

Ferritine in de liquor cerebrospinalis: onderscheid tussen bloeding in het centraal zenuwstelsel en traumatische lumbaalpunctie

I.S. KLASSEN¹, C.M. de KAT ANGELINO¹ en K.J.B. LAMERS²

De waarde van de ferritinebepaling in de liquor cerebrospinalis (liquor) voor het maken van onderscheid tussen een bloeding van het centraal zenuwstelsel en een traumatische lumbaalpunctie is onderzocht. Retrospectief zijn ferritineconcentraties in de liquor bepaald bij een groep van 33 patiënten. Hieronder waren 12 patiënten met een bewezen bloeding in de hersenen. Specificiteit en sensitiviteit van de ferritinebepaling bij de optimale afkapwaarde van 50 µg/l zijn respectievelijk 85,7 en 83,3%. Wanneer de meningitispatiënten worden weggelaten stijgt de specificiteit tot 94,4%. Beoordeling van de concentraties vrij hemoglobine of bilirubine (één of beide verhoogd) geeft binnen dezelfde groep een sensitiviteit van 100%, echter een specificiteit van 66,7% (na weglaten van de meningitispatiënten 72,2%). De kracht van de ferritinebepaling in de liquor is derhalve vooral gelegen in het stellen van de diagnose van een bloeding in de hersenen, niet in het uitsluiten daarvan.

Trefwoorden: hersenbloeding; liquor cerebrospinalis; ferritine; vrij hemoglobine; bilirubine

Ferritine is het belangrijkste eiwit voor de opslag van ijzer. Het is aanwezig in de meeste weefsels, maar vooral in de lever, milt en het beenmerg. Het eiwit heeft een molecuulgewicht van 450.000 Da en bestaat uit 24 identieke subunits. In serum is ferritine een goede marker voor de ijzerbehoefte van het organisme.

Ferritine is ook aanwezig in de liquor cerebrospinalis (liquor). Ferritine is hier niet afkomstig uit het serum, maar wordt in het centraal zenuwstelsel zelf aangemaakt (1). De meest waarschijnlijke bron van ferritine in de hersenen vormen de macrofagen (2). Vanwege de grootte van het ferritinemolecuul passeert het de bloed-hersen barrière (BHB) en bloed-liquor barrière (BLB) niet, waardoor het serumferritine normaliter niet zal bijdragen aan de ferritinewaarden in de liquor, tenzij er een zeer ernstige verstoring van de BHB en/of BLB optreedt. Een correlatie tussen ferritinewaarden in serum en liquor wordt dan ook niet

gevonden (3-5). Eerst bij toevoeging van 10% (v/v) vers bloed aan liquor wordt een stijging van het ferritinenivo in de liquor beschreven (3,4). Een dergelijke bloedbijmenging aan de liquor wordt in de klinische praktijk echter zelden gezien. Verhoogde ferritinewaarden in de liquor worden in de literatuur beschreven bij infectieuze meningitis, in ziekten van het vaatstelsel van het centraal zenuwstelsel en bij dementie (5).

Ferritine in liquor zou gebruikt kunnen worden om onderscheid te maken tussen een intracranieële- of intraspinale bloeding (veelal subarachnoidale bloeding (SAB)) en een traumatische punctie (aanprikken van een bloedvat bij de lumbaalpunctie), waarbij verhoogde ferritinewaarden duiden op een bloeding (3,4,6,7). Het mechanisme dat hieraan ten grondslag ligt is mogelijk als volgt: als gevolg van de bloeding komt ijzer vrij dat toxisch is, macrofagen worden één tot twee dagen na de bloeding, lokaal in de hersenen, gestimuleerd tot verhoogde ferritineproductie om dit ijzer te binden (6). Na een traumatische punctie zal de productie van ferritine alleen kunnen gebeuren door de cellen, uit het bloed, die tijdens de punctie in de liquor komen. Cellen worden op het laboratorium kort na de punctie uit de liquor verwijderd, zodat de ferritineproductie nog zeer gering zal zijn.

De CT-scan geeft niet in alle gevallen uitsluitel over het al dan niet aanwezig zijn van een bloeding. De gevoeligheid van de CT-scan wordt geringer naarmate de bloeding langer geleden heeft plaatsgevonden (8). In de huidige praktijk wordt 12 uur na aanvang van de klachten een lumbaalpunctie verricht bij patiënten met een verdenking op een bloeding, waarbij de CT-scan geen uitsluitel geeft. Het laboratorium bepaalt dan het aantal erythrocyten en de vrije hemoglobine (Hb)- en bilirubinespiegels van het liquormonster (9). De aanwezigheid van erythrocyten en/of hemoglobine in de liquor wijzen ofwel op een traumatische punctie ofwel op een bloeding in het centraal zenuwstelsel. De afname van drie buizen liquor kan een indruk geven of er sprake is van een bloeding of een traumatische punctie. Bij een traumatische punctie zou de helderheid toenemen en het cel-aantal afnemen van de eerste tot de derde buis. De specificiteit van deze waarneming wordt echter besproken (8). Hemoglobine wordt door het enzym heme-oxygenase uit macrofagen omgezet in bilirubine. Pas ongeveer 10 uur na een bloeding is bilirubine aantoonbaar in de liquor en kan daar nog meerdere weken aantoonbaar blijven. Het is echter bekend dat bilirubinewaarden in de liquor ook verhoogd kun-

Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium¹ en Laboratorium voor Kindergeneeskunde en Neurologie², Academisch Ziekenhuis Nijmegen St. Radboud, Nijmegen

Correspondentie: Dr. I.S. Klasen, Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, AZN St.Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.
E-mail: I.Klasen@ckcl.azn.nl

nen zijn bij andere ziekten van het centraal zenuwstelsel waarbij de BHB beschadigd is.

Vanwege boven beschreven eigenschappen heeft de bepaling van ferritine in liquor mogelijk een toegevoegde waarde bij het vaststellen dan wel uitsluiten van een intracranieële bloeding. Sensitiviteit en specificiteit van de ferritinebepaling in de liquor worden in deze publicatie onderzocht bij een groep patiënten waarbij erythrocyten in de liquor aangetroffen zijn als gevolg van een traumatische punctie, of waarbij een verdenking is op een bloeding in de hersenen.

MATERIAAL EN METHODEN

Liquormonsters

Liquormonsters zijn afkomstig uit de routinediagnostiek van het laboratorium. Zij zijn in een periode van 1997 tot 1999 verzameld en voor de studie geselecteerd op aanwezigheid van erythrocyten en op het aanvraagcriterium: is deze liquor afkomstig van een SAB/bloeding of van een traumatische punctie? De liquoren zijn afkomstig van 16 vrouwen (range 5 tot 65 jaar, mediaan 47 jaar) en 17 mannen (range 7 dagen tot 67 jaar, mediaan 41 jaar). De uiteindelijke diagnose is later door een ervaren neuroloog in de status opgezocht. In de groep bleken zich 12 bevezelen bloedingen te bevinden (7 mannen, 5 vrouwen). Bepaling van het aantal erythrocyten, vrij Hb en bilirubine vond steeds binnen 2 uur na afname plaats. De bepaling van ferritine vond uit spijtliquor plaats na opslag van de monsters bij -70°C .

Erythrocytenaantal

De erythrocyten in de liquor worden geteld in een Fuchs-Rosenthal telkamer met behulp van een fasecontrastmicroscop. Normaliter zijn (vrijwel) geen erythrocyten in de liquor aanwezig, in deze studie wordt tot 5 erythrocyten/ml als normaal beschouwd.

Vrij Hb en bilirubine

De bepaling van vrij Hb en bilirubine vindt plaats door meting van het absorptiespectrum op een Lambda 5 UV/VIS Spectrofotometer van Perkin Elmer (Nieuwerkerk aan de IJssel, Nederland) in het zichtbare licht van 400 nm tot 600 nm. De concentraties van vrij Hb en bilirubine worden rekenkundig bepaald via de tweede afgeleide van het spectrum bij respectievelijk 576 en 460 nm. De referentiewaarde voor vrij Hb is $<0,1 \mu\text{mol/l}$, voor bilirubine $<0,5 \mu\text{mol/l}$. Indien bij 415 nm een extinctie $<23 \text{ mE}$ gevonden wordt, sluit dit de aanwezigheid van bloedpigmenten uit en wordt geen spectrum bepaald. De waarden van vrij Hb en bilirubine worden dan als normaal (respectievelijk $<0,1 \mu\text{mol/l}$ en $<0,5 \text{ mmol/l}$) aangegeven. Indien bij 415 nm een extinctie $>23 \text{ mE}$ gevonden wordt, wordt wel een spectrum bepaald, waarbij dan eventueel lagere waarden dan $0,1 \mu\text{mol/l}$ voor vrij Hb of dan $0,5 \mu\text{mol/l}$ voor bilirubine gevonden kunnen worden.

Ferritine

Ferritine werd bepaald op de Immulite van DPC (Apeldoorn, Nederland). Het gaat hier om een twee-

zijdige chemoluminescentie immunometrische assay op een vaste drager. De vaste drager, een polystyreenkraal, is gecoat met een monoclonaal antilichaam gericht tegen ferritine. Het patiëntenserummonster en het alkalisch fosfatase geconjugeerde polyclonaal anti-ferritine worden tegelijkertijd geïncubeerd met de kraal. Ongebonden conjugaat wordt weggevoerd, waarna substraat wordt toegevoegd. Chemoluminescentie wordt vervolgens door de Immulite gemeten. Een uitslag kan binnen één uur worden verkregen. Monsters met een cito-indicatie kunnen eenvoudig worden verwerkt. De bepaling is gestandaardiseerd op de WHO tweede standaard voor ferritine nummer 80/578. Bovengrens van het standaardbereik ligt op 1500 mg/l . De interassay VC% is 6%.

