



Beyin Omurilik Sıvısı Analizlerinin Tanısal Kullanımı

Prof. Dr. Pınar Akan
Dokuz Eylül Ü. Tıp Fakültesi T. Biyokimya AD.
Dokuz Eylül Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Sinirbilimler AD.

Sunum İçerik

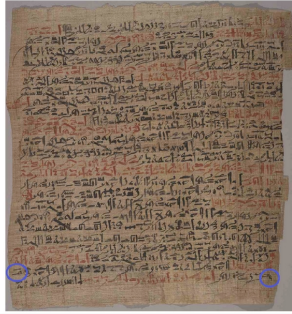
- Olgu örnekleri ile Rutin BOS analiz sonuçlarının yorumlanması
 - EFNS "BOS Klavuzu" önerileri doğrultusunda Rutin BOS analiz tavsiyeleri
- Multiple Skleroz ve Ayırıcı tanısı
 - Oligoklonal Bantın anlamı
 - BOS Tanısında Mevcut Durum
 - Olgu örnekleri ile BOS Oligoklonal bant analiz sonuçlarının yorumlanması

BOS'un Keşfi

- Mısırlı Imhotep
- Venedikli **Niccolo Massa**
- İtalyan **Domenico Felice Cotugno**
- Fransız **François Magendie**

- 16. yüzyıl başlarına kadar gerçekler keşfedilmedi.
- Embriyonik yaşam boyunca kolloid moleküllerin dönüşümü ile amniyotik sıvısından geldiği iddia ediliyor

- **liquor cerebrospinalis**
- "spiritus animalis" (hayvanın ruhu)

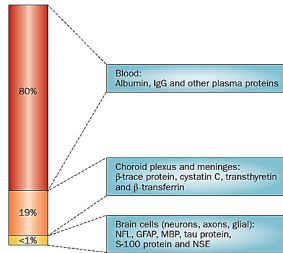


Beyin omurilik sıvısı (BOS) me

- Total BOS 150-165 mL
 - Ventrikül 32 mL (3. v. 1 mL);
 - Ventrikül dışı 133 mL
 - 30 mL spinal-subaraknoid boşluk
- Günde 3-4 kez yenilenir.
 - Yaşa bağlı olarak günlük turnover ~500 mL
- Interstisyel sıvı içeriği koroid pleksus tarafından sürekli "seyreltilir" ve tekrar tekrar yıkanır

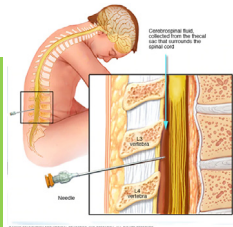


BOS PROTEİN KAYNAKLARI



Sonuçlar LP yeri ile ilişkilendirilmelidir

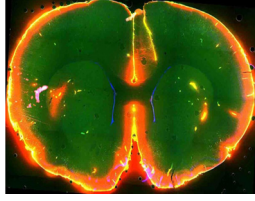
- Toplam protein ve albumin için nöral aks boyunca bir konsantrasyon gradyanı vardır
 - ❖ ventriküler sıvıdaki en düşük
 - ❖ lomber sak boyunca en yüksek
- LP ile elde edilen ilk 0-4 ml BOS'den son 21-24 ml BOS'ye kadar albumin'de belirgin bir azalma olur. (Sınıf I)
- Yaş, vücut ağırlığı, cinsiyet, dejeneratif bel hastalığı, hipotirodizm, alkol tüketimi (Sınıf II) ve sigara içilmesinden (Sınıf III) etkilenir.



*<https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/lumbar-puncture/about/pcp-20394631>

BOS LABORATUVAR TANI

- I. Enfeksiyöz koşullar
- II. BT (-) negatif subaraknoidal kanama
- III. SSS maligniteleri; Leptomeningeal metastazlarda
- IV. Kan-beyin bariyer geçirgenliği
- V. SSS demiyelinizan hastalıkları (MS) tanısal bir yardımcı olarak paha biçilmezdir.



- Meninkşler
 - Periventriküler alanlar
 - Temporo-bazal alanlar
 - Omurilik ve sinir kökleri
- «BOS Analitik Beyin»

*European Federation of Neurological Societies



*European Federation of Neurological Societies



Rutin parametreler*

- Glukoz
- Protein
- Hücresel Değişiklikler
- İmmüoglobulinler
- Albümin
- Laktat
- Bilirubin?

