

Cytologie likvoru v diagnostickém kontextu

*Ondřej Sobek
Jaroslava Dušková
Jitka Šimková*

Topele*

**Laboratoř pro likvorologii, neuroimunologii
patologii a speciální diagnostiku**

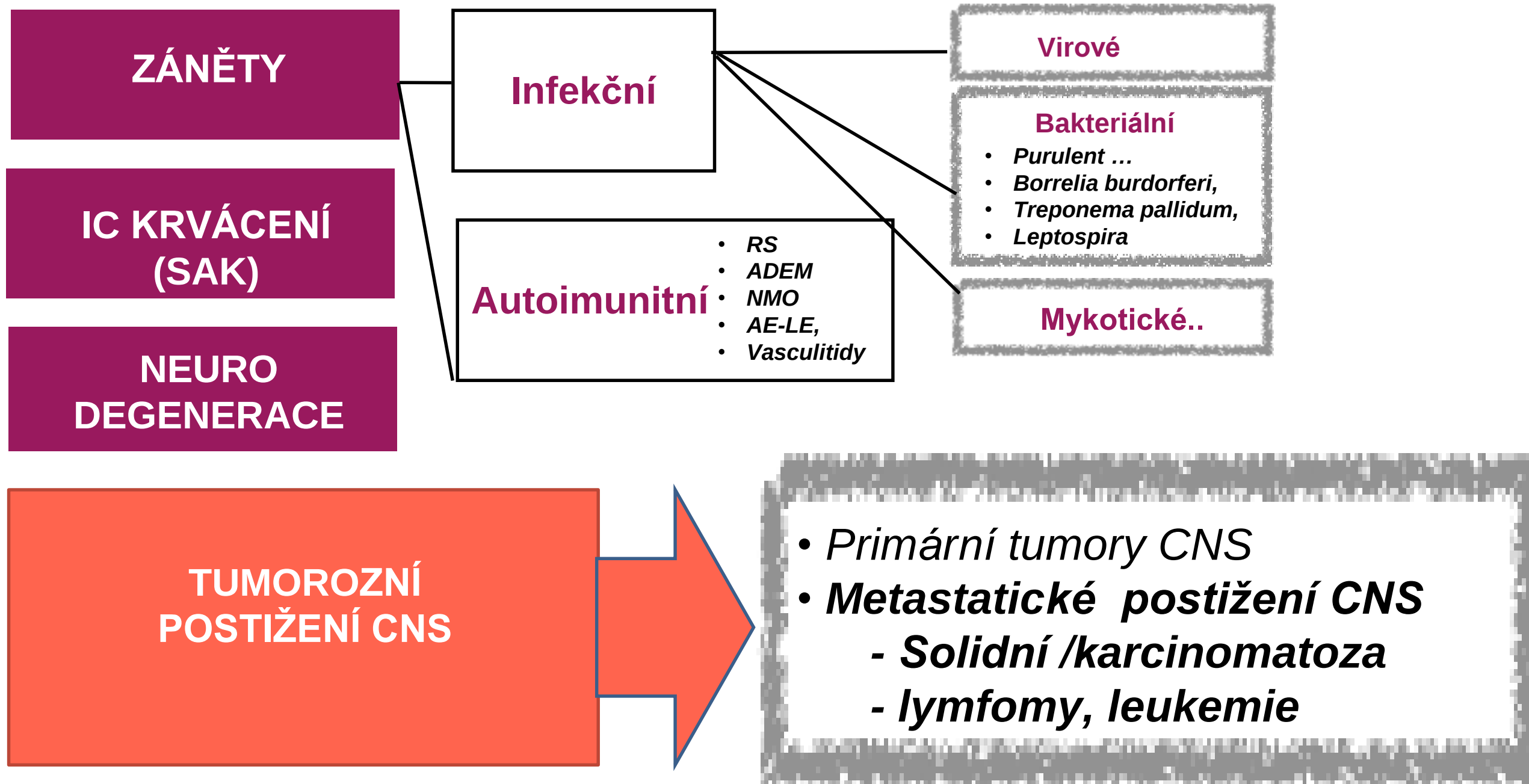
www.likvor.cz

Cytologický den 2018

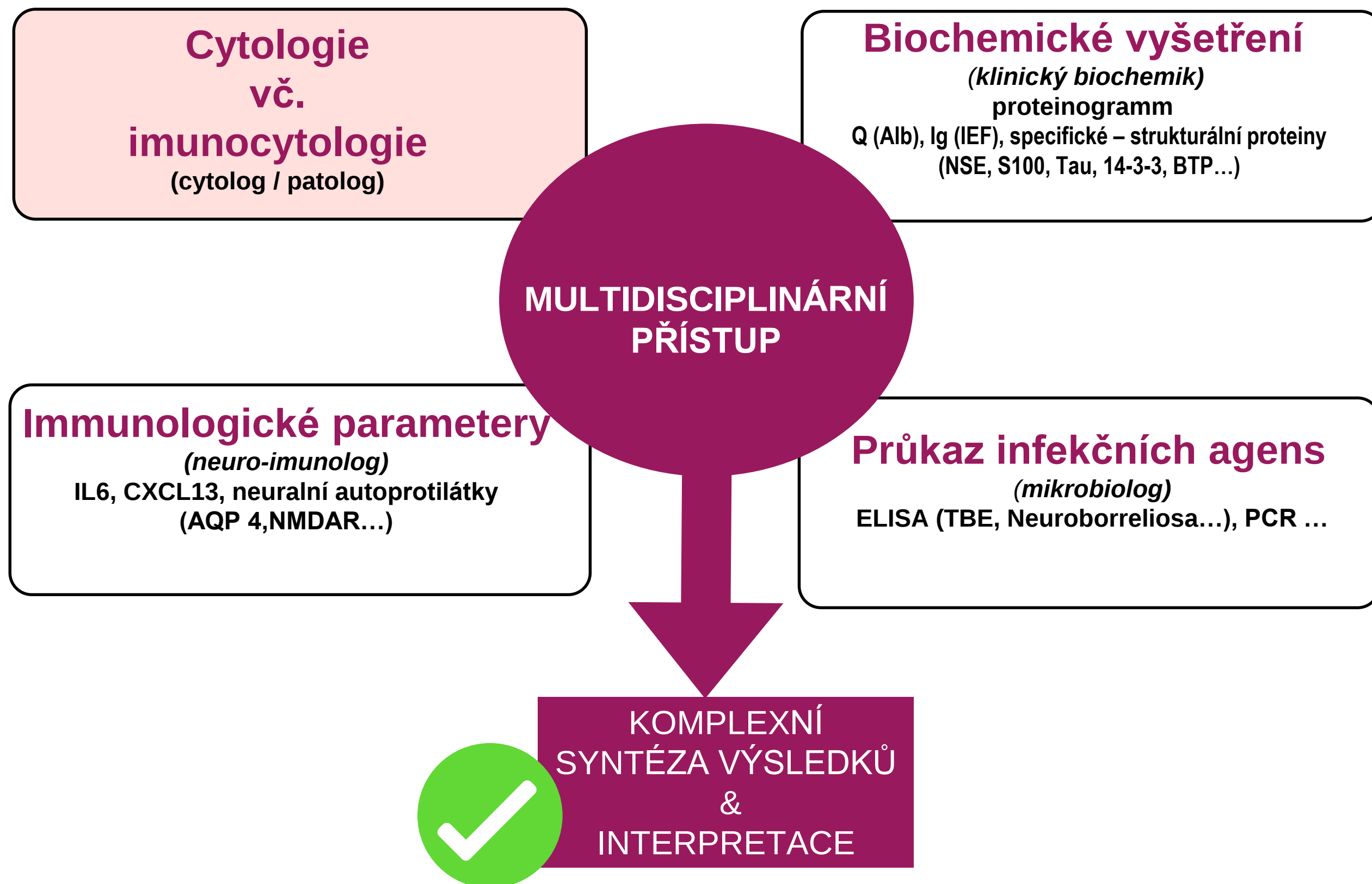
Indikace likvorové cytologie



Pre-analytické požadavky : čerstvý vzorek (2-3h), optimálně 5-10ml



Komplexní likvorová diagnostika – Multidisciplinární laboratoř



Metody likvorové cytologie



Kvantitativní- cell count

- FR / automatizované (FCM)



Kvalitativní

- Cytocentrifugace