RESULTATEN

Het aantal erythrocyten en de concentraties van vrij Hb, bilirubine en ferritine zijn bepaald bij een patiëntengroep waarbij in de liquor erythrocyten aanwezig waren, of die werden ingezonden met de vraagstelling 'Is deze liquor afkomstig van een bloeding van het centraal zenuwstelsel of van een traumatische punctie'. In tabel 1 zijn de leeftijd, het geslacht en de diagnoses van de individuele patiënten weergegeven tezamen met de resultaten van de klinisch-chemische analyses. Deze resultaten zijn gesorteerd naar oplopend aantal erythrocyten. Nummers van patiënten met een bloeding in de hersenen zijn vet en onderstreept weergegeven. Bij de overige patiënten waarbij meer dan 5 erythrocyten/ μl in de liquor zijn gevonden, zonder dat dit veroorzaakt is door een bloeding in de hersenen, zijn deze erythrocyten afkomstig van een traumatische punctie. Van een drietal patiënten (31,32,33) zijn liquoren van puncties van verschillende tijdstippen bestudeerd.

In figuur 1 zijn de resultaten visueel gemaakt na onderverdeling in vier patiëntengroepen: patiënten bekend met een bloeding in de hersenen, patiënten met overige diagnoses waarbij erythrocyten in de liquor zijn aangetroffen, patiënten met overige diagnoses zonder dat erythrocyten in de liquor zijn aangetroffen en meningitispatiënten.

Om de waarde van de bepaling van ferritine te beoordelen zijn bij verschillende afkapwaarden de sensitiviteit en specificiteit bepaald. Wanneer dit uitgezet wordt in een Receiver Operating curve (ROC) wordt de curve van figuur 2 verkregen. Indien een afkapwaarde van $50 \mu\text{g/l}$ als meest ideale afkapwaarde wordt genomen, resulteert dit in een sensitiviteit van 83,3% en een specificiteit van 85,7%. Bij weglaten van de groep meningitispatiënten stijgt de specificiteit tot 94,4%. Bij lagere afkapwaarden dan $50 \mu\text{g/ml}$ stijgt de sensitiviteit, maar daalt de specificiteit, bij hogere afkapwaarden stijgt de specificiteit en daalt de sensitiviteit.

Sensitiviteit en specificiteit voor de detectie van een bloeding in de hersenen van de bepaling van vrij Hb en bilirubine zijn bepaald bij de referentiewaarden van respectievelijk $<0,1 \mu\text{mol/l}$ en $<0,5 \mu\text{mol/l}$. Als beoordeeld wordt wanneer verhoogde waarden van vrij Hb en/of bilirubine terecht positiviteit aanduiden,

Tabel 1. Individuele patiëntengegevens en resultaten gesorteerd op aantallen erythrocyten

Patient	Geslacht, Leeftijd	Diagnose	Erythrocyten (aantal/ μ l)	Ferritine (μ g/l)	Vrij Hb (μ mol/l)	Bilirubine (μ mol/l)
1	V;44	retinale bloeding	geen	5	<0,1	0,2
2	V;29	thunderclap headache	geen	6	<0,1	<0,5
3	V;63	geen SAB	geen	22	<0,1	<0,5
4	V;45	hoofdpijn	geen	4	0,05	0,12
5	M;37	geen SAB	geen	8	<0,1	<0,5
6	M;23	contusio cerebri/ migraine acompagne	1	4	<0,1	<0,5
7	M;57	SAB	3	83	0,39	2,77
8	M;60	collaps eci	5	7	<0,1	<0,5
9	M;67	SAB	36	100	<0,1	1,73
10	M;41	migraine	47	7	0,14	0,41
11	M;54	hoofdpijn	66	12	0,11	0,1
12	V;27	TIA's	93	10	0,05	0,09
13	M;59	TIA's	175	9	0,05	0,28
14	M;63	meningitis	244	3	0,05	0,25
15	V;39	cervicale kanaalstenose	300	5	0,01	0,19
16	V;49	geen SAB	486	11	0,18	0,03
17	M;13	draininfectie	533	10	0,07	0,11
18	V; 65	SAB	1200	746	5,74	<0,1
19	V;61	hoofdpijn	1700	9	0,05	0,21
20	V;5	draininfectie	2165	58	0,05	1,12
21	V;59	preseniele dementie	2400	9	0,03	0,46
22	M;8mndn	meningitis	2600	78	0,03	23,76
23	M;7dgn	intracerebrale bloeding	2737	245	3,65	10,9
24	V;49	SAB	4350	3304	10,82	0,42
25	M;25	hoofdpijn	5550	11	0,56	<0,05
26	M;11dgn	subependymale bloeding	30000	7196	3,86	8,61
27	V;45	SAB	33000	6	0,19	0,43
28	V;54	SAB	60300	11	0,25	0,25
29	M;48	SAB	66000	125	0,99	3,18
30	V;59	SAB	Ja*	2739	32	<0,1
31, d9	M;51	SAB	32500	2514	19,69	<0,1
31, d14	M;51	SAB	12400	523	0,73	1,94
31, d32	M;51	SAB	1	91	<0,1	<0,5
32	M;8dgn	plexusbloeding	99000	6431	36,65	2,97
32	M;20dgn	plexusbloeding	5050	1280	0,19	3,38
33, d12	V;38	meningitis	40000	108	0,16	2,18
33, d28	V;38	meningitis	5900	112	0,14	3,46