BOS değişkenlerinin birleştirilerek değerlendirilmesi
Tanısal sensitivite
Tanısal spesifisite

Oligoklonal Bant Analizi

BOS/Serum Oranı (Q)



- BOS'daki konsantrasyonlar **kan düzeyi ile ilişkili** verilmelidir

☐ Bakteriyel, Fungal ve Tüberküloz Menenjit

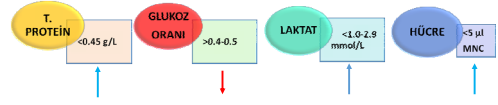
☐ Leptomeningeal metastaz

- Qalbumin $\uparrow$ BOS T. protein $\uparrow$ (Sınıf I)
- BOS laktat $\uparrow$ (Seviye B)
- Qglukoz $\downarrow$ (Seviye B)

RUTİN ANALİZLER

Yetişkin Lomber Ponksiyon İçin Referans Değerler*

*Routine cerebrospinal fluid (CSF) analysis, F. Deisenhammer, A. Bartos, R. Egg, N. E. Gilhus, G. Giovannoni, S. Rauer, S. Selbø, H. Tumani, 2015



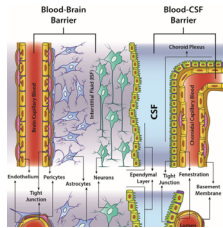
BOS albumin / T. Protein Oranı analizlerin tutarlılığı için kullanılabilir %57 (%35-80)

KAN –BEYİN BARIYERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

- BOS Antikor indeksleri
- RD'e göre **lineer değerlendirme yerine hiperbolik formüller veya grafiksel değerlendirme tercih edilmelidir.**

- BOS IgG indeksi* En sık
- BOS IgM indeksi
- BOS IgA indeksi
- Q albumin

BOS IgG indeksi= BOS IgG X Serum Alb / Serum IgG X BOS Alb



*Molecules 23(1):9 2017

Olgu 1 24 yaşında kadın hasta

BOS albumin 350 mg/L (R.D. 110-350 mg/L)
Serum albumin 52 g/L (RD. 35-50 g/L)

Q alb= 6.73 (R.D. 5.6)

Q IgG= 6.1

BOS IgG 55 mg/L (RD. 10-40 mg/L)

Serum IgG 9 g/L (RD 7, 67-1,590 g/L)

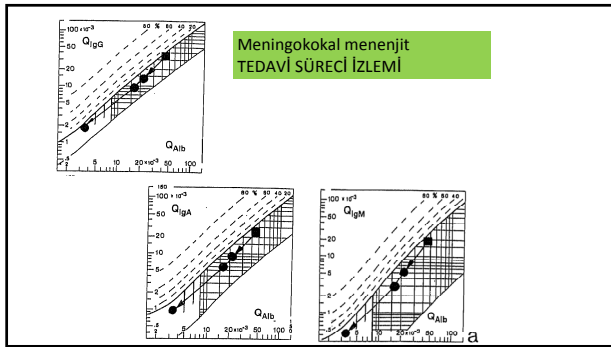
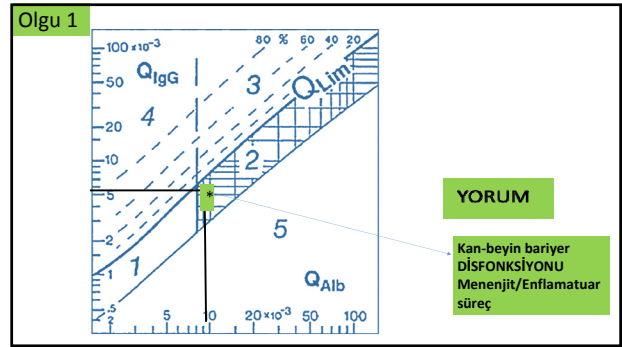
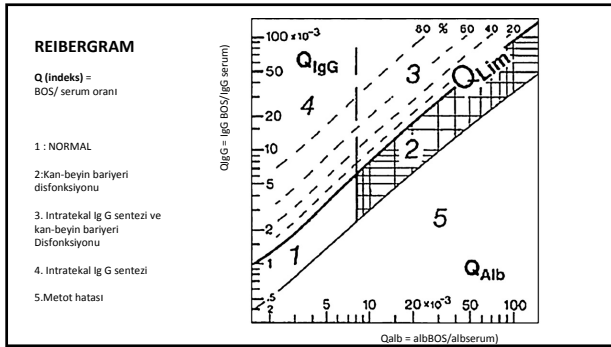
Referans aralık = 0.3 – 0.7
> 0.7 = SSS kaynaklı
< 0.3 = telafi edilemez BBB bozukluğu

BOS IgG İNDEKSİ= $\frac{2850}{3150} \times \frac{55 \times 52}{350 \times 92} = 0.9$

YORUM

> 0.7 = SSS kaynaklı
?





