

# EXAME CITOLÓGICO DO LÍQUIDO CÉFALO-RAQUIDIANO NO DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS PRIMITIVAS OU METASTÁTICAS DO SISTEMA NERVOSO

A PROPÓSITO DE SEIS CASOS

*SYDNEY F. DE MORAES-RÊGO \**

*KÁTIA G. DE MORAES-RÊGO \*\**

A identificação de células neoplásicas no líquido céfalo-raquidiano (LCR) pode contribuir decisivamente para o esclarecimento do diagnóstico de afecções do sistema nervoso, confirmando em alguns casos a suspeita clínica de neoplasia, estabelecendo o diagnóstico precoce de malignidade em casos de neuroleucemia ou dando orientação nova e inesperada à investigação clínica, em casos de meningite carcinomatosa, não cogitada entre as possibilidades diagnósticas. Com o advento da câmara de sedimentação de Sayk e da citocentrífuga o estudo da citologia do LCR passou a ser realizado com maior segurança, principalmente quanto à obtenção de material mais adequado, a partir de pequenos volumes de amostras. Não obstante, o estudo citológico do sedimento do LCR realizado com técnica mais simples, embora exigindo maiores volumes, permite obter informações igualmente valiosas.

No presente trabalho apresentamos seis casos nos quais o encontro ocasional de células neoplásicas no LCR contribuiu para esclarecer o diagnóstico ou dar uma nova orientação ao estudo clínico do paciente. Ênfase especial foi dada à descrição da técnica de obtenção das células e feitura dos esfregaços, desenvolvida neste laboratório.

## MATERIAL, MÉTODOS E RESULTADOS

Seis casos de pacientes com resultados positivos para células neoplásicas no LCR, diagnosticados durante a execução do exame de rotina, constituem a casuística deste trabalho. Em apenas um caso havia suspeita clínica de envolvimento do sistema nervoso por neoplasia, em paciente com leucose linfóide aguda. Nos outros 5 o achado foi ocasional. *Caso 1* — C.N. (Registro 02572): paciente do sexo feminino, com dois anos de idade, branca, procedente de Araraquara. Foi atendida em ambulatório e apresentava irritabilidade e choro à movimentação dos membros inferiores. Assumia atitude única, em decúbito horizontal lateral, com flexão das coxas sobre a bacia. O exame neurológico não foi passível de ser praticado. Pôde-se observar, apenas, certo grau

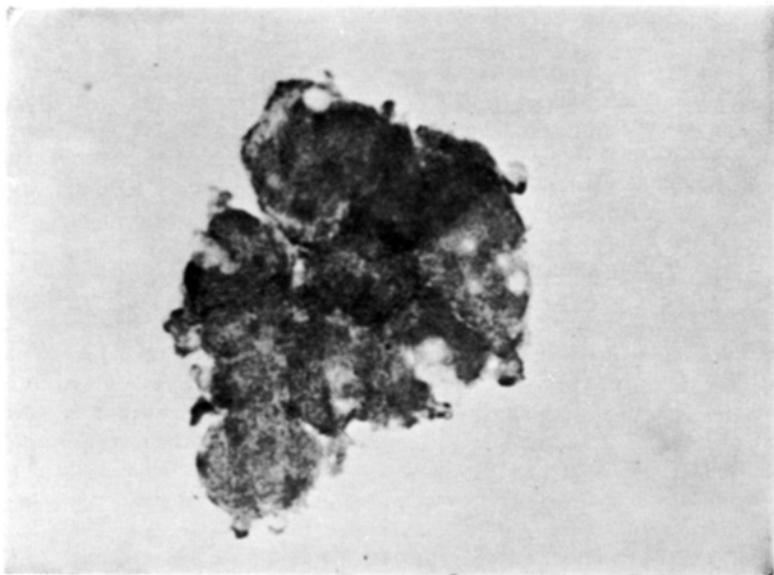
"Sidney de Moraes-Rêgo — Patologia Clínica e Hematologia", Ribeirão Preto:  
\* Médico; \*\* Doutoranda, Faculdade de Medicina da Universidade de Uberlândia, MG.

de incoordenação dos membros superiores. O exame de LCR, por punção lombar, revelou bloqueio à manobra de Stookey e apresentou 22 células/mm<sup>3</sup>. Na câmara de contagem de Neubauer observaram-se grupos de células supostamente neoplásicas. A taxa de proteínas foi 71mg/dl. O estudo citológico da preparação corada revelou células típicas do meduloblastoma (Fig. 1). A mielografia mostrou bloqueio total ao nível de T<sub>2</sub>. A criança foi operada, tendo sido realizada laminectomia torácica. Encontrou-se neoplasia que aflorava à superfície da medula e que se infiltrava no tecido nervoso (Dr. Nelson Martelli). O exame histopatológico da peça foi compatível com meduloblastoma (ou neuroblastoma), não sendo afastada a hipótese de linfoma maligno (Dr. Prates Campos).