500ul CSF, 5 min. / 1100 rev./min
(Event. cytosedimentace – nižší zachyt)
- MGG, ORO, PAP, PAS, Gram, Ziehl-Neelsen...



Imunocytochemie

- Mono Ab – identifikace buněčných subtypů, nádorových elementů



Automatizované metody- flow cytometry

- identifikace + KVANTIFIKACE buněčných subtypů (lymfocytární apod)
- dg. leukemické, lymfomové infiltrace CNS

Nádorové elementy v likvoru

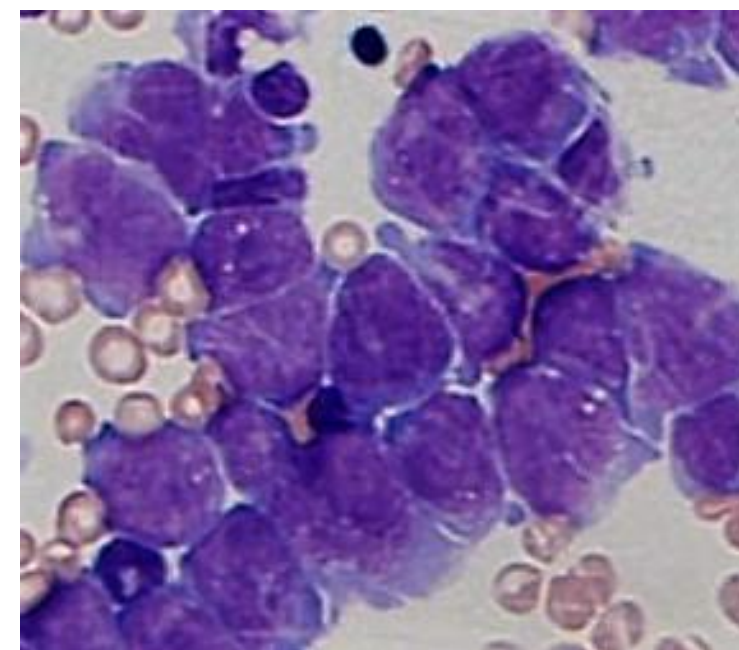
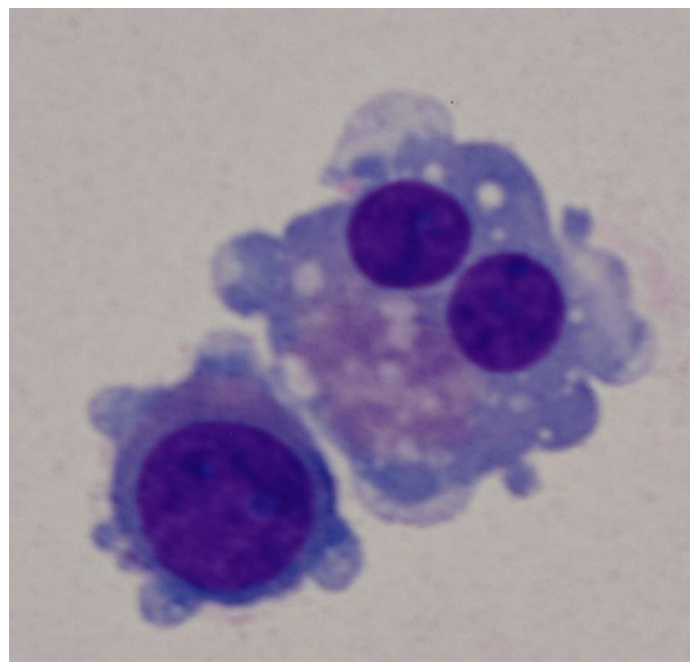
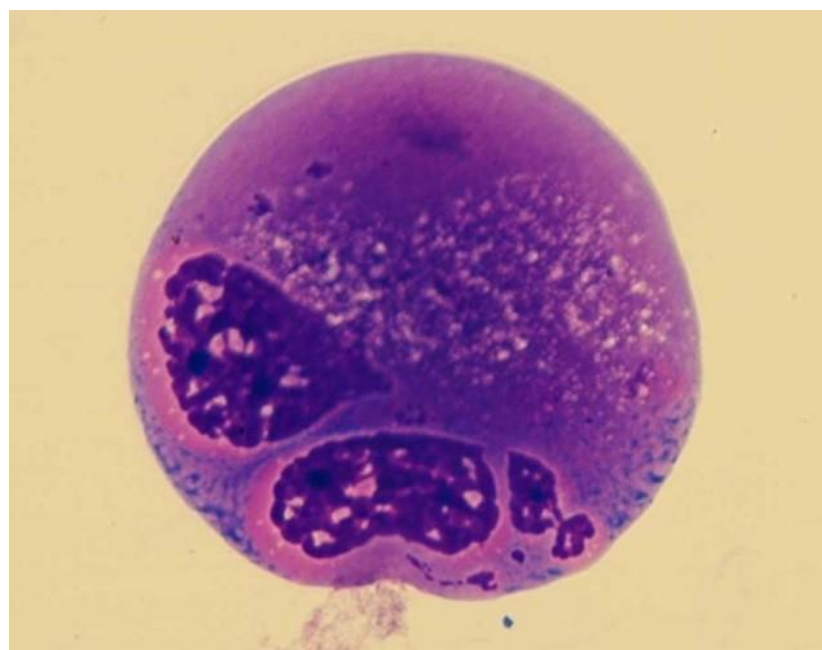
Záchyt a identifikaci nádorových buněk v likvoru obecně komplikují:

