

Ferritina e siderofagi liquorali nella diagnosi di siderosi cerebrale superficiale

Giulia M. Sancesario^{1,2}, Tommaso Schirinzi³, Lucia Anemona⁴, Antonio Pisani³, Ottavia Porzio¹, Giuseppe Sancesario³, Sergio Bernardini¹

¹Dipartimento Medicina Sperimentale e Chirurgia, Policlinico Universitario Tor Vergata, Roma

²Dipartimento Neurologia Clinica e Comportamentale, Fondazione Santa Lucia, Roma

³Dipartimento Medicina dei Sistemi, Policlinico Universitario Tor Vergata, Roma

⁴Dipartimento Biomedicina e Prevenzione, Policlinico Universitario Roma Tor Vergata, Roma, Italia

ABSTRACT

Cerebrospinal fluid ferritin and siderophages in the diagnosis of superficial cerebral siderosis. We observed a case of superficial siderosis (SS) of the central nervous system caused by an hemorrhagic trauma forty years before. We questioned whether SS was the stabilized effect of a remote bleeding or an evolutionary process indirectly related to the trauma. Moreover, we aimed to evaluate whether an iron chelator can affect the level of iron deposition. Magnetic Resonance (MRI) demonstrated iron accumulation mainly on the surface of the cerebellum and brain stem. Cerebrospinal fluid (CSF) microscopic analysis revealed few siderophages; CSF ferritin level was 76 ng/mL (reference value <12). After treatment with an iron chelator (deferiprone) for three months, MRI was unchanged, but the CSF ferritin was about 20% less. The presence of few siderophages supported the hypothesis of a persistent subarachnoid microbleeding. CSF ferritin, as an iron deposition index, allowed a diagnosis of SS and a more sensitive evaluation of the efficacy of the treatment than the MRI.

CASO CLINICO

Abbiamo osservato il caso di un uomo di 67 anni che da cinque anni presentava progressiva perdita dell'udito e da un anno atassia della marcia e disartria. Il paziente all'età di 24 anni è stato vittima di un incidente stradale che gli ha causato un ematoma frontale subdurale, l'avulsione delle radici del plesso brachiale sinistro, fratture della pelvi e del femore sinistro. Come conseguenza, il paziente ha sofferto di paralisi flaccida dell'arto superiore sinistro e paralisi spastica dell'arto inferiore sinistro. Nonostante questo, il paziente ha svolto il lavoro di insegnante di liceo e ha condotto una vita quasi normale per circa 40 anni.

Ci siamo chiesti se l'attuale aggravamento clinico fosse l'effetto stabilizzato del vecchio sanguinamento o se invece fosse dovuto a un attivo processo di sanguinamento, cronico o intermittente.

Il paziente è stato sottoposto a valutazione neurologica, risonanza magnetica (MRI) del cervello e del midollo, analisi biochimiche plasmatiche e citomorfochimica del liquido cefalo-rachidiano (LCR). In particolare, sono stati valutati le concentrazioni di ferritina nel LCR come indice indiretto dell'accumulo di ferro, e la

presenza di eritrociti e macrofagi come indice di sanguinamento.

La MRI ha evidenziato atrofia cerebellare diffusa e ipointensità nelle immagini T2 pesate, dovuta a depositi di emosiderina sulla superficie del cervelletto, del tronco encefalico, del talamo periventricolare e del midollo spinale. Inoltre, erano presenti cisti epidurali (pseudomeningocele) a livello di C4-C8 nel lato sinistro.

L'LCR era limpido e incolore, le proteine totali 551 mg/L (i.r. 150-450), i linfociti erano 9/uL (v.r. <5); l'analisi microscopica ha rilevato la presenza di rari macrofagi contenenti frammenti di eritrociti (siderofagi). I livelli di ferritina nel LCR erano 76 ng/mL (v.r. <12). Gli esami ematochimici non hanno evidenziato alterazioni metaboliche o altre patologie in atto.

I dati clinici e neuro-radiologici supportavano una diagnosi di siderosi superficiale (SS). L'analisi del LCR, con aumento della concentrazione di ferritina e presenza di siderofagi, dimostrava una condizione di micro sanguinamento subaracnoideo intermittente o persistente. Infatti, i siderofagi compaiono 1-2 giorni dopo l'emorragia e possono persistere per settimane; da notare, l'assenza di eritrociti nel LCR. La presenza di una raccolta di LCR extra-durale è suggestiva di un danno

Corrispondenza a: Giulia M. Sancesario, Fondazione Policlinico Tor Vergata, Via Oxford 81, 00133 Roma. Tel. 0620902259, Fax 0620902259, E-mail giulia.sancesario@gmail.com

Ricevuto: 24.03.2015

Revisionato: 17.04.2015

Accettato: 23.04.2015

della dura che può rappresentare una sorgente di sanguinamento nello spazio subaracnoideo che provoca la SS.

