

# Il ruolo della medicina di laboratorio nella valutazione del liquido cefalorachidiano

A cura di *Ilaria Crespi e Patrizia Natali*

Il liquido cefalorachidiano LCR o liquor, è un fluido che in condizioni fisiologiche incolore, limpido e sterile, prelevato tramite puntura nel terzo, nel quarto o nel quinto spazio intervertebrale, la cui indagine deve essere eseguita possibilmente entro un'ora dal prelievo per evitare l'alterazione delle cellule.

L'analisi chimico-fisica del LCR riveste un'importanza fondamentale diagnosi di una ampia varietà di malattie e condizioni che colpiscono il sistema nervoso centrale (SNC).

## 1. Esame liquorale chimico fisico e conta cellulare

Parametro	Fisiologico	Patologico
Colore	Incolore	L'aspetto xantocromico dopo centrifugazione, è dovuta alla bilirubina indice di emorragia
Aspetto	Limpido	La torbidità può essere dovuta ad un ad elevato numero di cellule e/o batteri
Glucosio	50 – 80 mg/dL	↓ sospetta un'infezione batterica
Cloruri	115-130 mEq/L	↓ sospetta meningite
Acido Lattico	9 – 25 mg/dL	↑ meningiti batteriche, ↓ meningiti virali
Proteine totali	15 – 45 mg/dL	↑ Meningiti batteriche, Meningiti virali, Emorragia aracnoidea, Ascenso, Encefalite, Neoplasie, Sindromi demielinizzanti
Conta cellulare	0 – 5 cell/μl	↑ Processi infiammatori, emorragie, neoplasie, ecc.

Tabella 1. Esami liquorali di base

Vedi anche [LabTestOnline](#)

## 2. Le proteine liquorali

Il LCR è caratterizzato da una bassa concentrazione proteica, 0,5-1% della concentrazione plasmatica in quanto il passaggio delle proteine viene ostacolato dalla barriera ematoencefalica (BEE).

Un loro aumento può essere dovuto due cause principali a:

- aumento della frazione proteica che deriva dal sangue ed indica un *danno di barriera ematoencefalica*

- comparsa di una frazione proteica prodotta a livello del SNC la così detta *sintesi intratecale*.

## 2.1 Danno di barriera

Il parametro con cui si misura la permeabilità della BEE e quindi di un possibile danno della stessa è il quoziente albuminico (QAlb). L'albumina, infatti, sintetizzata esclusivamente a livello epatico deriva solo dal plasma e costituisce circa il 57% delle proteine liquorali (1).

### 2.1.1 Quoziente albuminico

È un indicatore la cui formula è:

$$\text{QAlb} = \frac{\text{LRC Alb}}{\text{Siero Alb}} \times 100 < 0,7 \text{ (v.n.)}$$

Il valore normale di QAlb è < 0,7 ma può essere aumentato nei soggetti anziani e nei bambini molto piccoli a causa di un fisiologico aumento della permeabilità della BEE (2).

## 2.2 Sintesi Intratecale

Con il termine Sintesi intratecale (SI) ci si riferisce a qualsiasi condizione comporti una sintesi di una determinata proteina a livello del SNC.

### 2.2.1 Analisi qualitativa

La ricerca qualitativa delle IgG avviene sia sul LCR che sul siero dello stesso paziente. La tecnica più sensibile e specifica è l'immuno-elettrofocusing (IEF) seguita da rilevazione immunologica con anticorpo anti IgG (immunoblotting o immunofissazione) coniugato con enzima.

#### 2.2.1.1 Bande Oligoclonali

Quando si sottopongono siero e liquor dello stesso paziente a IEF, l'eventuale produzione di cloni di IgG è rilevata da una o più bande oligoclonali (BO). L'eventuale differenza tra il numero di bande evidenziate sul siero e sul liquor indica se il paziente presenta un danno di barriera o se è in atto una sintesi intratecale di IgG.

La presenza di BO è determinante per stabilire la diagnosi di Sclerosi Multipla (SM).

Dal confronto della corsa effettuata in parallelo di liquor e siero ci si possono attendere 5 profili (**Tabella 2**) come riportato dal Consensus Statement del 2015 (3):

TIPO	Profilo	Correlazione clinica
Tipo 1	Normale: liquor policlonale, siero policlonale	Assenza di reazione oligoclonale
Tipo 2	Sintesi intratecale: liquor oligoclonale, siero policlonale	Processi infiammatori cronici del SNC (es.: SM, sindromi paraneoplastiche)
Tipo 3	Sintesi intratecale e danno di BEE: liquor oligoclonale, siero oligoclonale, $BO_{Liquor} > BO_{Siero}$	Processi infiammatori acuti del SNC (es.: encefaliti virali)
Tipo 4	Danno di BEE: liquor oligoclonale, siero oligoclonale, $BO_{Liquor} = BO_{Siero}$	Processi infiammatori cronici sistemici (es.: poliradicolonevrite)
Tipo 5	Gammopatia monoclonale: liquor monoclonale, siero monoclonale	Gammopatie monoclonali

Tabella 2. 5 profili riscontrabili nel confronto del numero di BO nel liquor e nel siero

I profili 2 e 3 sono considerati positivi mentre i profili 1, 4 e 5 sono negativi per SI, che viene definita dalla presenza di almeno 2 BO esclusivamente liquorali.

## 2.2.2 Analisi quantitativa

### 2.2.2.1 Indice di IgG o Indice di Link

È raccomandato valutare contemporaneamente con la stessa metodica le corrispondenti concentrazioni liquorali sieriche di IgG e Albumina; la loro quantificazione permette di valutare la SI di IgG. È dato dal rapporto tra il QIgG/QAlb (QIgG = IgG Liquor/ IgG siero).

$$\text{Indice IgG} = \frac{\text{LRC IgG / Siero IgG}}{\text{LRC Alb / Siero Alb}} < 0,7 \text{ (v.n.)}$$

È una funzione lineare ed un suo incremento è riscontrabile nel 70-90% dei pazienti con SM, anche se tale alterazione non è specifica della malattia (1).