- malý objem primárního vzorku/ malý buněčný záchyt (5 el/ ul)
- onkoticky podmíněné morfologické změny (CB v likvoru 0,45 g/l ..)
- zánětlivě podmíněné morfologické změny
(aktivované lymfocyty x lymfomové buňky)



None of the morphological parameters sharply discerns neoplastic cells
(Perske et al. 2010)

For detailed tumor cells identification in CSF additional methods are needed :
CSF Immunocytochemistry .. and/ or FCM in lymphomas, leukaemias



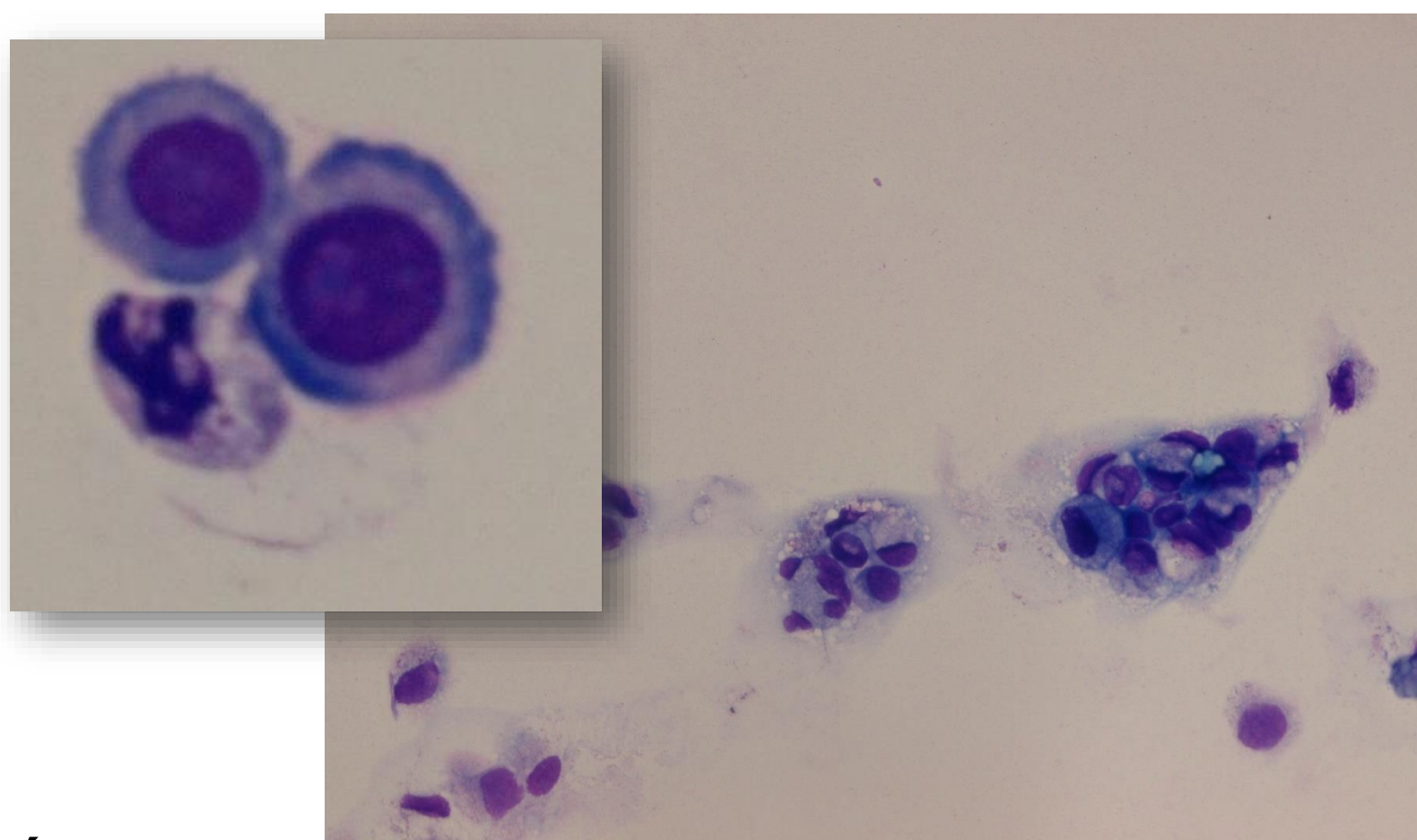
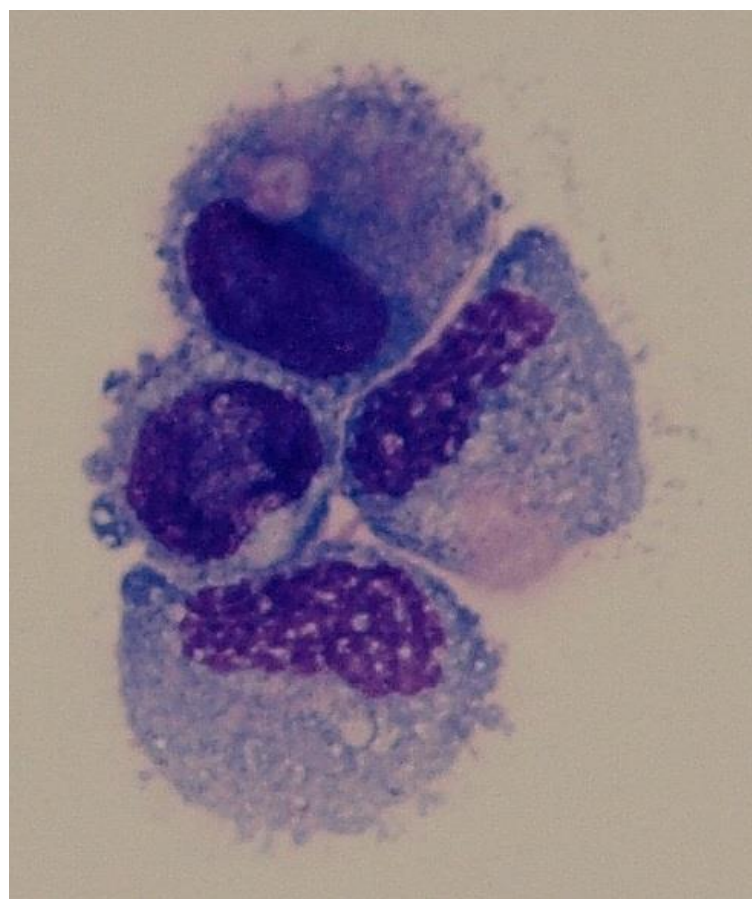
Modelová klinická situace č. 1

**Nález nádorových elementů v likvoru u
pacienta s klinickým postižením CNS
s němou nádorovou anamnézou...
Široká diff. dg. k určení primárního nádoru**

Kazuistika – blíže neurčené (?) nádorové buňky..