Il paziente è stato trattato per tre mesi con deferiprone, un chelante del ferro in grado di superare la barriera emato-encefalica (1). Al termine del trattamento, abbiamo osservato evidenti miglioramenti clinici della disabilità ("Scale for the Assessment and Rating of Ataxia": iniziale 22, finale 18). La comparazione qualitativa delle immagini di risonanza non evidenziava modifiche apprezzabili nei depositi di emosiderina sulla superficie del sistema nervoso centrale (SNC). Invece, l'analisi del LCR dimostrava una riduzione della concentrazione di ferritina dopo il trattamento da 76 a 61,7 ng/mL; l'esame citomorfochimico era inalterato. Purtroppo questo esame del LCR non è stata effettuata la ricerca dei siderofagi. Durante il corso della terapia, i valori di emocromo, la funzionalità epatica, il ferro e la ferritina plasmatici sono rimasti stabili.

DISCUSSIONE

La SS è una rara malattia neurodegenerativa progressiva causata da fuoriuscita cronica o intermittente di sangue nello spazio subaracnoideo che porta ad accumulo di emosiderina sulla superficie del SNC. La sorgente del sanguinamento solitamente non è identificabile e può essere dovuta a traumi, tumori, malattie vascolari, interventi chirurgici, danni del plesso brachiale (2). In questo caso, il trauma aveva prodotto la completa rottura del plesso brachiale sinistro con avulsione delle radici cervicali. Queste lesioni sono associate nel 21-57% dei casi alla comparsa di pseudo meningocoele, anche diversi anni dopo il trauma (3). Nel nostro caso, il pregresso trauma cervicale e la presenza di una raccolta di fluido extra-durale suggerivano un danno della dura, che può rappresentare una sorgente di sanguinamento nello spazio subaracnoideo e provocare la SS (4).

La SS evolve in cinque fasi: la fuoriuscita cronica o intermittente di sangue nello spazio sub aracnoideo e la diffusione attraverso il LCR; l'emolisi e la degradazione dell'emoglobina in globina, eme e ferro; l'ingresso dell'eme nelle cellule gliali e la stimolazione della sintesi di ferritina, capace a sua volta di sequestrare l'eccesso di ferro; la conversione della ferritina solubile in emosiderina insolubile; infine il danno del tessuto nervoso (5). Nonostante la ferritina abbia un ruolo chiave nel mantenimento dell'omeostasi del ferro, tuttavia l'eccesso di ferro libero all'interno delle cellule catalizza la formazione di radicali liberi tossici danneggiando DNA, RNA e proteine.

Le linee guida per la diagnosi dell'emorragia subaracnoidea raccomandano l'analisi liquorale del contenuto di ossiemoglobina e di bilirubina (6), un derivato della conversione enzimatica dell'eme prodotto dalla degradazione dell'emoglobina. Dal momento che questo processo è tempo-dipendente, la concentrazione di ossiemoglobina e bilirubina forniscono informazioni

sulla occorrenza di un'emorragia subaracnoidea acuta rispettivamente entro due-dodici ore o una settimana (6,7). L'analisi avviene attraverso la lettura dell'assorbanza in spettrofotometria rispettivamente a 450-460 e a 410-418 nm. Tuttavia, in caso di alte quantità di ossiemoglobina, lo spettro può sovrapporsi a quello della bilirubina, provocando la sottostima di quest'ultima o mascherandone completamente il picco, complicando così l'interpretazione del risultato (7). Inoltre, trattandosi di una procedura manuale, il risultato è influenzato dall'esperienza dell'operatore. Per queste ragioni, l'analisi spettrofotometrica del liquor ha una limitata diffusione nella maggior parte dei laboratori, anche tra i più specializzati. La ferritina liquorale aumenta dopo tre giorni da un'emorragia acuta e raggiunge la concentrazione massima in 7-10 giorni. Nel nostro caso abbiamo verificato che la ferritina può essere un indice sensibile per valutare una condizione di microemorragia cronica.

La ferritina è il principale trasportatore extracellulare del ferro, è prodotto intratecalmente in presenza di ferro libero o di composti contenenti eme nello spazio extra cellulare o sub aracnoideo (8). Così come per il sangue, la ferritina nel LCR può rappresentare una misura indiretta dell'accumulo di ferro nel SNC. Normalmente, la concentrazione di ferritina nel LCR è inferiore a 12 ng/mL (8) e aumenta fino a 75 ng/mL in caso di SS (9). La determinazione della ferritina nel liquor è stata eseguita su Dimension Vista (Siemens), dopo aver verificato la riproducibilità e la sensibilità del metodo con diluizioni di un "pool" di liquor. La possibilità di effettuare la misura della ferritina utilizzando la strumentazione di routine del laboratorio, offre un vantaggio per la diffusione dell'esame e soprattutto la sua esecuzione in tempi rapidi, anche in regime di urgenza durante le 24 ore. Inoltre, la ferritina liquorale può essere utile per valutare sospetti di emorragie sub aracnoidee pregresse, dal momento che concentrazioni elevate possono permanere fino a due mesi dopo il sospetto di sanguinamento (7). Nel nostro caso, oltre a supportare la diagnosi di SS e l'ipotesi di un sanguinamento attivo, dimostrata dalla presenza di siderofagi, abbiamo considerato i valori di ferritina come possibile indice per valutare la risposta alla terapia con un chelante del ferro.

