

Fisiopatologia e diagnostica liquorale in clinica neurologica

A. Salmaggi, E. Corsini, M. Gelati, E. Lamperti
Istituto Nazionale Neurologico "C. Besta", Milano

Dalla introduzione nella pratica clinica dell'esame del liquido cefalorachidiano ad opera di Quincke nel 1891, le potenzialità diagnostiche della analisi di questo liquido hanno conosciuto alterne fortune.

In questa relazione, le conoscenze attuali sulla fisiopatologia liquorale verranno completate con un breve commento sui principali contributi diagnostici che l'esame del liquor può fornire nel 2002.

Il liquido cefalorachidiano viene prodotto per la maggior parte (60-70%) dai plessi corioidei dei ventricoli laterali cerebrali attraverso un processo che non è una semplice ultrafiltrazione, ma comporta una serie di modificazioni del plasma con consumo di energia, compresi meccanismi di trasporto attivo di metaboliti dal plasma al liquor. La vascolarizzazione dei plessi corioidei proviene dalle arterie corioidee anteriore e posteriore. I primi esperimenti che hanno evidenziato il ruolo dei plessi corioidei nella produzione del liquido cefalorachidiano sono quelli che hanno misurato l'ematocrito nelle arterie e vene afferenti/drenanti, con dimostrazione di perdita di liquido con conseguente emoconcentrazione.

Il volume del liquor nell'adulto raggiunge i 140 mL, di cui 30 mL nei ventricoli laterali, 5 mL nel 3 e 4 ventricolo, 25 mL negli spazi cisternali e subaracnoidei cerebrali, 80 mL negli spazi subaracnoidei spinali. I due ventricoli laterali comunicano con il terzo attraverso i forami di Monro, il passaggio tra il 3 e il 4 ventricolo avviene attraverso l'acquedotto del Silvio, e la comunicazione tra il 4 ventricolo e gli spazi subaracnoidei attraverso i forami di Magendie e Lushka.

La prevalenza di liquor a livello spinale si spiega con la necessità "critica" di ottenere a questo livello il massimo della attività meccanica di ammortizzatore dei traumatismi, stanti le gravissime conseguenze di lesioni anche di piccole dimensioni del midollo.

La produzione del liquor comporta una prima fase caratterizzata da ultrafiltrazione con passaggio delle molecole dai capillari dei plessi (che non presentano giunzioni serrate e hanno ampie fenestrature) allo spazio interstiziale dell'asse vascolare dei plessi; la

seconda fase comporta un processo attivo di assorbimento/trasformazione/escrezione da parte dell'epitelio corioideo; quest'ultimo è fornito di giunzioni serrate e di villosità apicali, nonché di numerosi mitocondri, in analogia a quanto riscontrato in altri epitelii come ad esempio quello tubulare renale.

Il fluido secreto dalle cellule ependimali è quindi di derivazione plasmatica; vi sono specifici sistemi di trasporto di elettroliti, in particolare la Na-K-ATPasi apicale, responsabile del trasporto attivo di Na nel liquor. L'enzima anidrasi carbonica, catalizzando la formazione di ione bicarbonato a partire da ione idrossile e anidride carbonica, fornisce un impulso alla formazione di liquor, in quanto la estrusione di ione bicarbonato dalle cellule dell'epitelio corioideo è accoppiata all'ingresso di ione cloruro. Questa modalità di trasporto ionico rende conto dell'effetto inibitorio dell'acetazolamide (inibitore della anidrasi carbonica) sulla produzione del liquor.

La produzione del liquor è inoltre influenzata dal pH (inibita dalle condizioni di alcalosi respiratoria) e dalla stimolazione adrenergica.

Dal punto di vista della concentrazione degli elettroliti nel liquor rispetto al plasma, è da notare che nel liquor si riscontrano livelli più elevati di magnesio, più bassi di potassio e calcio.

Meccanismi di trasporto attivo dal sangue al liquor sono presenti per quanto riguarda, tra le altre molecole, la vitamina C, i folati, la vitamina B6.

Per il 20% circa la produzione di liquor avviene attraverso un passaggio dall'interstizio cerebrospinale al sistema ventricolare-cisternale-subaracnoideo, per il 5-10% dai vasi sanguigni degli spazi subaracnoidei. Il riassorbimento del liquor avviene a livello delle granulazioni del Pacchioni della convessità e dei gangli delle radici posteriori dei nervi spinali. Il turnover del liquor nell'uomo adulto è di circa 500 mL al dì.