BOS İmmunglobulinleri

EFNS EUROPEAN FEDERATION OF NEUROLOGICAL SOCIETIES

- İntratekal inflamasyonla ilişkili hastalıklarda , intratekal IgA ve IgM sentezi olabilir.
- IgA ve IgM ayırıcı tanı için önemlidir
- Oligoklonal IgM varlığının prognostik değeri olabilir

<http://www.efns.org/EFNSContinuing-Medical-Education-online.301.0.html>
* European Handbook of Neurological Management, Volume 2, 2nd edition, 2011

IgM ve IgA analizlerinin önemi

- **Nörotüberküloz**, (IgA, laktat ve QAlb)
- **Beyinde Non-Hodgkin lenfoma** (IgM ve fırsatçı tümör)
- Fasiyal sinir felci nedeni (Ayrıca tanımlı IgM)
- Nörotripozomiyoz - (Beyin tutulumunun tespiti için IgM)
- Nöroborrelyoz - (Tipik üç sınıf Ig artışıyla IgM baskınlığı)
- **Beyin apsesi** (IgA)
- X'e bağlı adrenolekdistrofi (sadece dimerik IgA)
- Nörofilis (IgA sentezi yok, IgM farklı patolojileri ayırt eder)
- **HIV ensefalitinde fırsatçı enfeksiyon** (üç sınıf Ig yanıtı)
- Multipl skleroz / ADEM (MRZ antikorları)

Hücre sayısı artmış
Yaşa göre QAlb >
QIgA > QIgG
laktat düzeyi artmış > 3.4 mmol/l
• Sonuçların anlamı
Kan BOS bariyeri disfonksiyonu,
Intratekal IgA sentezi mevcut,
Inflamatuvar süreç
NÖROTÜBERKÜLOZ

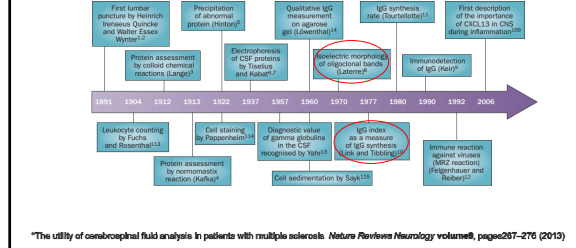
Demyelinizan Hastalıklar

- İnsanda görülen en sık demiyelinizan hastalık
Multiple Skleroz
- Bilinmeyen faktörler, genler ve çevresel etkileşimle birlikte, esas olarak **otoreaktif T lenfositlere** ve OG yıkımına dayanan SSS ile sınırlı enflamatuvar-demyelinizan lezyonlara yol açmaktadır

Neuron
Node of Ranvier
Oligodendrocyte
Myelin
Signal
Macrophage
T Cell Exiting Blood Vessel
T Cell Adhering to Blood Vessel Lumen
Pericyte
Vessel

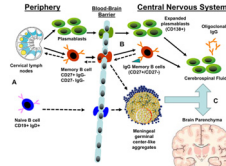
MS TİPLERİ

- **Tekrarlayan remisyonla uğrayan MS (RR-MS)**
 - Ortalama 20 yıllık bir süre sonunda sekonder progresif MS'e (SP-MS) ilerleyen en yaygın hastalık şeklidir
- **Sekonder progresif MS (SP-MS)**
 - akut alevlenmeler olsun veya olmasın yaşa bir şekilde biriken sakatlıkla ve mikrogial aktivasyona bağlı patolojik değişiklikleriyle karakterizedir
- **Primer progresif MS (PP-MS)**
 - Hastaların az bir kısmı, kronik inflamasyon ve nörodegenerasyonun bir arada görüldüğü primer progresif MS (PP-MS) ile karşı karşıya kalmaktadır, bu da **girişimsiz akson kaybına ve yavaşça biriken sakatlığa** yol açmaktadır.
- **Klinik izole sendrom**
 - Multiple skleroz (MS) genç erişkinlerin %85'inde hastalık başlangıcı, optik sinirleri, beyin sapını veya omurilik ağlinden bir klinik izole sendrom (IS) şeklinde ortaya çıkar.