Al momento, non ci sono trattamenti risolutivi per la SS. In casi simili, l'ablazione della sorgente del sanguinamento produce solo un minimo miglioramento, mentre la SS continua a progredire poiché i depositi di emosiderina presenti al momento della manifestazione dei sintomi clinici superano la fisiologica capacità di rimozione del ferro dal cervello. Recentemente è stata suggerita l'efficacia terapeutica e la sicurezza del deferiprone, un chelante del ferro liposolubile che è in grado di oltrepassare la barriera emato-encefalica (1).

Nel caso in esame, il miglioramento clinico, in seguito al trattamento con deferiprone per via orale, 30 mg/kg al giorno per 90 giorni, non si associava a cambiamenti apprezzabili nei depositi di emosiderina sulla superficie del SNC nelle immagini di risonanza. L'analisi del LCR

dimostrava, invece, una riduzione dei livelli di ferritina da 76 ng/mL a 61,7 ng/mL. L'analisi liquorale è stata utile per identificare la presenza di un sanguinamento subaracnoideo attivo come causa della SS. L'analisi microscopica ha evidenziato la presenza di siderofagi in assenza di eritrociti o eritrofagi, mentre la misura della ferritina ha potuto confermare la presenza di SS e valutare indirettamente la riduzione dell'accumulo di ferro in seguito al trattamento. Le concentrazioni di ferritina dopo tre mesi di terapia sono ridotti di ~20%, mentre invece nessun cambiamento è stato evidenziato in MRI. Non possiamo escludere che la riduzione della ferritina nel LCR possa essere dipesa da un'interruzione casuale del sanguinamento; tuttavia, tale diminuzione si è associata a un miglioramento dei sintomi clinici, suggerendo che questo sia dovuto all'abilità del farmaco a chelare e rimuovere il ferro, che rappresenta l'elemento patogenetico della SS.

La determinazione della ferritina nel LCR potrebbe rappresentare un indice più sensibile rispetto alle tecniche di "imaging" per valutare l'efficacia di trattamenti con chelanti del ferro in casi di SS. Inoltre, i metodi comunemente presenti in laboratorio per la misurazione nel siero possono essere facilmente validati per l'uso su matrici biologiche diverse, come il LCR. La possibilità di eseguire la misura della ferritina nel LCR in modo automatizzato potrebbe favorire la diffusione di questo esame presso i laboratori specializzati e la realizzazione di uno studio di validazione estensivo.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Levy M, Llinas R. Pilot safety trial of deferiprone in 10 subjects with superficial siderosis. *Stroke* 2012;43:120-4.
2. Kumar N. Superficial siderosis: associations and therapeutic implications. *Arch Neurol* 2007;64:491-6.
3. Tanaka M, Ikuma H, Nakanishi K, et al. Spinal cord herniation into pseudomeningocele after traumatic nerve root avulsion: case report and review of the literature. *Eur Spine J* 2008;17(Suppl 2):S263-6.
4. Boncoraglio GB, Ballabio E, Erbetta A, et al. Superficial siderosis due to dural defect with thoracic spinal cord herniation. *J Neurol Sci* 2012;312:170-2.
5. Koeppen AH, Michael SC, Li D, et al. The pathology of superficial siderosis of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2008;116:371-82.
6. Nagy K, Skagervik I, Tuman H, et al. Cerebrospinal fluid analyses for the diagnosis of subarachnoid haemorrhage and experience from a Swedish study. What method is preferable when diagnosing a subarachnoid haemorrhage? *Clin Chem Lab Med* 2013;51:2073-86.
7. Petzold A, Worthington V, Pritchard C, et al. The longitudinal profile of bilirubin and ferritin in the cerebrospinal fluid following a subarachnoid hemorrhage: diagnostic implications. *Neurocrit Care* 2009;11:398-402.
8. Keir G, Tasdemir N, Thompson EJ. Cerebrospinal fluid ferritin in brain necrosis: evidence for local synthesis. *Clin Chim Acta* 1993;216:153-66.
9. Worthington V, Killestein J, Eikelenboom MJ, et al. Normal CSF ferritin levels in MS suggest against etiologic role of chronic venous insufficiency. *Neurology* 2010;75:1617-22.