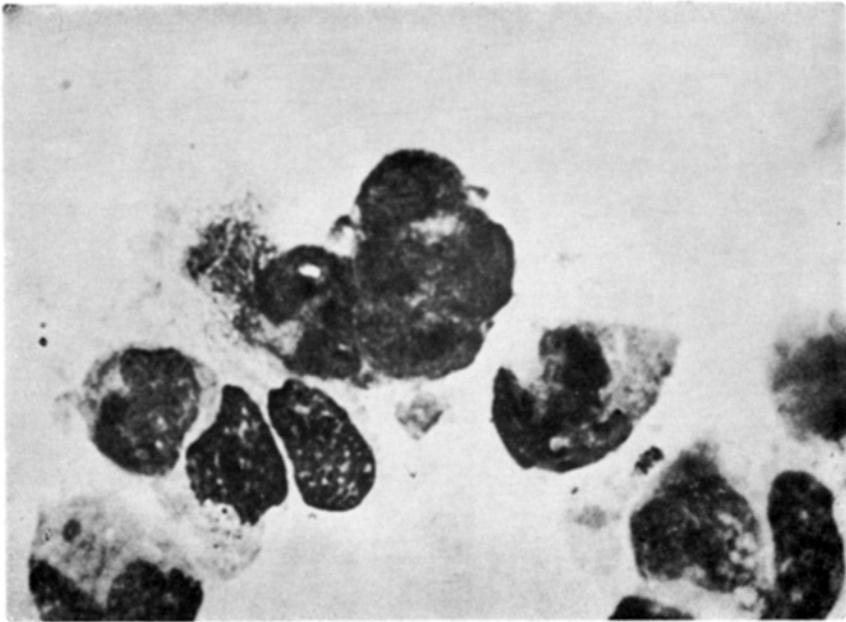
*Caso 2* — J.I.S. (Registro 03725): paciente do sexo masculino, com 52 anos de idade, deu entrada no hospital com queixa de cefaléia intensa. Foi solicitado exame de LCR de urgência, com suspeita de hemorragia cerebral. O LCR colhido por via suboccipital era turvo, com 910 células por mm<sup>3</sup>; proteínas 590mg/dl; glicose 30mg/dl e cloretos 731mg/dl. O estudo citológico do sedimento corado revelou a presença de numerosas células neoplásicas de tipo anaplástico (Fig. 3). A arteriografia revelou a presença de massa tumoral na região parieto-occipital direita que, à biópsia, teve o diagnóstico histopatológico de metástase de melanoma (Dr. Prates Campos).

*Caso 3* — V.M.M. (Registro 02857): paciente do sexo feminino, com 56 anos de idade, apresentando queixa de alteração do comportamento. Foi feita a suspeita clínica de lesão expansiva frontal. O exame do LCR revelou 35 células/mm<sup>3</sup>; proteínas 80mg/dl; glicose 53mg/dl; cloretos 727mg/dl. O exame citológico do LCR revelou a presença de células do tipo adenocarcinoma (Fig. 4). A cintilografia cerebral demonstrou lesão pequena, de situação frontal direita. Não foi encontrado o tumor primitivo.

*Caso 4* — R.S.P. (Registro 01582):

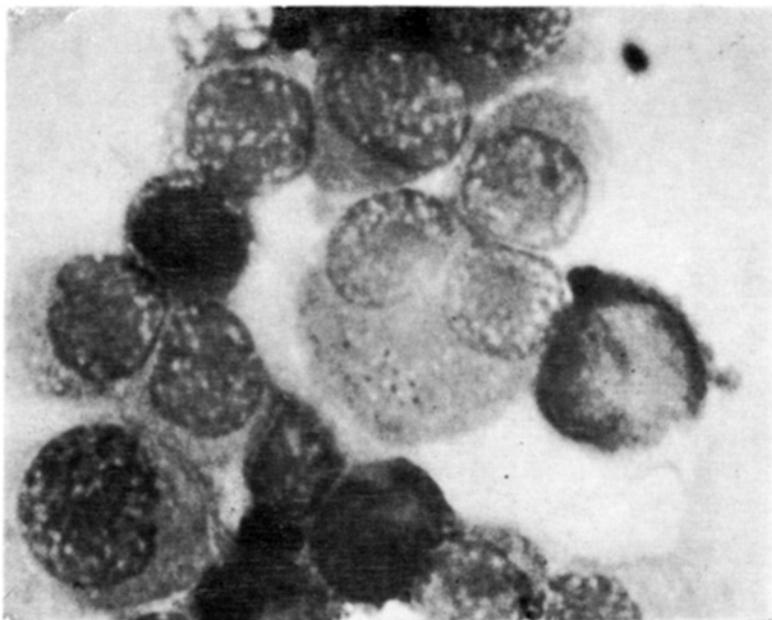


*Fig. 1* — Meduloblastoma: grupo de células de aspecto blástico, com núcleos de cromatina frouxa e escasso citoplasma, o que condiciona o achatamento das bordas nucleares adjacentes (caso 1).