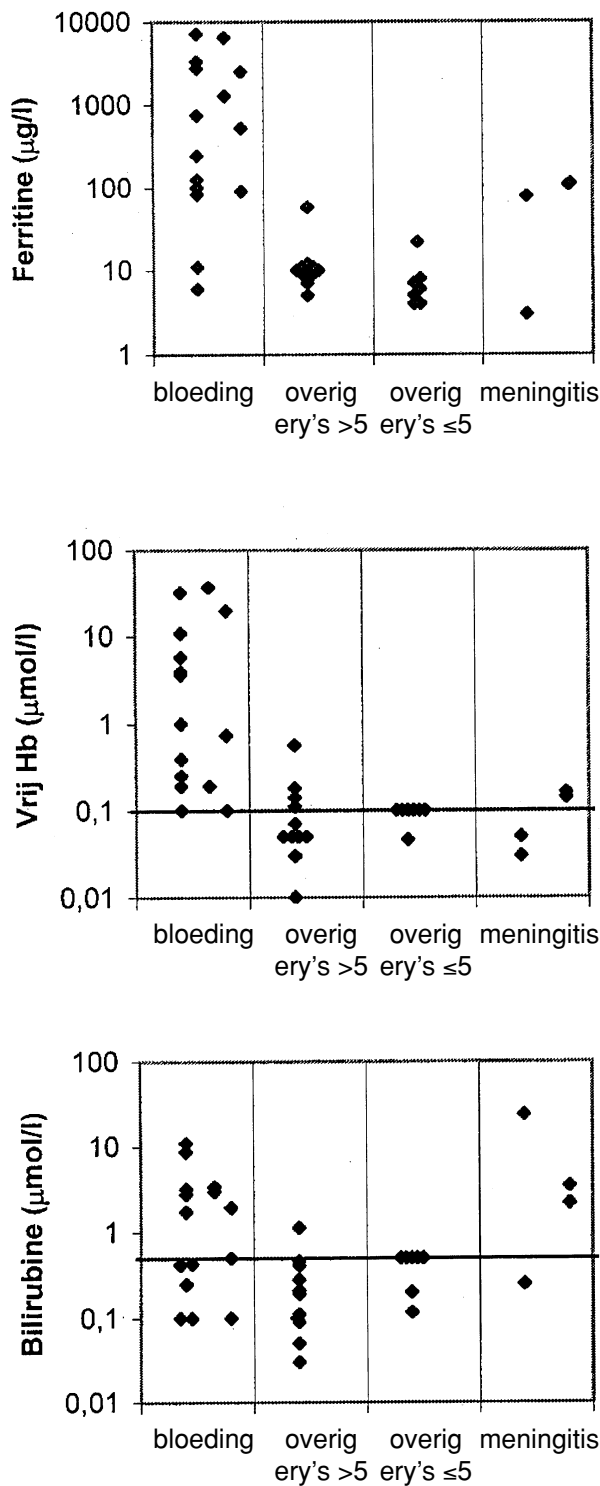
Van patiënt 31, 32 en 33 waren liquoren van verschillende punctiedata beschikbaar. Van patiënt 31 op 9, 14 en 32 dagen na SAB, van patiënt 32 op 8 en 20 dagen na geboorte, exacte bloedingsdatum onbekend, van patiënt 33 op 12 en 28 dagen na opname. SAB: sub-arachnoidale bloeding; TIA: transient ischaemic attack. Patiëntnummers van patiënten met een bloeding in de hersenen zijn vet weergegeven.

wordt een sensitiviteit van 100% berekend. Het percentage vals positieven is dan echter 33,3%, waaruit een specificiteit van 66,7% volgt. Na weglaten van de meningitispatiënten wordt dit 72,2%. De sensitiviteit van de ferritinebepaling voor de detectie van een bloeding in de hersenen blijkt in de hier onderzochte groep dus lager te zijn dan die van de bepaling van vrij Hb/bilirubine, de specificiteit is echter hoger.