OKB'nin Kökeni ve Anlamı

- **Intratekal (SSS içi) B-lenfosit klonal artışı ve sınırlı heterojenliği olan immüoglobulinler üreten uzun ömürlü plazma hücreleri ile** karakterize edilir.
- OKB, SP-MS 'de meningeal lenfoid folikül benzeri yapılar içerisinde üretilir*



*Magliozzi R, Howell O, Vora A, et al. Meningeal B-cell follicles in secondary progressive multiple sclerosis associate with early onset of disease and severe cortical pathology. *Brain*. 2007;130:1089-1104.

**Jones GW, Jones SA. Ectopic lymphoid follicles: inducible centres for generating antigen-specific immune responses within tissues. *Immunology*. 2016;147:144-151.

OKB sadece patojenik enfeksiyöz ajanlara antijen odaklı tepkiler değildir!

- İmmüoglobulin genlerinde **somatik hipermutasyon**
- **Yüksek afiniteli antikorlar***
- Antikor profili, enfeksiyöz ajanlara, yani iyi tanımlanmış hedeflere immün tepkilerin tipik bir örneği ancak MS ile alakalı antijenik hedefler henüz net olarak bilinmemektedir

*Obermeier B, Mentle R, Malotka J, et al. Matching of oligoclonal immunoglobulin transcriptomes and proteomes of cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *Nat Med*. 2008;14:688-693.

MS ve Çoklu Tanı Kriterleri

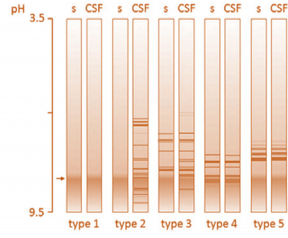
- **1965 Schumacher kriterleri**
- **1983 Poser kriterleri**
 - "Laboratuvar destekli kesin MS" BOS oligoklonal IgG bantlarının (OKB)
- **McDonald tanı kriterleri (2001 ve 2005)**
 - MRG, BOS analizi ve görsel uyandırılmış potansiyellerin klinik tanıya katkıda bulunur
- **McDonald tanı kriterleri 2011**

2005 , Kuzey Amerika-Avrupa konsensüsü

- BOS analizi
 - IEF ve immünoфиксasyonun (IgG)
 - MS teşhisinde en fazla duyarlılık ve özgüllük ile " altın standart " .
- Manyetik rezonans görüntüleme (MRG)
- Visual evoked potansiyeller
- Klinik Tanı

Arch Neurol 2005 Jun;62(6):665-70.

Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement.



- Tip 1 Normal
- Tip 2 Multiple Skleroz (MS)
- Tip 3 Sistemik hastalık + MS
- Tip 4 Sistemik Hastalık
 - Tipik örnekler: Guillain - Barre sendromu, akut yayılmış ensefalomyelit (ADEM) ve sistemik enfeksiyonlar
- Tip 5 : Paraproteinemi
 - Tipik örnekler: Miyelom, belirlenmemiş önemli olan monoklonal gamopati (MGUS)

*European Handbook of Neurological Management: Volume 1, 2nd Edition Edited by N. E. Gilhus, M. P. Barnes and M. Brainin © 2011 Blackwell Publishing Ltd. ISBN: 978-1-4051-8833-2

2011 McDonald Kriterleri

- MRG ön planda
- Hastanın Teşhisi 1 yıllık hastalık ilerlemesinin klinik olarak değerlendirilmesine (geriye dönük veya ileriye dönük) dayanır
- En az üç kriterden ikisi (+)
- I. Beyinde yer alan
- II. Omurilikte yer alan (en az iki lezyon)

III. Pozitif BOS OKB ve / veya yüksek IgG indeksi

PP-MS hariç «BOS OKB» tanı kriterlerinde şart değil !