### 2.2.2.2 Kappa Index

Diversi Autori (4–8) recentemente propongono le catene leggere libere (FLC), in particolare le FLC- $\kappa$ , come valido marcatore di SI con sensibilità e specificità comparabile alle BO a tutt'oggi considerate il "gold standard" (9).

Le FLC- $\kappa$  vengono espresse come K Index:

$$\text{K Index} = \frac{\text{LRC FLC-}\kappa / \text{Siero FLC-}\kappa}{\text{LRC Alb} / \text{Siero Alb}}$$

Il K Index si rivela particolarmente utile nella diagnosi di SM, tuttavia non esiste ancora un accordo sul valore soglia, o di patologia, di K Index. In pazienti affetti da SM negativi alla ricerca di BO, è stato verificato che il K index in alcuni casi è in grado di aumentare la sensibilità per la diagnosi di SM (10).

### 2.2.3 Confronto tra il metodo qualitativo e K index

In **Tabella 3** la sintesi del confronto tra K index e BO.

K index	Bande Oligoclonali
Tecnica automatica	Tecnica manuale
Tecnica quantitativa	Tecnica qualitativa
Lettura di un dato numerico	Interpretazione operatore dipendente
Esecuzione 20-60 min	Esecuzione 3 h e 30 min
Metodica dipendente (nefelometrica, turbidimetrica)	IEF (home-made, o strumentazione semiautomatica)
Mancanza di un calibratore universale	Pool di liquor e di sieri come controlli
Non inserito nei criteri diagnostici per la SM (McDonald, 2017)	Inserito nei criteri diagnostici per la SM (McDonald, 2017)

*Tabella 3. K index e Bande Oligoclonali, confronto tra i due metodi*

Attualmente il test nefelometrico/turbidimetrico fornisce un dato affidabile, con sensibilità uguale o superiore alle BO, riduce le procedure manuali e le variabili interpretative ed è eseguibile in routine fornendo risposte in tempi rapidi (7,8).

I limiti della metodica sono tuttavia la non riproducibilità del dato su piattaforme diverse, differenti sensibilità a seconda degli strumenti e la mancanza di un calibratore come riferimento internazionale (11).

Alcuni Autori (8,12) propongono l'impiego del K Index alla stregua un *reflex test*: una volta determinato il K Index, solo se il risultato supera il cut-off stabilito dal laboratorio si procede all'esecuzione delle BO con indiscutibili vantaggi in termini di *turn-around time*.

È comunque da rimarcare che ad oggi il K Index non è previsto nei criteri diagnostici di McDonald per la SM, compresa l'ultima recente revisione del 2017 (9). Rimane pertanto obbligatoria l'analisi delle BO ogni volta che viene richiesta l'analisi LCR per supportare la diagnosi di SM.

## Bibliografia

1. Bernardi G, Brunati P, Biagioli T, Buoro S, Cataldo I, Ciusani E, et al. L'analisi del liquido cefalorachidiano. *Biochim Clin.* 2014;38(3):238–54.
2. Bernardi G, Brunati P, Biagioli T, Buoro S, Cataldo I, Ciusani E, et al. L'analisi del liquido cefalorachidiano. 2014;38.
3. Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, Giovannoni G, Grimsley G, Keir G, et al. Recommended Standard of Cerebrospinal Fluid Analysis in the Diagnosis of Multiple Sclerosis. A Consensus Statement. *Arch Neurol.* 2005;62(6):865–70.
4. Presslauer S, Milosavljevic D, Huebl W, Parigger S, Schneider-Koch G, Bruecke T. Kappa free light chains: Diagnostic and prognostic relevance in MS and CIS. *PLoS One.* 2014;9(2):e89945.
5. Presslauer S, Milosavljevic D, Brücke T, Bayer P, Hübl W. Elevated levels of kappa free light chains in CSF support the diagnosis of multiple sclerosis. *J Neurol.* 2008;255(10):1508–14.
6. Bernardi G, Cataldo I. La determinazione delle catene leggere libere nel liquido cefalorachidiano: L'esperienza di due laboratori italiani. *Biochim Clin.* 2013;37(5):389–94.
7. Crespi I, Vecchio D, Serino R, Saliva E, Virgilio E, Sulas MG, et al. K Index is a Reliable Marker of Intrathecal Synthesis, and an Alternative to IgG Index in Multiple Sclerosis Diagnostic Work-Up. *J Clin Med.* 2019;8(4):2–7.
8. Crespi I, Giovanna M, Riccardo S, Naldi MP, Vecchio D, Comi C, et al. Combined use of kappa free light chain index and isoelectrofocusing of cerebro-spinal fluid in diagnosing multiple sclerosis: performances and costs. *Clin Lab.* 2017;63(3):551–9.
9. Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, et al. Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol.* 2018;17(2):162–73.
10. Altinier S, Puthenparampil M, Zaninotto M, Toffanin M, Ruggiero S, Gallo P, et al. Free light chain in cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients negative for IgG oligoclonal bands. *Clin Chim Acta.* 2019;496(117–120).
11. Graziani MS. Measurement of free light chains – Pros and cons of current methods. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(6):1015–20.
12. Gurtner KM, Shosha E, Bryant SC, Andreguetto BD, Murray DL, Pittock SJ, et al. CSF free light chain identification of demyelinating disease: Comparison with oligoclonal banding and other CSF indexes. *Clin Chem Lab Med.* 2018;56(7):1071–80.