žena, 59 let. Cca. 2 měsíce progredující CNS symptomatika: Psyhosy, bilat. amaurosa, spastická kvadrusymptomatika, mozečková ataxie... MRI- signálové změny PV a subkortikálně. Někdy nádorová anamnéza... diff.dg. neuroinfekce, AE, PNS...

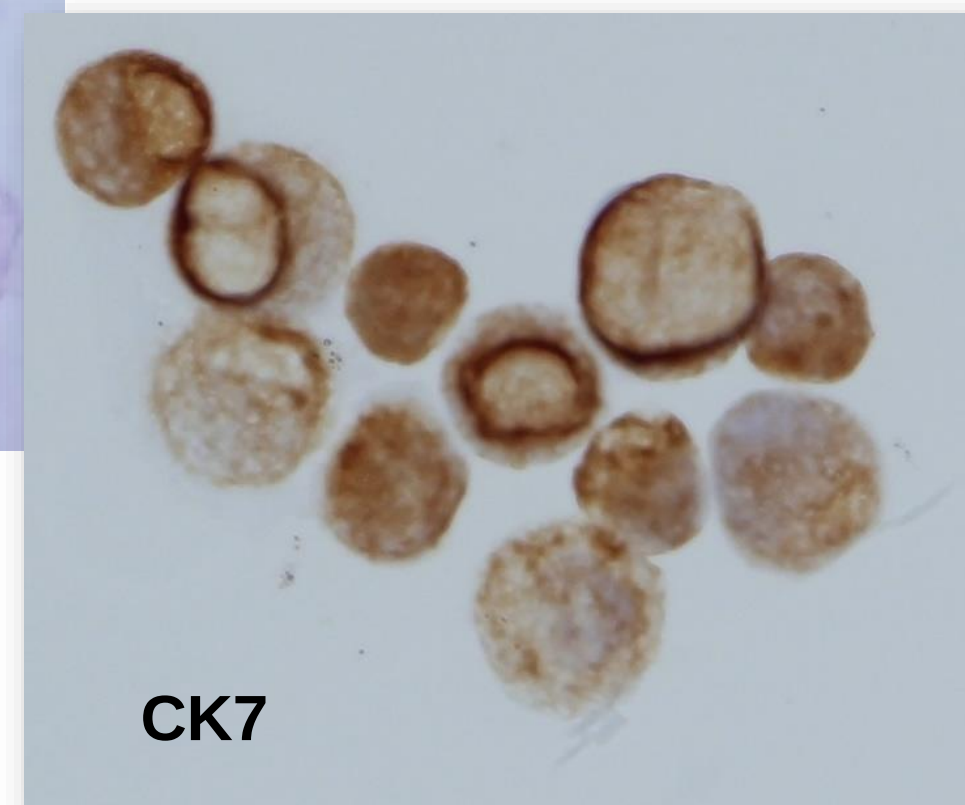
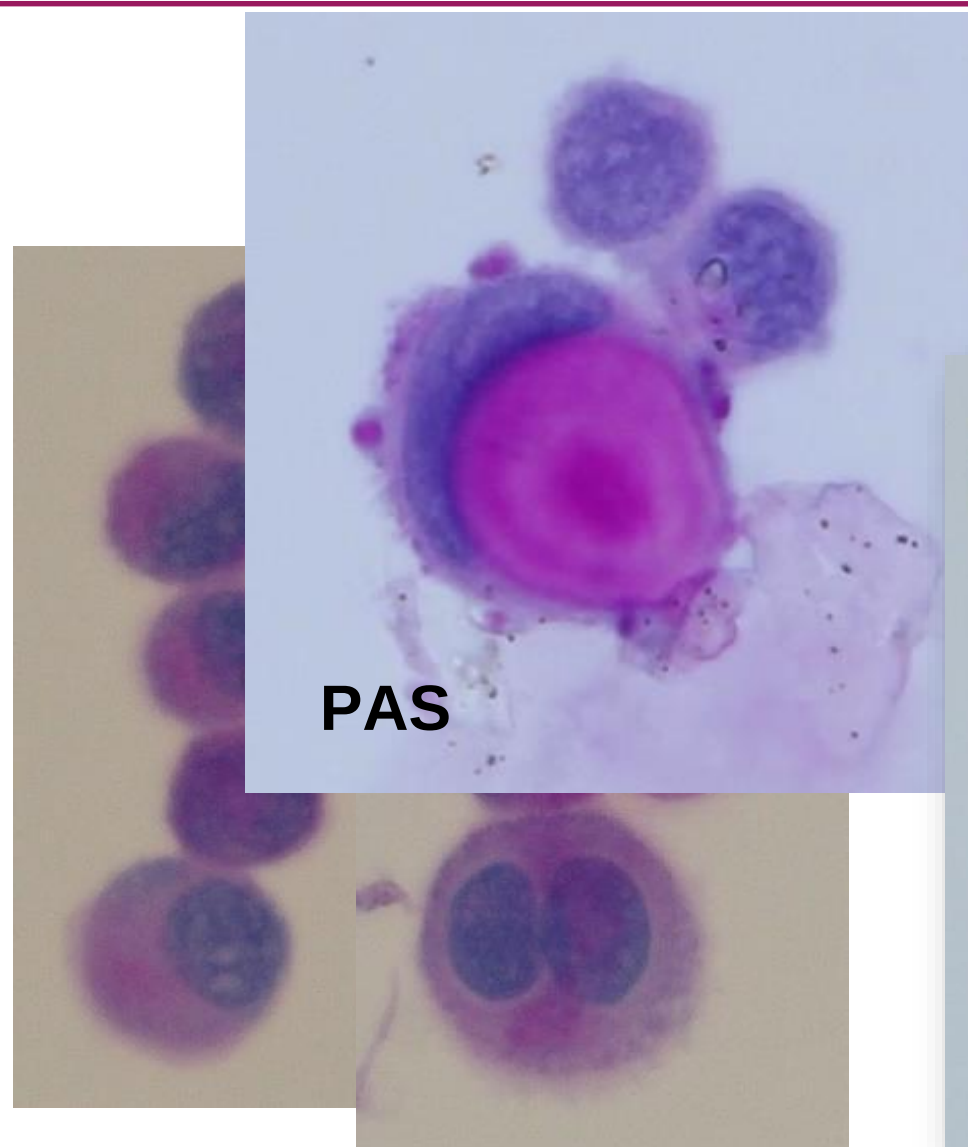
Likvor: el. 11/ ul, ery 0, CB 1,3 g/l, glu 1,48, lakt 8,85, KEB -69



Cytologický nálezn – 1. čtení:

Konziliární zhodnocení dodaného preparátu v základním barvení MGG: pleocytóza nádorovými buňkami s rysy karcinomu. V hledání primárního ložiska doporučuji soustředit pozornost zejména na **mléčné žlázy, plíce, zažívací trakt, vnitřní genitál** (řazeno dle stupně pravděpodobnosti). Dop. imunocytochemické došetření.

