Utilità dell'esame citologico del liquido cerebrospinale

Chiara Ferraris Fusarini[1], Loredana Maldari[1], Alessio Maregnani[1], Massimiliano Ammirabile[1], Clara Sina[2], Rita Maiavacca[1], Ferruccio Ceriotti[1]

[1]Unità Operativa Complessa Laboratorio Analisi, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano

[2]Unità Operativa Complessa Neuroradiologia, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano.

ABSTRACT

Clinical utility of cerebrospinal fluid cytological examination. Cerebrospinal fluid (CSF) of a 64 year old male patient was sent from the hematology unit to laboratory for cell count and morphology and chemical-physical examination. CSF was clear, colourless and with increased total protein concentration. Cell count was first performed in Burker camera with a result of 40/µL; some of the cells showed an abnormal morphology. Our laboratory workflow includes the CSF examination utilizing an automatic cell counter: it showed a few white blood cells (3/µL), but a high number of total cells (64/µL). The morphological evaluation, with cytocentrifugation and May-Grunwald Giemsa stain, identified the elements as mature plasma cells; the result was then confirmed by immunophenotyping.
These findings suggest a neurological localization of a multiple myeloma (MM). Actually, the patient had been diagnosed as IgA lambda MM, with bone involvement that caused progressive loss of walk. Positron Emission Tomography revealed hyperdense areas, but it wasn't able to distinguish between lymphoproliferative disease and thrombotic phlogosis. In spite of the therapy, patient neurological conditions worsened till irreversible coma. He died a few days later.

CASO CLINICO

Un campione di liquido cerebrospinale (CFS) di un uomo di 64 anni viene inviato, dal reparto di ematologia dell'Ospedale Maggiore Policlinico, al laboratorio con le seguenti richieste: analisi chimico-fisica, conta e morfologia cellulare, profilo immunofenotipico e indagini sierologiche . All'osservazione visiva, il campione risulta essere limpido e trasparente; gli esami biochimici eseguiti mostrano una protidorrachia aumentata [1010 mg/L (i.r. 100-450)] e una glicorrachia nella norma [(63 mg/dL (i.r. 40-70)]. La conta cellulare, eseguita in camera di Burker, dopo diluizione con colorante di Turk, riporta un numero pari a 40 cell/µL (v.r. <5). Sulla base del protocollo operativo in uso nel laboratorio, che prevede di valutare lo stesso campione di CFS in camera di conta microscopica e, successivamente, utilizzando una strumentazione automatizzata, il campione è processato anche sullo strumento XN-1000, modulo "*body fluid*" (Sysmex Corporation). Vengono contati in questo modo 3 leucociti/µL, e, sorprendentemente, 64 cellule totali. Questo significa che nel campione processato sono presenti, oltre ai leucociti, cellule di diversa natura. Viene quindi valutata la morfologia cellulare: il vetrino, ottenuto dopo citocentrifugazione e colorazione con May-Grunwald Giemsa, mostra elementi classificabili morfologicamente come plasmacellule mature. Le cellule si presentano con un nucleo decentrato e con un citoplasma fortemente basofilo, in cui si apprezza una zona più chiara, a ridosso del nucleo, corrispondente all'apparato di Golgi (Figura 1).

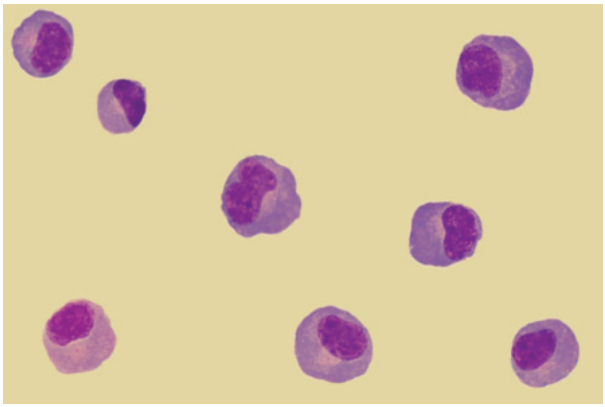

Figura 1. *Plasmacellule liquorali osservate al microscopio ottico (ingrandimento 600x), dopo aver sottoposto il campione a citocentrifugazione e colorazione con May-Grunwald Giemsa.*