Nello stroma dei plessi corioidei paiono essere presenti cellule dendritiche, fibroblasti, macrofagi residenti, o cellule di Kolmer, o dell'epiplesso intraventricolare: queste sono mobili, stratificate sui microvilli apicali (1).

La struttura dei plessi corioidei costituisce parte della “barriera” ematoliquorale. D’altro canto, una barriera “intermedia” tra sangue e liquor è costituita dalla barriera ematoencefalica a livello dei capillari cerebrali.

L’endotelio cerebrale microvascolare costituisce questa barriera, insieme alla membrana basale, ai pedicelli astrocitari e ai periciti. Le cellule endoteliali in questo caso sono provviste di “tight junctions” e sono ricche di mitocondri. La barriera ematoencefalica è sprovvista di “tight junctions” in alcune zone, quali la neuroipofisi, l’area postrema, l’eminenza mediana, l’epifisi.

Una prima considerazione importante è che i componenti del liquor fluttuano meno rispetto alle loro controparti nel sangue, questo a garanzia dell’omeostasi nel sistema nervoso centrale.

La concentrazione totale di proteine nel liquor è dello 0.5-1% rispetto al plasma.

La concentrazione proteica varia a seconda della sede di prelievo del liquor, con un progressivo aumento dal liquor ventricolare a quello cisternale a quello subaracnoideo lombare.

Le due ipotesi per spiegare questo dato sono:

- una maggiore permeabilità della barriera ematoliquorale;
- una riduzione del flusso/riassorbimento.

I seguenti fattori principali influenzano il passaggio delle proteine attraverso la barriera ematoencefalica:

- le dimensioni;
- la carica elettrica;
- le caratteristiche di specifici sistemi di trasporto.

Il complesso recettore-proteina va incontro ad una delle seguenti possibilità di trasporto /degradazione:

- sia la proteina che il suo recettore vengono degradati all’interno dei lisosomi;
- solo il ligando è degradato, mentre il recettore viene riciclato (esempio LDL-recettore per le LDL);
- sia il ligando che il recettore vengono riciclati sulla membrana cellulare attraverso il compartimento endosomiale (esempio Tfr-Tfr recettore);
- sia il ligando che il recettore attraversano la cellula per transitosi (esempio IgA-IgA recettore).

La fisiopatologia liquorale comprende situazioni collegate ad alterata formazione-circolazione-assorbimento di un liquor a composizione normale, o alterazioni della componente proteica e/o cellulare.

Nel primo gruppo le situazioni più rilevanti sono l’alterato assorbimento e circolazione, nel secondo gruppo le meningiti, carcinomatosi meningeae, le emorragie subaracnoidee e le malattie infiammatorie demielinizzanti.

L’analisi del liquor conserva la sua importanza in neurologia in numerose situazioni:

- è fondamentale nella diagnosi delle meningiti e meningoencefaliti e delle emorragie subaracnoidee (in particolare in caso di TC negativa);
- permette, tramite una semplice indagine di isoe-

lettrofocalizzazione, di evidenziare una rinoliquorrea;

- rimane importante nella diagnosi di SM in particolare in casi con RMN non “tipica”;
- permette la diagnosi di pseudotumor cerebri;
- è importante nella diagnosi di poliradicolonevrite;
- vi è poi una serie di informazioni ottenibili dallo studio liquorale in patologie degenerative, di disseminazione neoplastica e/o di manifestazioni neurologiche paraneoplastiche.

La transtiretina (o pre-albumina) è sintetizzata prevalentemente dall’epitelio corioideo. La tiroxina, che nel plasma circola legata a TTR, albumina e TBG, viene dissociata da tali proteine e, a livello dell’epitelio, la TTR di sintesi endogena ne effettua il trasporto nel liquor. L’assenza o riduzione quantitativa o funzionale della TTR può produrre danni nello sviluppo cerebrale che sono stati dimostrati anche nei bambini. Una ridotta sintesi e secrezione di TTR da parte dei plessi corioidei potrebbe essere uno dei meccanismi patogenetici nella intossicazione da piombo.

La prostaglandina D sintetasi (o beta-trace protein) nel cervello umano è prodotta a livello dell’epitelio corioideo e delle meningi. E’ stato suggerito il suo utilizzo nella diagnostica differenziale delle liquorree.