An update on the use of cerebrospinal fluid analysis as a diagnostic tool in multiple sclerosis
EXPERT REVIEW OF MOLECULAR DIAGNOSTICS, 2017

2011 McDonald Kriterleri

BOS kriterleri için iki sorun vardır*;

1. OKB ve IgG indeksi eşdeğer değildir, çünkü OKB intratekal IgG üretimini göstermek için en hassas aracı temsil eder **
2. IgG indeksi, enfeksiyon nedeniyle kan-BOS bariyerinin geçirgenliği arttığında yanlış pozitif sonuçlar verebilir

Intratekal IgG sentezi çeşitli nicel yöntemlerle ölçülebilir, ancak MS tanısı için oligoklonal bantların uygun yöntemlerle tespiti, mevcut herhangi bir formülenden üstündür (Seviye A)** .

*An update on the use of cerebrospinal fluid analysis as a diagnostic tool in multiple sclerosis EXPERT REVIEW OF MOLECULAR DIAGNOSTICS, 2017

**European Handbook of Neurological Management, Volume 2, 2nd edition, 2011

MS için McDonald kriterlerinin artıları ve eksileri

- Meta-analiz* ve büyük çok merkezli bir çalışmanın** verilerinin BOS OKB'nin klinik olarak izole edilmiş sendromdan klinik olarak kesin MS'e dönüşümünün bağımsız bir ön gördürücüsü olduğunu göstermiştir

*Dobson R, Ramagopalan S, Davis A, et al. Cerebrospinal fluid oligoclonal bands in multiple sclerosis and clinically isolated syndromes: a meta-analysis of prevalence, prognosis and effect of latitude. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2013;84:909-914

**Kuhle J, Disanto G, Dobson R, et al. Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: a large multicentre study. Mult Scler. 2015;21:1013-1024.

OKB testi nörologlara prognostik bilgi veriyor gibi görünmektedir

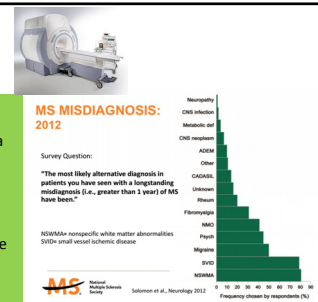
- Klinik olarak izole sendromlu hastalarda, varlığı MRG'den bağımsız olarak ikinci bir atak riskini 2 katına çıkarmaktadır ve yüksek OKB sayısı klinik olarak kesin MS'ye dönüşüm riski 2.5 kat artmaktadır*
- MS hastalarında, yokluğu iyi huylu bir hastalık seyrine ve daha az global ve bölgesel beyin atrofinine işaret edebilir**
- Genel olarak, bu bulguların ileriye dönük çok merkezli çalışmalarda geniş hasta serileri için onaylara ihtiyacı vardır.

*Dalla Costa G, Passerini G, Messina MJ, et al. Clinical significance of the number of oligoclonal bands in patients with clinically isolated syndromes. J Neuroimmunol. 2015;289:62-67.

**Rojas JJ, Tizio S, Patrucco L, et al. Oligoclonal bands in multiple sclerosis patients: worse prognosis? Neurol Res. 2012;34:889-892.

MRG ile Yanlış Tanı

- Migren, psikiyatrik hastalık fibromiyalji de spesifik olmayan beyaz cevher anormallikleri veya küçük damar iskemik lezyonları nedeni ile MS yanlış tanısı almışlardır*.
- Tüm bu koşullarda OKB(-)
- MS tanısında MRG görünümüne aşırı bağımlılık, alternatif tanıları hakkında eleştirel düşünmeyi bırakma riski yaratabilir



*Solomon AJ, Klein EP, Bourdette D. "Undiagnosing" multiple sclerosis: the challenge of misdiagnosis in MS. Neurology. 2012;78:1986-1991.

EFFECTS OF MULTIPLE SCLEROSIS MISDIAGNOSIS

24 patients were examined at UCLA and Cedars-Sinai to determine the extent of MS patients misdiagnosed or otherwise.

18% of MS patients referred to the UCLA or Cedars-Sinai MS clinics were misdiagnosed elsewhere.

Some patients had to pay between **\$50,000 to \$80,000** for MS treatment despite not actually having the disease.

48% of the misdiagnosed patients received therapies that carry a known risk of developing a serious disease in the white matter of the brain caused by viral infection.

İlgilinc bir şekilde, Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'daki MS hastalarının bakımına odaklanan geniş kesitli internet tabanlı bir anket, MS'in BOS analizi olmadığında yanlış teşhisinin yaygın olduğunu ve hasta bakımı ve sağlık sistemi için önemli maliyet sonuçları olduğunu göstermiştir.