DISCUSSIE

Het doel van de huidige studie is te bepalen wat de waarde is van de ferritinebepaling in de liquor om onderscheid te maken tussen een bloeding in de hersenen en een traumatische punctie. Met de huidige gebruikte parameters (aantal erythrocyten, vrij Hb- en bilirubineconcentratie) is dit onderscheid door het laboratorium soms moeilijk te maken. Erythrocyten en vrij Hb komen in beide situaties in de liquor voor en bilirubine kan verhoogd zijn bij allerlei aandoeningen

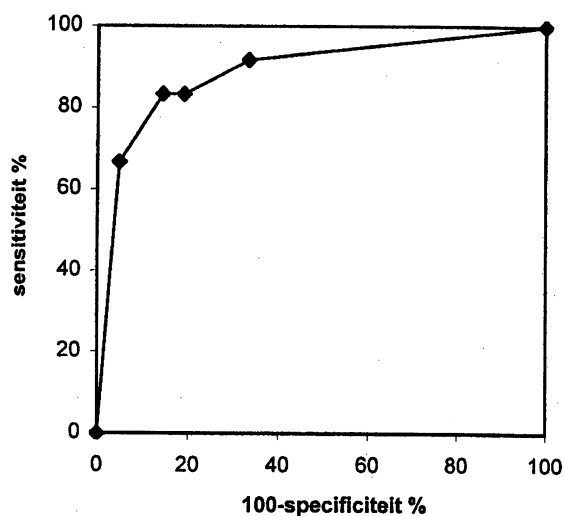
waarbij de BHB en/of BLB verstoord is. Ferritine wordt lokaal in de hersenen geproduceerd (1) door de macrofagen en wordt vanwege zijn grootte nauwelijks door een defecte BHB en BLB beïnvloed (3-5). Alleen bij een zeer ernstig BHB en/of BLB defect zal ferritine vanuit het bloed in de hersenen kunnen penetreren. Kunstmatige bloedbimenging heeft pas invloed op de gemeten ferritinewaarden in de liquor bij 10% bloedbimenging of meer (3,4), wat niet op een realistische situatie berust. De kinetiek van de productie van ferritine in de hersenen na een bloeding is bestudeerd door Hällgren et al. (6). Ferritineproductie komt in de hersenen één tot twee dagen na de bloeding op gang. Piekconcentraties worden 4 tot 6 dagen na start van de klachten gemeten, in de meeste gevallen worden twee weken na de bloeding weer normale ferritinewaarden gevonden. IJzer dat vrijkomt na een traumatische punctie zal nauwelijks aanleiding geven tot ferritineproductie in de liquor, omdat de hiervoor benodigde cellen niet aanwezig zijn.



Figuur 1. Ferritine-, vrij Hb- en bilirubinewaarden in liquoren van: patiënten met een bloeding van het centraal zenuwstelsel, patiënten met andere diagnoses met >5 erythrocyten/ml in de liquor, patiënten met andere diagnoses met ≤5 erythrocyten/µl in de liquor, meningitispatiënten. Resultaten van patiënten waarvan verschillende liquoren beschikbaar waren zijn alle weergegeven maar naar rechts buiten de groep geplaatst. Referentiewaarden voor vrij Hb (<0,1 µmol/l) en voor bilirubine (<0,5 µmol/l) zijn ingetekend. Indien bij 415 nm een extinctie <23 mE gevonden is, wordt vrij Hb weergegeven als <0,1 mmol/l en bilirubine als <0,5 µmol/l. Deze uitslagen zijn op de referentiewaardenlijn geplaatst. Uitslagen van de spectra met een extinctie >23 mE kunnen lagere waarden geven dan 0,1 µmol/l voor vrij Hb, of dan 0,5 µmol/l voor bilirubine.

ROC ferritine in liquor bij bloeding

Afkappunt (µg/L)	TP	VP	TN	VN	sensitiviteit %	specificiteit %
10	11/12	7/21	14/21	1/12	91,7	66,7
20	10/12	4/21	17/21	2/12	83,3	81,0
50	10/12	3/21	18/21	2/12	83,3	85,7
100	8/12	1/21	20/21	4/12	66,7	95,2



Figuur 2. ROC (Receiver operating curve) van de bepaling van ferritine in liquor voor de diagnostiek van bloedingen van het centraal zenuwstelsel. TP: terecht positief; VP: vals positief; TN: terecht negatief; VN: vals negatief. Sensitiviteit: % terecht positief; specificiteit: % terecht negatief.