La transferrina beta-2 è attualmente considerata il miglior marcatore utilizzabile per mettere in evidenza la presenza di liquor nelle secrezioni nasali.

La beta-2 microglobulina è un possibile marker di malattia neurologica in pazienti con infezione da HIV-1. In particolare, la concentrazione liquorale di beta-2 microglobulina superiore a 5 mg/L aumenta di 17 volte il rischio – per i soggetti HIV1-sieropositivi – di sviluppare la malattia neurologica correlata all’infezione (2).

La leptina è un ormone sintetizzato dal tessuto adiposo, dall’epitelio gastrico e dalla placenta; controlla l’appetito interagendo con un recettore nel nucleo arcuato dell’ipotalamo e riducendo i livelli ipotalamici di peptide Y. Anche nei plessi corioidei vi sono elevate concentrazioni di recettore per la leptina; questi recettori hanno una “coda” intracitoplasmatica più breve, e potrebbero essere coinvolti nel trasporto ematoliquorale di leptina, con un processo saturabile. Un eventuale difetto in questo trasporto potrebbe spiegare la perdita di regolazione del peso negli obesi. Questa ipotesi appare sostenuta dal riscontro di un basso rapporto liquor/plasma di leptina negli obesi (1).

Diverse cellule costituenti i plessi corioidei sono cellule presentanti l’antigene accessorie o costitutive (le cellule epiteliali stesse, le cellule di Kolmer, cellule dendritiche).

Molecole di adesione, quali ICAM-1 e VCAM-1, vengono espresse solo alla superficie apicale delle

cellule epiteliali, e quindi difficilmente sono responsabili del passaggio di cellule immunitarie dal sangue al liquor in questa sede. I plessi sono in grado di produrre MMP e TIMP-3.

Alcuni batteri (come *Neisseria Meningitidis*), parassiti e virus sembrano avere un tropismo particolare per i plessi corioidei.

L'analisi del liquido cefalorachidiano è molto importante nella diagnosi di *emorragia subaracnoidea*. Infatti, nel 10% circa di pazienti con tale patologia, non si evidenzia raccolta di sangue nelle cisterne e spazi subaracnoidei alla TAC. Inoltre, l'esame del liquor può evidenziare reperti indicativi di una pregressa emorragia subaracnoidea fino a 3-4 settimane dopo l'evento acuto.

La xantocromia è il colore giallastro che indica la presenza di bilirubina nel liquor. Sono necessarie almeno 12 ore perché l'emoglobina rilasciata dalle emazie venga convertita a bilirubina, e per questo viene consigliato (qualora clinicamente possibile) di attendere tale intervallo di tempo prima di procedere alla rachicentesi. La conversione a bilirubina non avviene mai nel liquor prelevato e lasciato in provetta. La bilirubina persiste nel 70% dei pazienti a 3 settimane dall'evento (3).

La metodica di elezione è la spettrofotometria (picchi a 415 e 440-460 nm indicano la positività per Hb e bilirubina, rispettivamente).

Non risultano affidabili la metodica del raccoglimento frazionato del liquor (in 3 provette successive) né il riscontro di alterazioni morfologiche delle emazie (dentellatura) attribuite allo shock osmotico. Molto più specifico, ma assai meno sensibile, è il riscontro di macrofagi contenenti emosiderina nel citocentrifugato.

La diagnosi di *pseudotumor cerebri* (una condizione di alterato riassorbimento liquorale associato spesso al reperto di "empty sella" e caratterizzato dalla particolare frequenza nel sesso femminile, in particolare in condizioni di sovrappeso corporeo) si basa su elementi clinico-strumentali tra cui spiccano la cefalea, le alterazioni del campo visivo e della oculomotricità, il riscontro all'esame del fundus di una papilla da stasi con edema ed emorragie peripapillari, nonché un aspetto TAC/RMN tipico, con ventricoli di piccole dimensioni e solchi corticali scarsamente visualizzabili. L'esame della pressione liquorale permette di confermare il sospetto diagnostico ed è in grado di alleviare i sintomi. Ripetute rachicentesi con sottrazione di liquor (la cui composizione chimico-fisica è generalmente nella norma) possono evitare l'instaurarsi di un deficit (soprattutto visivo) non reversibile, in attesa di un intervento di derivazione spinoperitoneale o di fissurazione delle guaine meningehe del (o dei) nervo ottico.