MS «RED FLAG»*

BOS Analizleri

- **Pleositoz > 50**
- **Belirgin nötrofil veya eozinofili**
- **Belirgin protein yüksekliği > 100**
- **Normal immunprofil**
 - Negatif oligoklonal band
 - Normal IgG indeksi
 - Normal IgG sentez oranı

*Common Clinical and Imaging Conditions Misdiagnosed as Multiple Sclerosis: A Current Approach to the Differential Diagnosis of Multiple Sclerosis Neurol Clin, 2018 Feb;36(1):69-117.

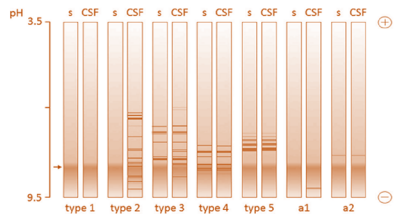
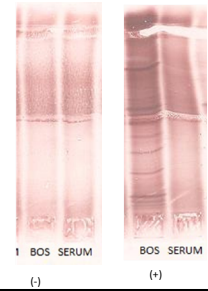
OKB ye AŞIRI GÜVEN ?

- Daha yakın zamanlarda, klinik olarak izole sendromlu 32 çocuğun verileri BOS OKB'nin MS'e dönüşmeyi öngörmediğini göstermiştir*
 - Hastalığın başlangıcına bağlı olarak lomber ponksiyonun zamanlaması
 - OKB'nin belirlenmesi için farklı laboratuvar tekniklerinin tutarsızlıkları ile açıklanabilir.

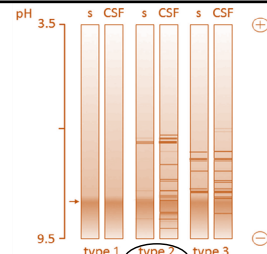
METODOLOJİK SORUNLAR ve YORUM FARKLARI !!!

*Lee CG, Lee B, Lee J, et al. The natural course of clinically isolated syndrome in pediatric patients. Brain Dev. 2015;37:432-438.

BOS oligoklonal bant sonucunu nasıl yorumlamalıyız?

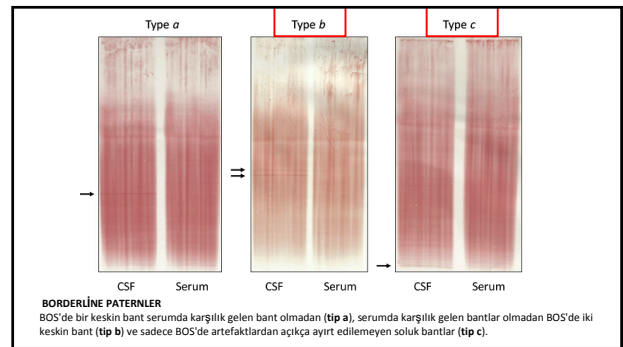
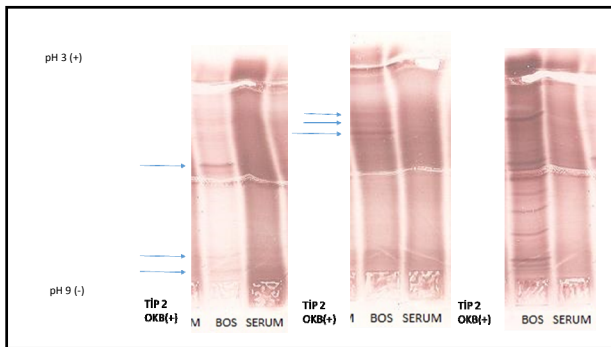
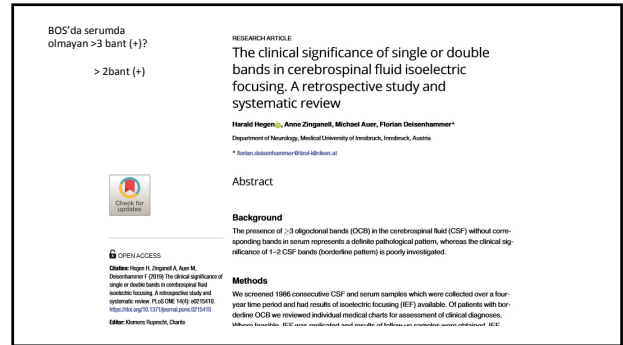
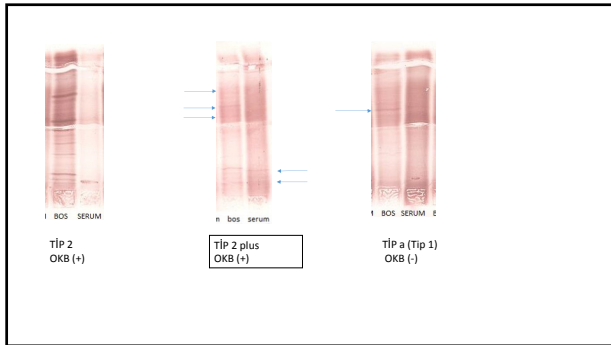