Kazuistika – blíže neurčené (?) nádorové buňky..



Cytologický nález – ICC: CKAE - pozitivní, TTF1 negativní, GATA3 negativní, p40 negativní- provedené průkazy ověřily ze základní morfologie předpokládanou karcinózu. Markery cílené na nejčastější možné zdroje při negativní anamnéze nepotvrdily východisko v plicích a mléčné žláze. Intracelulární vakuoly karcinomových buněk vykazují PAS pozitivitu + pozitivitu v průkazu CK7, negativitu CK20. Uvedený výsledek orientuje pátrání po zdroji ke strukturám s jednoduchými epitely: **žlučové cesty, pankreas, plíce, endometrium, renální vývody...** Potenciál recentně dodaného vzorku je tímto došetřením vyčerpán

Kazuistika – blíže neurčené (?) nádorové buňky..

Shrnutí:

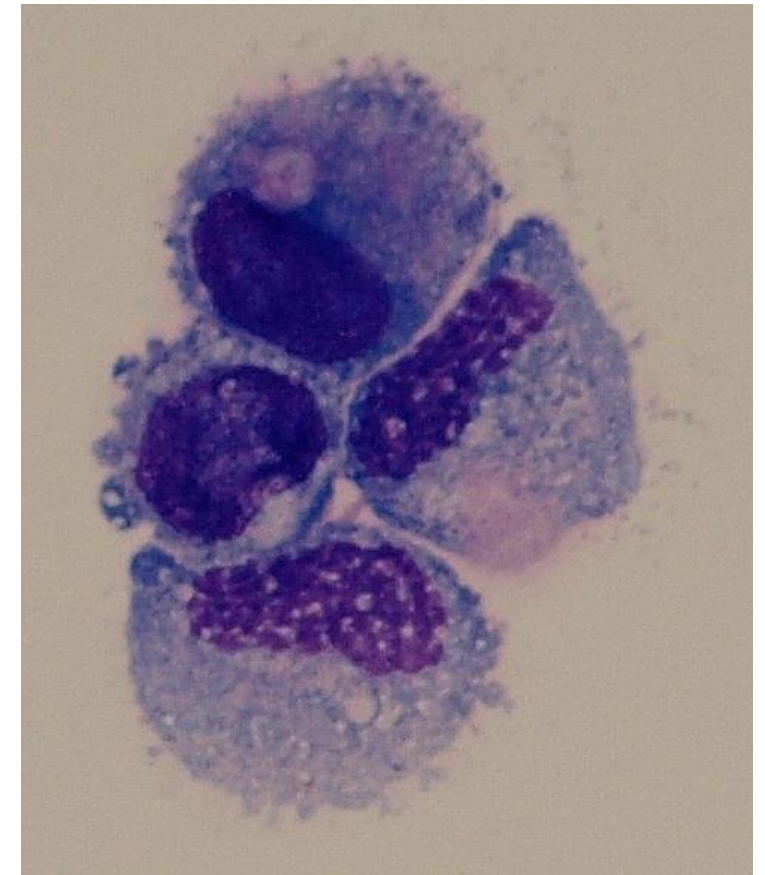
28.12-2017 – první konziliární čtení dodaného preparátu-
vyslovena dg. nádorové infiltrace CNS

10.1. 2018 – nový vzorek likvoru k provedení ICC.
Primární tumor stále nenalezen.

12.1. 2018 – výsledky ICC – dop. pátrat po primárním
zdroji „ **žlučové cesty, pankreas, plíce, endometrium,
renální vývody...**“ – k bližší typizaci již není k dispozici
materiál...