La diagnosi di *idrocefalo* è viceversa precipuamente clinico-radiologica; si riconoscono una varietà di idrocefalo non comunicante, in cui l'ostruzione al flusso del liquor avviene a livello dei ventricoli laterali, del 3 o 4 ventricolo e dei forami di passaggio tra questi, ed una varietà comunicante: in quest'ultima l'alterazione del flusso consiste in una riduzione del riassorbimento a livello della convessità cerebrale e/o dei gangli spinali. Nella prima variante, la dilatazione selettiva di alcune delle cavità ventricolari (ad esempio, di un solo ventricolo laterale oppure di entrambi i ventricoli laterali e del 3 ventricolo, con 4 ventricolo di dimensioni nella norma) permette di indirizzarsi verso la sede dell'ostacolo al flusso (nel primo caso a livello del forame di Monro, nel secondo a livello dell'acquedotto del Silvio); nel secondo tipo di idrocefalo invece, vi è una alterazione diffusa che può essere conseguenza, ad esempio, di una pregressa emorragia subaracnoidea oppure di una meningite carcinomatosa oppure ancora di un incremento della proteinorachia come si verifica in alcuni casi di poliradicolonevrite. L'esame del liquor è quindi in secondo piano rispetto agli accertamenti neuroradiologici (in particolare, la RMN con gadolinio), ma può conservare una qualche utilità evidenziando un aumento delle proteine.

In particolare, per quanto riguarda la diagnosi di *meningite carcinomatosa*, va ricordato che la citologia liquorale è il test più sensibile a sostegno della diagnosi, nonostante l'evenienza tutt'altro che rara di negatività pregressa in casistiche di meningite carcinomatosa autopicamente confermata (4).

Un commento a parte merita la condizione del cosiddetto "*idrocefalo normoteso*": con questo termine si indica una patologia del flusso liquorale particolarmente frequente nell'età avanzata, che si caratterizza per la triade clinica di paraparesi inferiore, incontinenza urinaria e deficit intellettivo. L'aspetto radiologico è quello di una dilatazione del sistema ventricolare con solchi della convessità normali o poco visibili, associata a segni di riassorbimento transependimale del liquor.

La opportunità di un intervento di derivazione ventricoloperitoneale in questi pazienti è discussa e comunque subordinata alla dimostrazione di incrementi nei livelli della pressione liquorale. Questi ultimi però, a differenza da quanto riscontrabile nello *pseudotumor cerebri*, possono essere transitori, e per essere evidenziati necessitano di un monitoraggio protratto della pressione liquorale. Come alternativa è stato proposto recentemente il "test da rachicentesi" che consiste nel verificare prima e dopo sottrazione di liquor le performances motorie del paziente (in caso di netto miglioramento si ritiene vi sia indicazione a derivazione) (5).

Nella *poliradicolonevrite acuta di Guillain-Barré* il reperto liquorale, definito come "dissociazione albumino-citologica", consiste in una normalità del nu-

mero degli elementi figurati mentre le proteine totali risultano elevate.

L'analisi del liquor, in particolare con il dosaggio della proteina 14-3-3, può essere di aiuto anche nella diagnosi di *encefalopatia spongiforme*. In un recente lavoro (6), il dosaggio con immunoblot della 14-3-3 liquorale così come della proteina Tau ha raggiunto una sensibilità diagnostica del 94% e una specificità del 90%, con un valore predittivo positivo del 92%.

Anticorpi diretti contro antigeni espressi da cellule nervose possono inoltre essere utili nella diagnosi di *malattie neurologiche paraneoplastiche*, come la degenerazione cerebellare, l'encefalite limbica, la neuropatia sensitiva. Tuttavia, questi anticorpi si riscontrano abitualmente anche su siero (7).

Il profilo liquorale in pazienti con *meningite neoplastica* può fornire elementi utili ai fini prognostici. Si ritiene infatti che bassi valori di glicorrachia conferiscano un elemento ulteriore di gravità a questa situazione clinica, caratterizzata da sopravvivenza di poche settimane o mesi.

Il dosaggio di lattato nel liquor ha una utilità diagnostica a supporto di una ipotesi di *encefalopatia mitocondriale*.

Nel liquor sono dosabili markers quali CEA, alfa-fetoproteina e beta-HCG, utili nel monitoraggio del decorso di neoplasie appartenenti al gruppo dei *tumori embrionari* (8).