Corrispondenza a: Chiara Ferraris Fusarini, IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, via Francesco Sforza 28, 20122, Milano, Tel 0255032566, Fax 0255032419, email chiara.ferrarisfusarini@gmail.com

Ricevuto: 05.02.2019 Revisionato: 15.02.2019 Accettato: 08.03.2019

Pubblicato on-line: 16.04.2019 DOI: 10.19186/BC_2019.029

Tabella 1
Analiti di interesse misurati su siero (S), urina (U) o sangue intero (Sg). I valori si riferiscono al momento della diagnosi di mieloma multiplo.

Analita	Valore	Intervallo di riferimento
S-Creatinina	3,40 mg/dL	0,50-1,20
S-Urea	65 mg/dL	15-50
S-Acido urico	11,0 mg/dL	3,4-7,0
S-Calcio	10,43 mg/dL	8,40-10,20
S-Proteine totali	96,0 g/L	66,0-87,0
S-IgA	39,90 g/L	0,70-7,00
S-IgG	3,08 g/L	7,00-16,00
S-IgM	0,09 g/L	0,40-2,30
S-Catene leggere kappa	5,98 mg/L	3,30-19,40
S-Catene leggere lambda	1257 mg/L	5,71-26,30
S-Rapporto kappa/lambda	0,005	0,26-1,65
U-Proteina di Bence-Jones	positiva per catene leggere lambda	assente
Sg-Emoglobina	101 g/L	135-175

L'identificazione morfologica è confermata dal profilo immunofenotipico: le cellule risultano essere molto grandi, CD45- e con positività per gli antigeni CD138 e CD56, quest'ultimo esclusivo di plasmacellule clonali. Le indagini sierologiche risultano negative : pertanto, viene posta la diagnosi di localizzazione neurologica di mieloma multiplo.

Esaminando la cartella clinica, è emerso che si trattava di un paziente con mieloma multiplo IgA lambda (picco monoclonale: 46 g/L), con insufficienza renale, e presenza di proteinuria di Bence Jones, anemia e ipercalcemia. I principali esami di laboratorio eseguiti sono riportati nella Tabella 1. Al momento delle analisi su CSF , il paziente presenta un importante coinvolgimento osseo, una graduale perdita della capacità di camminare e un danno neurologico che porta allo sviluppo di disfagia. Oltre alle analisi liquorali, avviate a causa del quadro neurologico descritto, vengono richiesti anche esami strumentali, quali tomografia a emissione di positroni (PET) e risonanza magnetica (RM). La PET mostra aree iperdense, a livello del seno cavernoso di sinistra e di entrambi i seni trasversi, ascrivibili, per numero e sede, a piccoli trombi, e solo in seconda ipotesi, a localizzazione neurologica di malattia. La RM non mostra alterazioni apprezzabili, se non un ispessimento della dura madre, omogeneo e modesto, suggestivo di ipotensione liquorale.

Viene avviata una terapia farmacologica, costituita da sette rachicentesi medicate mediante le quali al paziente vengono somministrate localmente citarabina (75 mg), methotrexate (15 mg) e metilprednisolone (40 mg), in combinazione con l'anticorpo monoclonale Daratumumab. La terapia sembra funzionare in quanto scompaiono le plasmacellule clonali dal CSF e non si evidenzia progressione di malattia a livello sierico. Tuttavia, le condizioni neurologiche peggiorano; una nuova RM evidenzia un maggiore ispessimento della dura madre e una lesione leptomeningea del parenchima cerebrale. Il paziente entra in una condizione di coma irreversibile che lo porta rapidamente a morte, circa due mesi dopo la diagnosi di localizzazione neurologica di malattia.