De sensitiviteit en specificiteit van de ferritinebepaling in de liquor voor de vaststelling of het uitsluiten van een bloeding in de hersenen zijn natuurlijk afhankelijk van de gekozen afkapwaarde. Uit de ROC blijkt dat de hoogste combinatie van sensitiviteit en specificiteit verkregen wordt rond het afkappunt van 50 µg/l. Voor een nauwkeuriger bepaling van de afkapwaarde zal een grotere studie nodig zijn. In de hier gepresenteerde studie zijn bij de patiënten met een bloeding in de hersenen niet alle liquoren aangeleverd met de diagnostische vraag 'bloeding of traumatische punctie'. In deze studie zijn ook afnamen opgenomen die bedoeld waren ter verlichting van de hersendruk. Deze zijn dus langere tijd na de bloeding afgenomen. Het is aan te bevelen in een grotere studie tevens de kinetiek van de productie van ferritine in de liquor te betrekken. De diagnostische betekenis van de ferritinebepaling in de liquor kan met de tijdperiode na de bloeding variëren. Wick (2) heeft bij een grotere patiëntengroep bij een afkapwaarde van 15 µg/l een sensitiviteit en een specificiteit van 95% gevonden. De gekozen patiëntengroep, maar ook het tijdstip van de punctie spelen daarbij mogelijk een rol.

Hb komt kort na de bloeding vrij en bilirubine, na omzetting uit Hb, pas na ongeveer 10 uur. Vrij Hb is na een week uit de liquor verdwenen terwijl bilirubine nog een aantal weken aanwezig kan zijn. Bij patiënt nummer 7 is het aantal erythrocyten in de liquor normaal. Bilirubine en ferritine zijn verhoogd. Hier is sprake van een bloeding die reeds 14 dagen eerder heeft plaats gevonden. Bij patiënt nummer 27 zijn op de CT-scan geen bijzonderheden gezien, vrij Hb was licht verhoogd, bilirubine normaal. Hier lijkt dus eer-

der sprake te zijn van een bloeding die kort geleden heeft plaatsgevonden dan van een oude bloeding. Waarom hier een negatieve CT-scan gerapporteerd is, is onduidelijk. Bekend is dat de gevoeligheid van de CT-scan afneemt naarmate de bloeding langer geleden is (8). Dat de liquorferritine waarde nog meerdere weken na de bloeding verhoogd blijft is te zien aan patiënt 31 en 32 (overigens is onduidelijk waarom de bilirubine waarde van patiënt 31 negen dagen na de bloeding normaal is). Het detecteren van een hernieuwde bloeding door bepaling van de liquorferritine zal daarom moeilijk zijn. Bij het bepalen van de afkapwaarde zijn de resultaten van een drietal meningitispatiënten meegenomen. Liquoren van meningitispatiënten worden echter niet ingezonden met de verdenking op een bloeding. Op klinische gronden onderscheidt deze groep zich reeds van de patiëntengroep met een mogelijke bloeding. Uit de literatuur (5) is bekend dat meningitispatiënten verhoogde ferritine waarden in de liquor hebben. Het is daarom waarschijnlijk meer reëel om deze drie patiënten uit de berekening van de specificiteit weg te laten. Na weglaten van de meningitispatiënten scoort één op de 18 patiënten nog vals positief bij een afkapwaarde van 50 µg/l. De specificiteit stijgt hiermee tot 94,4%. De enige patiënt die hier vals positief scoort is een patiënt met een draininfectie.

De beoordeling van het aantal erythrocyten in drie achtereenvolgende buizen liquor is in deze studie niet meegenomen. Bij een traumatische punctie neemt dit aantal af van de eerste tot de derde buis. Afname van het aantal erythrocyten tijdens de punctie kan soms echter ook gevonden worden bij een bloeding in de hersenen (8). In een enkel geval is dit gegeven wel bekend. In de eerste liquorbuis van patiënt 15 zijn bijvoorbeeld 5250 erythrocyten/µl aangetroffen, in de tweede buis van dezelfde punctie (waarvan in tabel 1 de resultaten gepresenteerd staan) 300 erythrocyten/µl. Dit gegeven kan een extra aanwijzing geven dat sprake is van een traumatische punctie, maar sluit een bloeding in de hersenen niet uit (8).

In de huidige studie is het percentage patiënten dat op grond van de beoordeling van vrij Hb en bilirubine terecht beoordeeld wordt als hebbende een bloeding 100%. Afwezigheid van vrij Hb en bilirubine in de liquor sluit een bloeding in deze studie dus uit. Het percentage patiënten dat ten onrechte beoordeeld wordt als hebbende een bloeding in de hersenen is 33,3% (zonder meningitispatiënten is dit 27,8%). De ferritinebepaling bij een afkapwaarde van 50 µg/l geeft 14,3% vals positieve uitslagen (zonder meningitispatiënten is dit 5,6%).