15.1. 2018 – dle UZ „málo suspektní nález na žlučníku-
spíše zánět stěny...“

17.1. 2018 – pacientka zemřela...
v pitevním nálezu potvrzen karcinom žlučníku



Modelová klinická situace č. 2

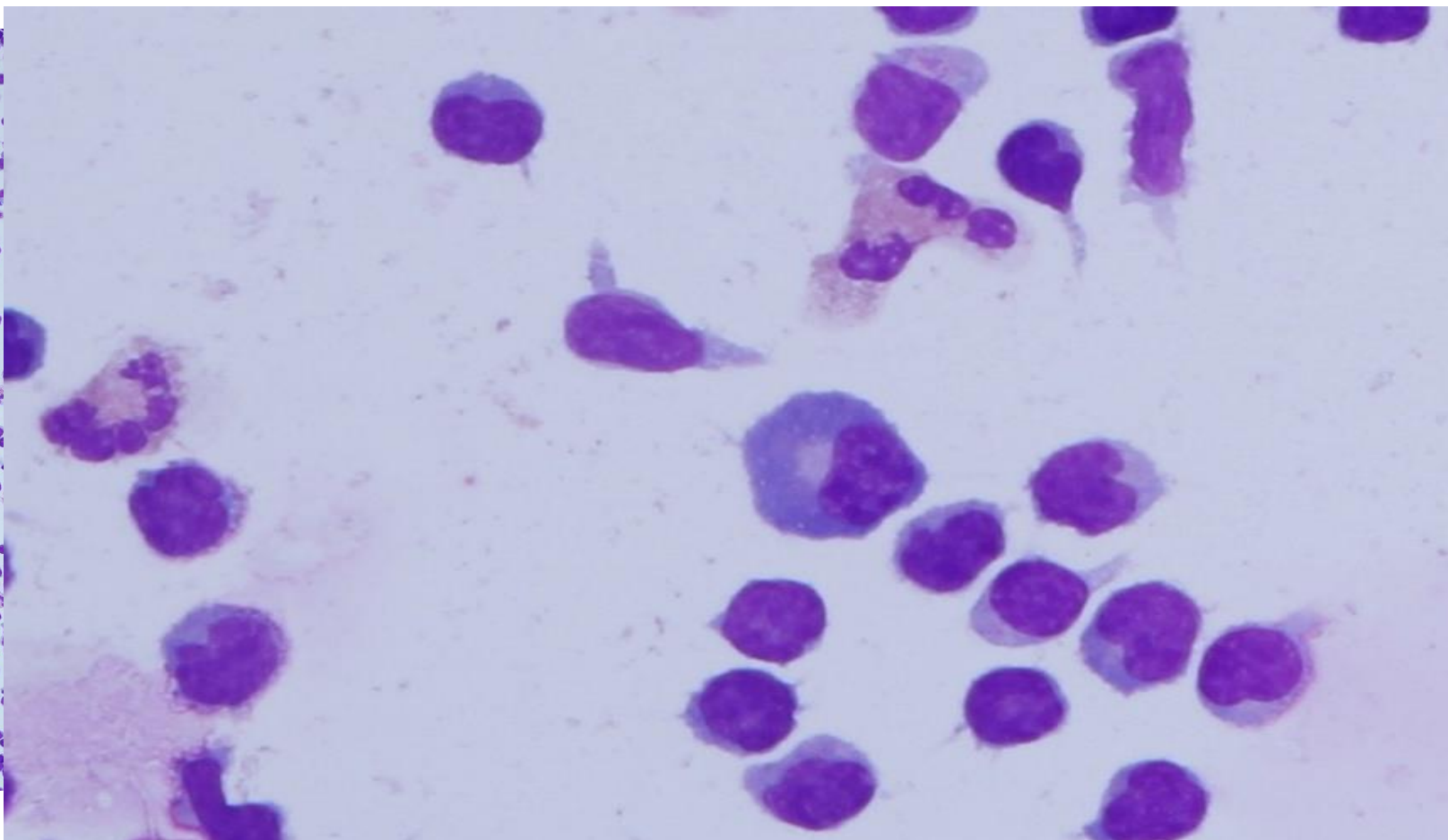
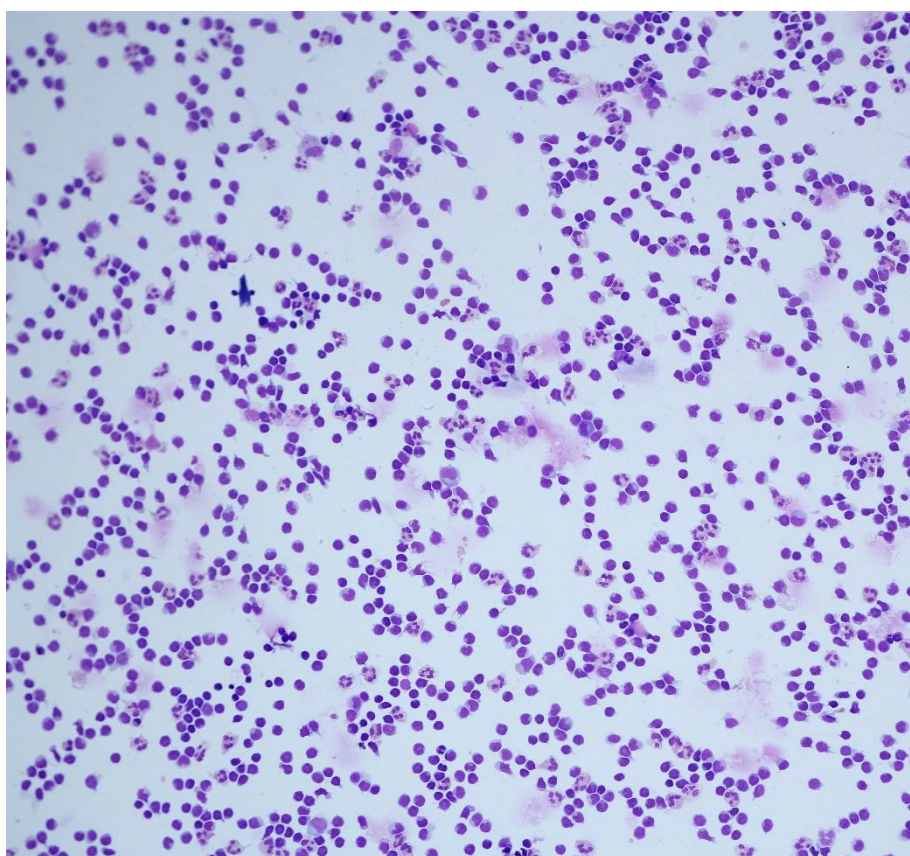
**Pacient s pozitivní nádorovou anamnézou
a neurologickým postižením...**

**Předpokládána nádorové infiltrace -
diff.dg. nenádorové postižení CNS**

Kazuistika - infiltrace CNS při CLL..?

Muž, 62 let. St.p. extirpaci pravé příušní žlázy s infiltrací B- CLL. Bolesti C páteře s propagací do hlavy, neurol. nálezní hyperreflexie DKK bilat., pyr. iritace DKK bilat., více vpravo, na MRI mozek + mícha pouze spondylosa, protruze C3-7.