DISCUSSIONE

Secondo la definizione del WHO, il mieloma multiplo è una patologia neoplastica legata a cellule B mature, in cui si assiste a una proliferazione incontrollata di plasmacellule clonali. Esse producono una proteina monoclonale (PM), rilevabile nel 97% dei casi nel siero e/o urine. Frequentemente si registra un danno multiorgano: nel paziente mielomatoso compaiono, più o meno gravemente, insufficienza renale, dovuta alla tubulopatia causata dalla proteinuria di Bence Jones, lesioni ossee e, di conseguenza, ipercalcemia, che dipendono dall'attività osteolitica indotta dalle

plasmacellule clonali, e anemia, sia ascrivibile al danno renale che a una riorganizzazione midollare (1). Altri segni distintivi possono essere infezioni e sanguinamenti; il coinvolgimento del sistema nervoso è, invece, un evento molto raro, che si sviluppa soltanto nell'1% dei casi, mentre può raggiungere addirittura il 75% in caso di altre patologie oncoematologiche (leucemie o linfomi) e non (tumore al seno o ai polmoni (2). La prognosi è estremamente negativa: la sopravvivenza media, dal momento della diagnosi di danno neurologico, è di 1,5 mesi (3,4). Il paziente con implicazione cerebrale si presenta con un deficit neurologico focale, uno stato mentale alterato o con un danno cognitivo (4). In caso di forte sospetto clinico, si ricorre primariamente a indagini strumentali, quali PET e RM. In presenza di infiltrazione leptomeningea, tuttavia, è stato dimostrato che la RM ha una ridotta utilità; pertanto, l'esame indicato come "gold standard" consiste nell'osservazione microscopica di un campione liquorale dopo citocentrifugazione e opportuna colorazione (5).

Il caso ha mostrato il coinvolgimento neurologico, definito dalla comparsa di disfagia, in un paziente con mieloma multiplo (PM di tipo IgA lambda), avente i classici danni d'organo extra-midollari, quali anemia, insufficienza renale e lesioni ossee. Il ruolo del laboratorio è stato fondamentale per il corretto inquadramento diagnostico: nel liquor erano, infatti, presenti plasmacellule clonali, indicative di infiltrazione leptomeningea di malattia ematologica. A tale proposito, sono state dirimenti l'osservazione morfologica delle cellule, mediante citocentrifugazione, e la successiva definizione del profilo immunofenotipico, che hanno permesso di avviare rapidamente una terapia farmacologica specifica. Gli esami strumentali eseguiti, ossia PET e RM, non sono invece stati in grado di rilevare il danno neurologico; la RM ha, infatti, mostrato una lesione del parenchima cerebrale quando le condizioni neurologiche del paziente sono peggiorate ulteriormente portandolo a una condizione di coma irreversibile.

Il caso clinico presentato evidenzia l'importanza delle analisi di laboratorio per un rapido e corretto inquadramento diagnostico del paziente. Risulta essere fondamentale l'osservazione al microscopio, in quanto, solo attraverso una valutazione approfondita della morfologia cellulare, è stato possibile arrivare a una diagnosi univoca. Infine, la rapidità con cui vengono eseguite le analisi permette al clinico di avere a disposizione risultati in tempo brevi sulla base dei quali è possibile impostare la migliore terapia farmacologica.

BIBLIOGRAFIA

1) McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM et al. Plasma cell neoplasm. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al, eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. International Agency for Research on Cancer 2017:243-48.
2) Marjanović S, Mijuŝković Z, Stamatović D et al. Multiple myeloma invasion of the central nervous system. Vojnosanit Pregl 2012;69:209-13.
3) Naqi R, Azeemuddin M, Ahsan H. Central nervous system involvement in multiple myeloma. J Pak Med Assoc 2010;60:771-3.
4) Abdallah A, Atrash S, Shahid Z et al. Patterns of central nervous system involvement in relapsed and refractory multiple myeloma. Clin Lymphoma Myeloma Leuk 2014;14:211-4.
5) Galati D, Di Noto R, Del Vecchio L. Diagnostic strategies to investigate cerebrospinal fluid involvement in haematological malignancies. Leuk Res 2013;37:231-7.