiegel, Wolff et al. (2010): Detection of free immunoglobulin light chains in cerebrospinal fluids of patients with central nervous system lymphomas. In: *European journal of haematology* 85 (3), S. 236–242. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2010.01475.x.
- Senel, Makbule; Mojib-Yezdani, Fatemeh; Braisch, Ulrike; Bachhuber, Franziska; Lewerenz, Jan; Ludolph, Albert C. et al. (2019): CSF Free Light Chains as a Marker of Intrathecal Immunoglobulin Synthesis in Multiple Sclerosis: A Blood-CSF Barrier Related Evaluation in a Large Cohort. In: *Frontiers in immunology* 10, S. 641. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00641.
- Sener, Ugur; Kumthekar, Priya; Boire, Adrienne (2021): Advances in the diagnosis, evaluation, and management of leptomeningeal disease. In: *Neuro-oncology advances* 3 (Suppl 5), v86-v95. DOI: 10.1093/noajnl/vdab108.
- Smišková, Dita; Džupová, Olga; Moravcová, Lenka; Pícha, Dušan (2023): Cerebrospinal fluid CXCL13 in non-borrelial central nervous system infections: contribution of CXCL13 to the differential diagnosis. In: *Infectious diseases (London, England)* 55 (8), S. 551–558. DOI: 10.1080/23744235.2023.2222178.
- Taylor, Jennie W.; Flanagan, Eoin P.; O'Neill, Brian P.; Siegal, Tali; Omuro, Antonio; Deangelis, Lisa et al. (2013): Primary leptomeningeal lymphoma: International Primary CNS Lymphoma Collaborative Group report. In: *Neurology* 81 (19), S. 1690–1696. DOI: 10.1212/01.wnl.0000435302.02895.f3.
- Tumani H., Petereit H.-F. et al (2019): Lumbalpunktion und Liquordiagnostik. S1-Leitlinie. Hg. v. Deutsche Gesellschaft für Neurologie, Deutsche Gesellschaft für Liquordiagnostik und klinische Neurochemie (Leitlinien für Diagnostik und Therapie in der Neurologie). Online verfügbar unter [www.dgn.org/leitlinien](http://www.dgn.org/leitlinien).
- van Westrhenen, Anouk; Smidt, Lisanne C. A.; Seute, Tatjana; Nierkens, Stefan; Stork, Abraham C. J.; Minnema, Monique C.; Snijders, Tom J. (2018): Diagnostic markers for CNS lymphoma in blood and cerebrospinal fluid: a systematic review. In: *British journal of haematology* 182 (3), S. 384–403. DOI: 10.1111/bjh.15410.
- von Baumgarten L, Illerhaus G, Korfel A, Schlegel U, Deckert M, Dreyling M (2018): The diagnosis and treatment of primary CNS lymphoma - an interdisciplinary challenge. In: *Dtsch Arztebl Int* 2018 (115), S. 419–426. Online verfügbar unter 10.3238/arztebl.2018.0419.
- Witzig, Thomas E.; Maurer, Matthew J.; Habermann, Thomas M.; Link, Brian K.; Micallef, Ivana N. M.; Nowakowski, Grzegorz S. et al. (2014): Elevated monoclonal and polyclonal serum immunoglobulin free light chain as prognostic factors in B- and T-cell non-Hodgkin lymphoma. In: *American journal of hematology* 89 (12), S. 1116–1120. DOI: 10.1002/ajh.23839.

**Anhang**

Anhang 1: Ethikvotum ..... Seite X



ulm university universität  
**uulm**

## Ethikkommission

Universität Ulm • Ethikkommission • 89069 Ulm

Herrn  
PD Dr. med. Jan Lewerenz  
Universitätsklinikum Ulm  
Klinik für Neurologie im  
Rehabilitationskrankenhaus (RKU)  
Oberer Eselsberg 45/1  
89081 Ulm

Vorsitz: Prof. Dr. Florian Steger

Geschäftsführung: Prof. Dr. Ch. Lenk  
Geschäftsstelle: Iris Seitz

Hausadresse:  
Helmholtzstraße 20 (Oberer Eselsberg)  
89081 Ulm  
Telefon: +49 - (0)731 - 500-22050/-33722  
Telefax: +49 - (0)731 - 500-22036  
Email: [ethik-kommission@uni-ulm.de](mailto:ethik-kommission@uni-ulm.de)  
<http://www.uni-ulm.de/ethikkommission/>

Unser Zeichen  
14/20 – FSt./bal.

Durchwahl  
22050

Datum  
30.01.2020

n/an die Mitglieder der Ethikkommission der Universität Ulm

### Antrag-Nr. 14/20 – Die Rolle der Leichtketten im Liquor bei der Differentialdiagnose entzündlicher und maligne-hämatologischer Erkrankungen des ZNS

Sehr geehrter Herr PD Dr. Lewerenz,

Ihr o.g. Antrag lag der Ethikkommission der Universität Ulm zur Beratung vor. Gemäß § 3 Absatz 8 der Geschäftsordnung der Ethikkommission wurde über diesen am 29.01.2020 außerhalb der Sitzung der Ethikkommission entschieden.