Page (7) stelt dat de bepaling van ferritine niets toevoegt aan de diagnostiek van bloedingen in het centraal zenuwstelsel. Hoewel dit in een grotere studie bevestigd dient te worden lijkt de winst van de ferritinebepaling in liquor voornamelijk te liggen in de goede specificiteit van de bepaling, dus voor het stellen van een diagnose, niet voor het uitsluiten daarvan. De ferritinebepaling heeft hiermee een aanvullende waarde bij patiënten waarbij de CT-scan geen uitsluitend geeft en waarbij onduidelijk is of de erythrocyten in de liquor afkomstig zijn van een bloeding of een

traumatische punctie. De ferritinebepaling vervangt hiermee de vrij Hb- en bilirubinebepaling niet.

Met de huidige klinisch-chemische analysers is het spoedeisend karakter van de ferritinebepaling in de liquor geen belemmering meer en kan een uitslag binnen een uur na de aanvraag worden geleverd.

Samenvattend: bij twijfel over de diagnose bloeding dan wel traumatische punctie kan de ferritinebepaling in de liquor van aanvullende waarde zijn.

Dankwoord

Misschien wat ongebruikelijk, maar toch stellen de eerste twee auteurs van dit artikel het op prijs om de laatste auteur te bedanken. Wat is namelijk aan de hand: hij heeft dit stuk nooit van tevoren mogen zien. Dat kon ook moeilijk anders, want het moest immers een verrassing voor hem zijn. We hopen dan ook dat het verhaal zijn goedkeuring kan wegdragen. Natuurlijk moest hij er wel bij staan, meenden wij, het idee van deze studie kwam immers van hem.

Dus: geachte Dr. Lamers, beste Karel, van harte bedankt voor de prettige samenwerking gedurende de afgelopen jaren!

Ook willen wij graag Dr. O. Vogels, neuroloog, en Dr. C. Weemaes, kinderarts, bedanken voor hun hulp bij het vergaren van de diagnoses, de analisten van het laboratorium Neurologie voor het verzamelen van de liquoren vanuit het archief en Mw. E. Meij voor haar secretariële ondersteuning.

Literatuur

1. Keir G, Tasdemir N, Thompson EJ. Cerebrospinal fluid ferritin in brain necrosis: evidence for local synthesis. *Clin Chim Acta* 1993; 216: 153-166.
2. Wick M. Ferritin and iron metabolism in cerebrospinal fluid (CSF). *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: S77.
3. Fink W. Die bedeutung der ferritinbestimmung im liquor cerebrospinalis unter berücksichtigung der blut-liquorschranke. 1995; Dissertatie München.
4. Wick M, Fink W, Pfister W, Einhüpl, Huber M, Fateh Moghadam A. Ferritin in cerebrospinal fluid differentiation between central nervous system haemorrhage and traumatic spinal puncture. *J Clin Pathol* 1988; 41: 809-814.
5. Sindic CJM, Collet-Cassart D, Cambiaseo CL, Masson PL, Laterre EC. The clinical relevance of ferritin concentration in the cerebrospinal fluid. *J Neurol Neurosurg Psych* 1981; 44: 329-333.
6. Hällgren R, Terent A, Wide L, Bergström K, Birgegård G. Cerebrospinal fluid ferritin in patients with cerebral infarction or bleeding. *Acta Neurol Scandinav* 1980; 61: 384-392.
7. Page KB, Howell SJ, Smith CM, Dabbs DJ, Malia RG, Porter NR, Thickett KJ et al. Bilirubin, ferritin, D-dimers and erythrocytes in the cerebrospinal fluid of patients with suspected subarachnoid haemorrhage but negative computed tomography scans. *J Clin Pathol* 1994; 47: 986-989.
8. Vermeulen M, Gijn J van. The diagnosis of subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psych* 1990; 53:365-372.
9. Lamers KJB, Wevers RA. Liquordiagnostiek: chemische en klinische aspecten. *Tijdschr NVKC* 1992; 17: 110-123.

Summary

Ferritin in cerebrospinal fluid: haemorrhage in the central nervous system or traumatic lumbar puncture. Klasen IS, De Kat Angelino CM and Lamers KJB. Ned Tijdschr Klin Chem 2000; 25: 53-58.

The importance of the ferritin levels in the cerebrospinal fluid to discriminate between a central nervous system haemorrhage and a traumatic lumbar puncture is evaluated. Retrospectively ferritin levels were determined in the cerebrospinal fluid of a group of 33 patients. Twelve of these patients suffered from a proven haemorrhage in the brain. Specificity and sensitivity of

the ferritin levels at the optimal cut-off value were 85.7 and 83.3% respectively. When the meningitis patients were left out, specificity increased to 94.4%. Judgement of the values of free haemoglobin or bilirubin (one or both elevated) gave a sensitivity of 100% in the same group, however specificity was 66.7% (after leaving out the meningitis patients 72.2%).

Ferritin levels in the CSF therefore are mainly useful to confirm the diagnosis of a haemorrhage in the brain, not to exclude the diagnosis.