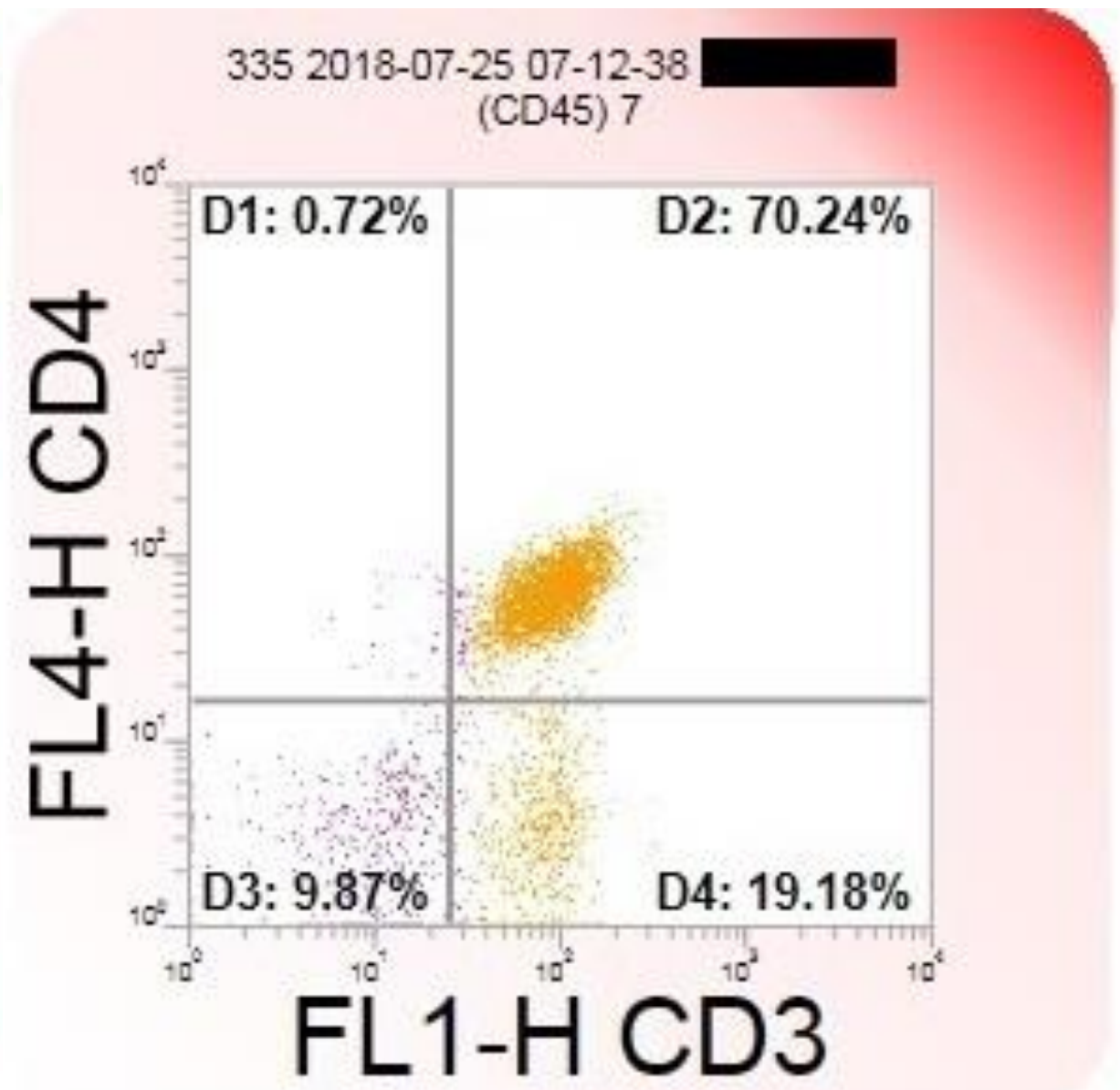
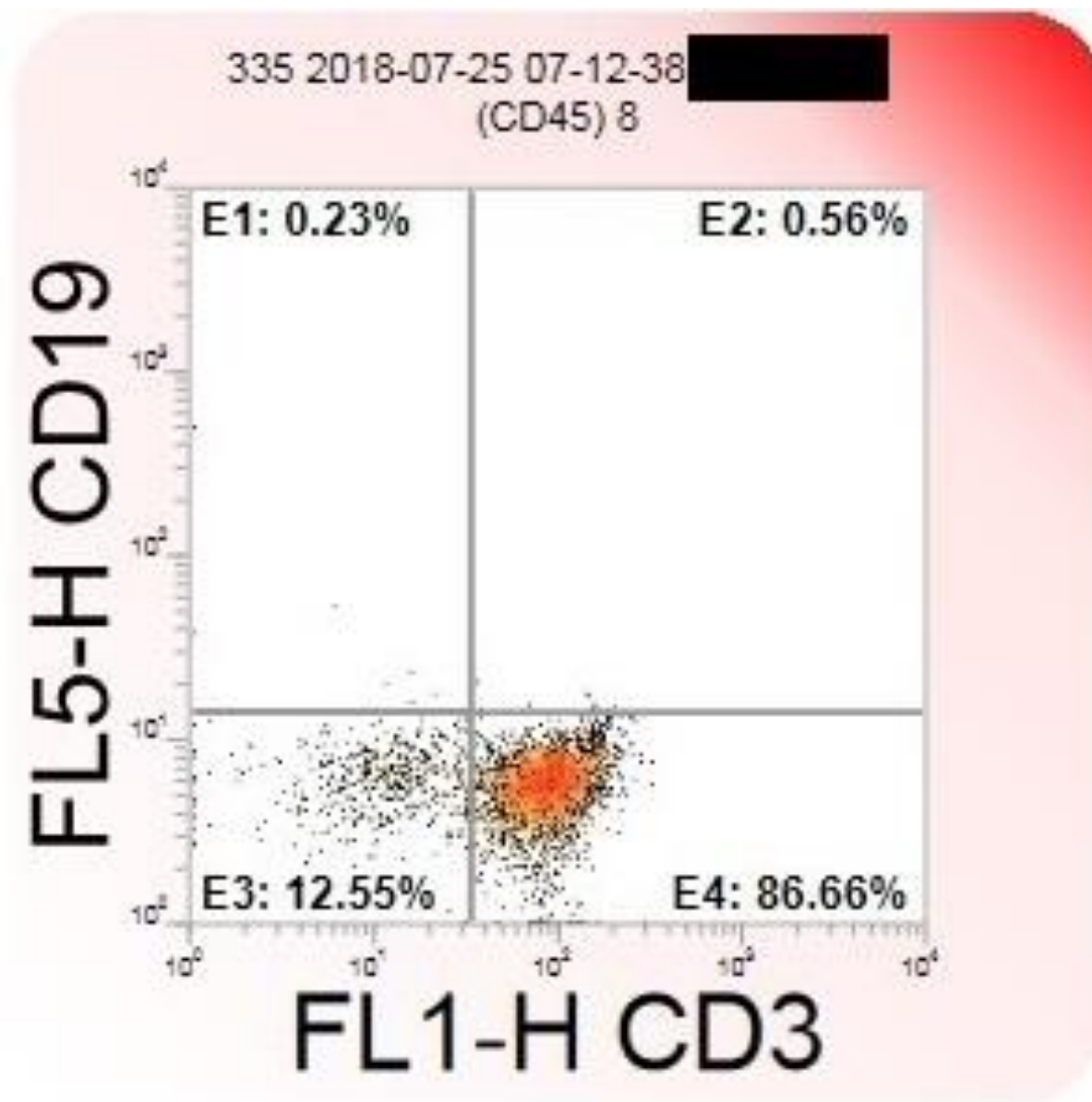
likvor: el. 566/uL, ery 8/uL, CB 4,8 g/L, glu 1,09 mmol/L, lakt 4,5mmol/L, KEB -36