Bei diesem Forschungsprojekt handelt es sich um wissenschaftliche Untersuchungen an Liquor- und Serumproben von Patienten, die der Verwendung derselben für Forschungsprojekte bereits zugestimmt haben. Ebenfalls sollen Daten des Liquorbefundes retrospektiv erhoben werden, für die keine explizite Zustimmung der Patienten vorliegt.

**Die Bewertung durch die Ethikkommission der Universität Ulm mit einer zustimmenden Stellungnahme abgeschlossen.** Es bestehen keine ethisch begründbaren Bedenken gegen die Durchführung der geplanten Untersuchungen.

Wir bitten jedoch folgende Hinweise zu beachten und umzusetzen:

Patienten, welche eine Forschungsteilnahme ausdrücklich abgelehnt haben, sind nicht in die Auswertung mit einzubeziehen. Wenn Daten von Patienten in die Studie einbezogen werden, welche nicht explizit in die Verwendung für die Forschung eingewilligt haben, so sind diese Daten nach Abschluss der Auswertung vollständig zu anonymisieren. Dies ist in Pkt. 5 des Ethikantrages entsprechend zu ändern.

Wir bitten um Übersendung der geänderten Dokumente einschließlich Schriftverkehr sowohl als Original als auch in elektronischer Form mit **Markierung** der geänderten Textpassagen, wobei wir darum bitten, dass bei den überarbeiteten Formularen jeweils eine fortlaufende Versionsnummer (z.B. in der Fußzeile) hinzugefügt wird.

Mitglieder der Kommission: Frau Prof. Dr. M. Dudeck, Prof. Dr. P. Gierschik, J. Glombek, Frau Prof. Dr. C. Herbert, Prof. Dr. J. Högel, Frau Prof. Dr. M. Kalbitz, Prof. Dr. Ch. Lenk, Prof. Dr. L.-H. Meyer, Prof. Dr. Ch. Montag, Frau Prof. Dr. B. Rack, Frau R. Rau, Prof. Dr. D. Rothenbacher, Prof. Dr. H. Schrezenmeier, Frau K. Stascheit, Prof. Dr. F. Steger, Prof. Dr. S. Stigenbauer, Frau M. Webber

Entsprechend der ausschließlich beratenden Funktion der Ethikkommission betrifft diese Bewertung nur die *berufsethische und berufsrechtliche Beurteilung* der Konzeption, der geplanten Methoden, der Durchführung und Überwachung des betreffenden Projekts sowie der beabsichtigten Patientenaufklärung.

**Die ärztliche und juristische Verantwortung verbleibt uneingeschränkt beim Projektleiter und den daran Mitwirkenden.**

- Wir weisen darauf hin, dass mit der Studie erst ab Datum dieses Votums begonnen werden darf.
- Bitte teilen Sie uns jede Änderung in der Konzeption des Projekts mit. Es muss dann geklärt werden, ob die Beurteilung der Ethikkommission noch Bestand hat.
- Die Ethikkommission der Universität Ulm geht davon aus, dass nicht-ärztliche Mitarbeiter speziell auf Verschwiegenheit verpflichtet werden.
- Wir gehen davon aus, dass sämtliche studienbedingten Mehrkosten nicht den Kassen in Rechnung gestellt und bei der Rekrutierung von Studienteilnehmern keine dienstlichen oder andere Abhängigkeitsverhältnisse ausgenutzt werden.
- Datenschutzrechtliche Aspekte von Forschungsvorhaben werden durch die Ethikkommission grundsätzlich nur kursorisch geprüft. Dieses Votum ersetzt mithin nicht die Konsultation des zuständigen Datenschutzbeauftragten.

Für die Durchführung der Studie wünschen wir Ihnen viel Erfolg und bitten an dieser Stelle um Übersendung des Abschlussberichts bzw. der entsprechenden Publikation zu gegebener Zeit.

Für die Ethikkommission der Universität Ulm



Prof. Dr. Florian Steger  
(Vorsitzender der Ethikkommission)

## Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich,

1. dass ich die vorliegende Bachelorarbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt habe.
2. dass ich alle Stellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen wurden, als solche kenntlich gemacht habe.
3. dass ich diese Arbeit bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt habe.
4. dass ich das Thema der Bachelorarbeit bisher weder im In- noch im Ausland einem Prüfer in irgendeiner Form als Prüfungsarbeit vorgelegt habe.

Mir ist bekannt, dass eine falsche Erklärung rechtliche Folgen haben kann.

Ulm, 03.10.2023  
Ort, Datum



.....  
Unterschrift