Keywords: central nervous system haemorrhage; cerebrospinal fluid; ferritin; free haemoglobin; bilirubin

Ned Tijdschr Klin Chem 2000; 25: 58-66

Karakterisering en partiële klonering van isovormen van steroid 5 α -reductase type I en type II bij de hond

P.N. SPAN¹, A. van BOKHOVEN², A.G.H. SMALS³, J.A. SCHALKEN² en C.G.J. SWEEP¹

Zowel bij de mens als de hond is 5 α -reductase, het enzym dat testosteron omzet in dihydrotestosteron (DHT), betrokken bij de pathogenese van benigne prostaat hyperplasie. De hond wordt dan ook beschouwd als een geschikt model om de effecten van 5 α -reductase remmers op prostaatgroei te testen. Echter, in tegenstelling tot bij de mens is er bij de hond geen informatie beschikbaar over het bestaan of de karakteristieken van 5 α -reductase isozymen. Daarom werden de biochemische karakteristieken van 5 α -reductase enzymatische activiteit in de prostaat van de hond geëvalueerd en werden isovormen van 5 α -reductase type I en type II gekloneerd. Zowel de pH gevoeligheid, enzym-kinetische karakteristieken en gevoeligheid voor remming door twee van de drie geteste 5 α -reductase remmers, specifiek in de mens, wezen op een grote overeenkomst tussen 5 α -reductase isozymen bij de mens en de hond. Uit de prostaat van de hond werden twee cDNA's gekloneerd welke een hoge mate van homologie met de humane 5 α -reductase isovormen bleken te hebben. Vergelijking van de weefsel-specificiteit echter gaf aan dat er geen verband was tussen 5 α -reductase mRNA expressie niveau en -enzymactiviteit in diverse hondenweefsels. Deze resultaten benadrukken dat de hond een geschikt model is voor studies naar de rol van 5 α -reductase in neoplasmen van de prostaat, maar dat de specificiteit van 5 α -reductase-remmers a priori nagegaan moet worden voor een correcte evaluatie van resultaten.

Trefwoorden: 5 α -reductase; prostaat; BPH; steroiden; isozymen

Afdeling Chemische Endocrinologie¹, Urologisch Research Laboratorium², Afdeling Endocriene Ziekten³, Academisch Ziekenhuis Nijmegen St Radboud

Correspondentie: Dr. P.N. Span, Afdeling Chemische Endocrinologie 530, Academisch Ziekenhuis Nijmegen St Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.
E-mail: p.span@ace.azn.nl

Dihydrotestosteron (DHT) wordt beschouwd als het belangrijkste androgeen betrokken bij de pathogenese van Benigne Prostaat Hyperplasie (BPH) (1,2), een veel voorkomende aandoening bij oudere mannen die kan leiden tot mictie problemen. De vorming van DHT uit testosteron (T) wordt gekatalyseerd door het enzym 5 α -reductase (3-oxo-5 α -steroid-oxidoreductase, E.C. 1.3.1.22), waarvan twee isozymen, type I en type II, bestaan (3). Er is veel onderzoek gedaan naar de ontwikkeling van 5 α -reductase remmers voor de farmacologische behandeling van BPH, om zo de groeibevorderende werking van androgenen op de prostaat tegen te gaan (2-6). Finasteride (Proscar®), een specifieke enzymremmer van het humane type II isozym, is geregistreerd voor de behandeling van patiënten met BPH (2) en wordt onderzocht voor mogelijke effecten op prostaatkanker (7).

De hond kan, net als de mens, bij het ouder worden spontaan BPH ontwikkelen (1,8-11). DHT lijkt een etiologische factor in de pathogenese van BPH in beide species te zijn (1,2,8,12,13). Bij de hond is een directe correlatie tussen de weefselconcentratie van DHT en de grootte van de prostaat beschreven (13). De hond wordt daarom vaak gebruikt als in vivo model om de rol van 5 α -reductase en de effecten van isozym-specifieke remmers op de pathologische groei van de prostaat te onderzoeken (4,5,13-19). Er is echter weinig informatie over het bestaan en karakteristieken van mogelijke isovormen van 5 α -reductase bij de hond. Hierdoor is de specificiteit van de geteste 5 α -reductase remmers bij de hond niet bekend en is juiste interpretatie van hun effecten op prostaatgroei moeilijk.

Deze studie was erop gericht de kinetische karakteristieken van 5 α -reductase in de prostaat van de hond te onderzoeken, door middel van een eerder gevalideerde en beschreven assay (20,21). De effecten van drie verschillende humane isozym-specifieke remmers op de enzymactiviteit werd vervolgens *in vitro* geëvalueerd in prostaathomogenaten van de hond (22). Verder werden bij de hond de isovormen gekloneerd door middel van een gedegeneerde primer strategie.