Infine l'esame del liquor conserva la sua utilità in casi di sospetta *Sclerosi Multipla* (SM) in particolare con pattern di RMN non tipico e/o in casi di sindrome con interessamento monofocale a livello del sistema nervoso centrale: in casi simili, uno studio recente (9) in 112 pazienti con sindromi clinicamente isolate seguiti per valutare la loro frequenza di conversione a SM clinicamente definita, la presenza di bande oligoclonali aveva una sensibilità dell'81% con una specificità del 43% e un'accuratezza del 52%, con un valore predittivo positivo del 32% e un valore predittivo negativo dell'88%.

Le controindicazioni all'esame liquorale (normalmente condotto attraverso prelievo di liquor a livello lombare) sono:

- la presenza di ipertensione endocranica
- la presenza di alterazioni della emostasi/coagulazione
- la presenza di infezioni cutanee.

La conseguenza indesiderata più frequente del prelievo di liquor è rappresentata dalla cefalea post-rachicentesi. La caratteristica saliente è costituita dal fatto che la cefalea è tipicamente posturale, con attenuazione in clinostatismo e comparsa o esacerbazione in posizione eretta: questa caratteristica sot-

tolinea come la più verosimile causa della cefalea sia attribuibile a una perdita di liquor attraverso soluzioni di continuo della dura, con conseguente ipotensione e trazione sulle strutture meninge e sulle vene (10).

Vari studi hanno affrontato il problema dei fattori predisponenti a questo effetto collaterale: dal volume di liquor sottratto, alla posizione corporea durante il prelievo o dopo lo stesso (11), alle dimensioni dell'ago utilizzato; le indicazioni può recenti (12) sembrano dare importanza al tipo di ago utilizzato, favorendo aghi a punta smussa.

Bibliografia

1. Strazielle N, Ghersi-Egea J-F. Choroid plexus in the central nervous system: biology and physiopathology. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000;59:561-74.
2. Brew B.J, Dunbar N, Pemberton L, Kaldar J. Predictive markers of AIDS dementia complex: CD4 cell count and cerebrospinal fluid concentrations of beta2 microglobulin and neopterin. *J Infect Dis* 1996;174:294-8.
3. Vermeulen M, Hasan D, Blijenberg BG, Hijdra A, van Gijn J. Xanthochromia after subarachnoid haemorrhage needs no revisitation. *J Neurol Neurosurg Psych* 1989; 53:270-1.
4. Chamberlain MC. Neoplastic meningitis: a guide to diagnosis and treatment. *Curr Opin Neurol* 2000; 13:641-8.
5. Sand T, Bovim G, Grimse R, Myhr G, Helde G, Cappelen J. Idiopathic normal pressure hydrocephalus: the CSF tap-test may predict the clinical response to shunting. *Acta Neurol Scand* 1994;89:311-6.
6. Otto M, Wiltfang J, Cepek L, Neumann M, Mollenhauer B, Steinacker P, et al. Tau protein and 14-3-3 protein in the differential diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology* 2002;58:192-7.
7. Chan KH, Vernino S, Lennon VA. ANNA-3 anti-neuronal nuclear antibody: marker of lung cancer-related autoimmunity. *Ann Neurol* 2002;50: 301-11.
8. Fujimaki T, Mishima K, Asai A, Tabuchi K, Kobayashi M, Suzuki I, Kirino T. Levels of beta-human chorionic gonadotropin in cerebrospinal fluid of patients with malignant germ cell tumor can be used to detect early recurrence and monitor the response to treatment. *Jpn J Clin Oncol* 2000;30:291-4.
9. Tintore M, Rovina A, Brieva L, Grive E, Jordi R, Borrás C, Montalban X. Isolated demyelinating syndromes: comparison of CSF oligoclonal bands and different MR imaging criteria to predict conversion to CDMS. *Mult Scler* 2001;7:359-63.
10. Levine DN, Rapalino O. The pathophysiology of lumbar puncture headache. *J Neurol Sci* 2001;192:1-8.
11. Thoennissen J, Herkner H, Lang W, Domanovits H, Laggner AN, Mullner M. Does bed rest after cervical or lumbar puncture prevent headache? A systematic review and meta-analysis. *CMAJ* 2001;165: November 13.
12. Strupp M, Schueler O, Straube A, Von Stuckrad-Barre S, Brandt T. "Atraumatic" Sprotte needle reduces the incidence of post-lumbar puncture headaches. *Neurology* 2001;57:2310-2.