* Serum ve BOS'ta özdeş bir tek bant ile karakterize edilen (a1) ve kavramsal olarak 'ayna' düzenine benzeyen bir patern (a2) Kesin nörolojik hastalık tanısı olmadan hastalarda zaman zaman tespit edilebilir



Tip 2(+) Serum karşılığı olan birkaç BOS bandı, ancak BOS'dakinden daha soluk

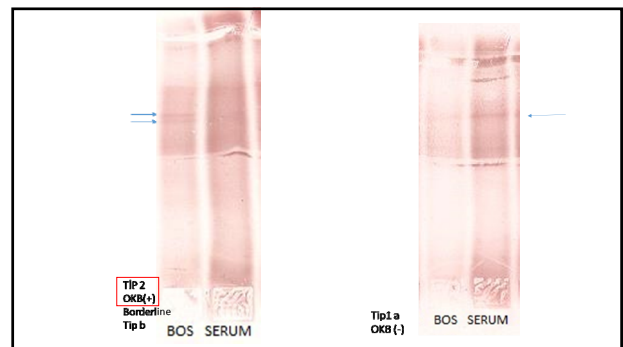
*Expert Review Of Molecular Diagnostics, 2017 Http://dx.doi.org/10.1080/14737159.2017.1262260

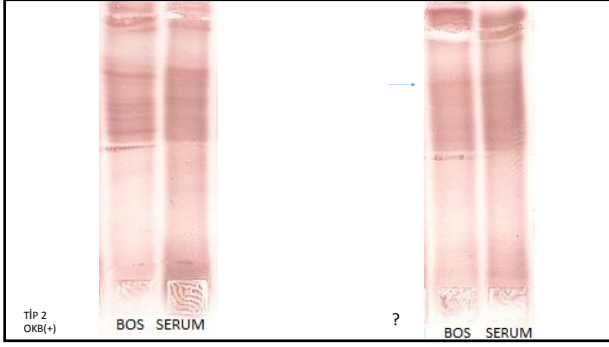


1-2 BOS bandının varlığı erken intratekal IgG sentezini gösterebilir

- Borderline OKB'si olan 253 hasta
- 100 hastada IEF tekrarlandı.
 - 4 hasta (% 15.4) OKB (+)
- 1-2 BOS bantlarının klinik önemi ılımlı olduğundan yaygın olarak kullanılan >2 BOS bant (+) yorumu yeniden düşünülmelidir
- >3 BOS bantları kullanıldığında, yani > 95 kullanıldığında tanı spesifitesi daha yüksektir.*

The clinical significance of single or double Bands in cerebrospinal fluid isoelectric focusing. A retrospective study and systematic review PLOS ONE | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215410> April 15, 2019



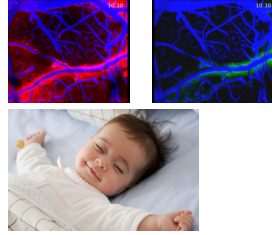


Sonuç olarak;

- Metodolojik sorunlar ve gerçek bir OKB test standardizasyonu olmaması nedeniyle,
- farklı OKB *cut off* 'lara göre OKB tespiti için hali hazırda kullanılan çeşitli laboratuvar yöntemlerini karşılaştıran çift kör, çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

The clinical significance of single or double Bands in cerebrospinal fluid isoelectric focusing. A retrospective study and systematic review PLOS ONE | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215410> April 15, 2019

Biz uyurken vücudumuz dinleniyor olabilir, ama beynimiz atıkları temizlemekle meşgul !!!



*Science, 2013 Oct 18; 342(6156): 10-1126/Science.1241224

*Nature Immunology Volume 18, Number 2 February 2017