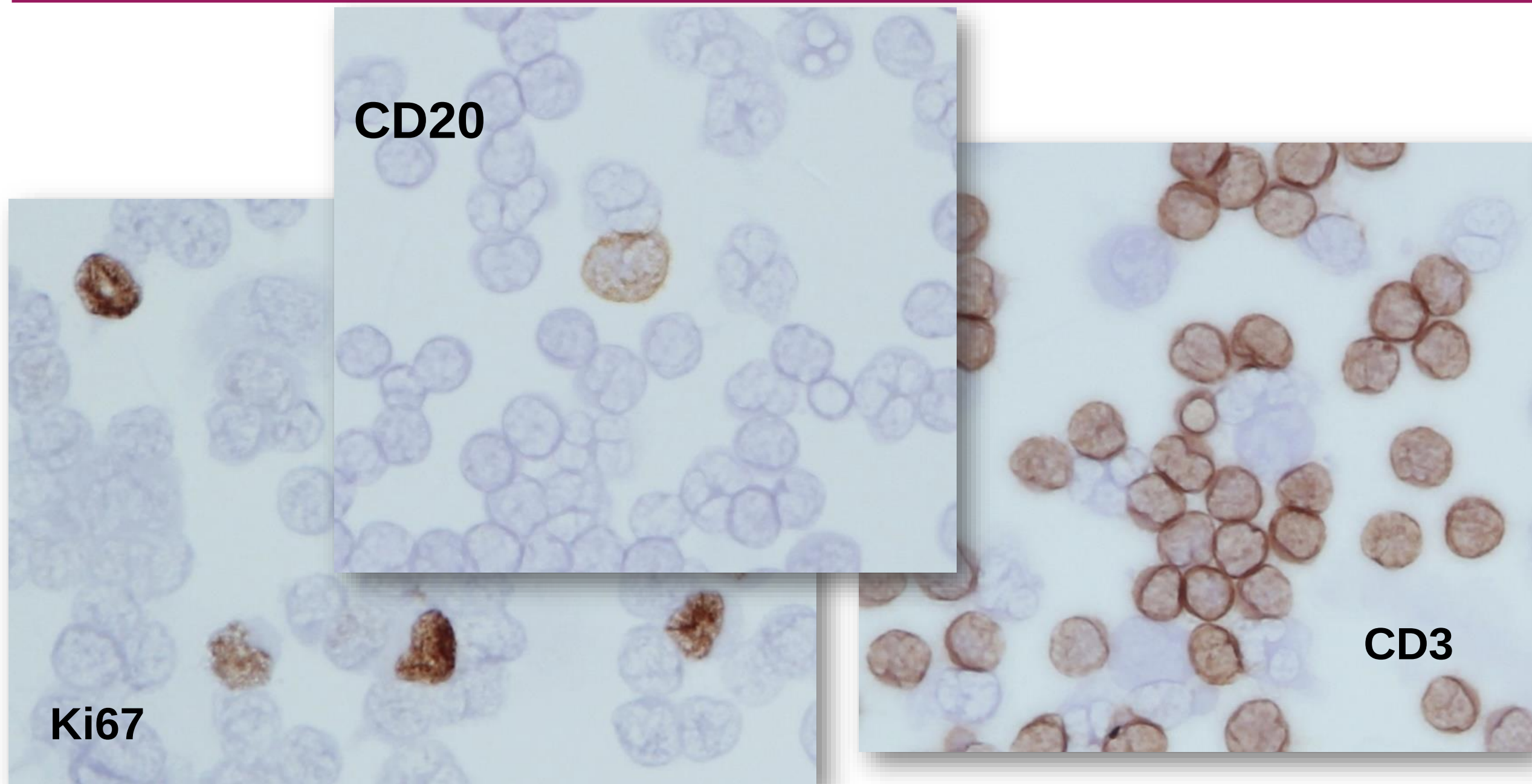
Cytologický nálezní – 1. čtení:

Nález lymfocytární pleocytozy s plazmocytární reakcí a příměsí PMN- tedy na 1. místě serózně zánětlivý obraz, diff. dg. však širší..(viz. anam.). Elementy budící již morfoloicky podezření na zjevný nádorový původ nenalezeny- bude provedeno další morfoloické čtení a imunocytochemická typizace + FCM s ohledem na základní dg.

Kazuistika – infiltrace CNS při CLL..?



Kazuistika – infiltrace CNS při CLL..?



II. čtení:

V popisné rovině z základního barvení hodnotím zcela ve shodě s primárním popisem. Ve prospěch předpokládané zánětlivé povahy pleocytózy svědčí i pozitivita většiny malých lymfocytů s CD3- odpovídá T lymfocytům. Nádorová buněčná populace odpovídající anamnesticky udané CLL/SLL prokázána nebyla.

Kazuistika – infiltrace CNS při CLL..?

		Zánětlivé markery			
Metoda	hodnota	Rozmezí	Metoda	hodnota	Rozmezí
IL-6 CSF	697 pg/ml	(<7.9)	IL-6	3.79 pg/ml	(<5.9)
IL-8 CSF	2141 pg/ml	(<91)	IL-8	11.1 pg/ml	(<62)
IL-10 CSF	36.7 pg/ml	(<5.4)	IL-10	9.92 pg/ml	(<9.1)
TNF A CSF	67.7 pg/ml	(<12.8)	TNF A	31.2 pg/ml	(<8.1)
CXCL 13 CSF	1196.52 pg/ml	(<20)			
Beta-2-microglobulin CSF	16.8 mg/l	(0.7 - 2.0)	Beta-2-microglobulin	6.3 mg/l	(1.09 - 2.53)
Orosomukoid CSF	99.2 mg/l	(2.5 - 4.5)	Orosomukoid	1.14 g/l	(0.5 - 1.2)
CRP CSF	78.7 ug/l	(10 - 40)	CRP	<3 0.92 mg/l	(<3)

PCR HSV1 - CSF **negativní**
PCR HSV2 - CSF **negativní**
PCR VZV - CSF **negativní**
PCR CMV - CSF **negativní**

PCR JCV - CSF **negativní**
PCR MTB - CSF **negativní**
PCR Chlamydia a Mycoplasma pneumoniae - CSF **negativní**
PCR Aspergillus sp. - CSF **negativní**
PCR Candida sp. (C.albicans) - CSF (P) **negativní**
PCR Candida sp. (C.glabrata) - CSF (P) **negativní**
PCR Candida sp. (C.krusei) - CSF (P) **negativní**
PCR Cryptococcus neoformans - CSF **negativní**
PCR Toxoplasma gondii - CSF **negativní**

Neurolues- Treponema pallidum

TP IgG CSF **0.059** U/ml (<8) TP IgG **0.1** U/ml (<16)
AI IgG TP **0.02** (<1.5)
TP IgM CSF **0.414** r (<0.8) TP IgM **0.024** r (<0.8)

Kazuistika – infiltrace CNS při CLL..? ...

PCR Borelie - CSF **POZITIVNÍ**

PCR EBV - CSF **POZITIVNÍ**

Resume:

Provedená likvorologická vyšetření svědčí pro floridní neuroborreliózu, provázenou v.s. reaktivací EBV..

Přímý průkaz nádorové infiltrace při základním onemocnění t.č. nenalezen.

cytologie jako NEDÍLNÁ součást komplexní diagnostiky LIKVORU

▶ likvorová cytologická diagnostika zahrnuje:

- *Kvantitativní cytologii*
- *Kvalitativní cytologii*
- *ICC*
- *FCM*

▶ přísná pre-analytická kritéria pro likvor:

- *čerstvý vzorek (2-3h max)*
- *dostatečný objem (5-10ml)*

▶ **Cytologie součástí komplexní laboratorní diagnostiky !**

- *Biochemické parametry*
- *Imunologické parametry*
- *Mikrobiologické parametry*



▶ Nutná laboratorně- klinická interpretace !

▶ Intenzivní komunikace: klinické <-> laboratorní pracoviště..