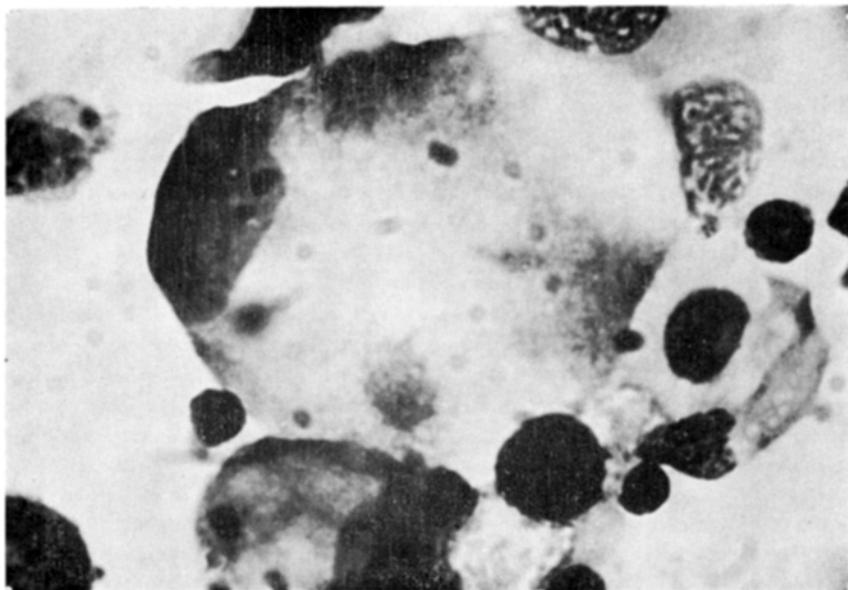


*Fig. 2 — Neuroblastoma: metástase em líquido pleural. Observar as mesmas características núcleo-citoplasmáticas do meduloblastoma no grupo central de células.*

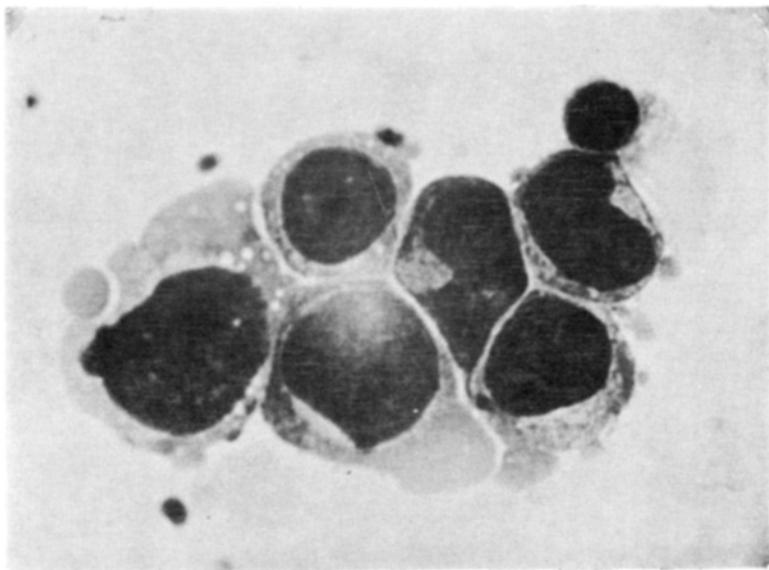
paciente do sexo masculino, com 56 anos de idade, semicomatoso, foi examinado por neurologista que solicitou exame de LCR para afastar acidente vascular cerebral. O exame revelou 1.200 células/mm<sup>3</sup>; proteínas 64mg/dl; cloretos 720mg/dl; glicose 40mg/dl. O exame citológico mostrou a presença de numerosas células neoplásicas, fazendo-se o diagnóstico de meningite carcinomatosa (Fig. 5). O paciente veio a falecer 4 dias após, não tendo sido encontrado o tumor primitivo ao exame necroscópico. *Caso 5* -- R.M.M. (Registro 02485): paciente do sexo feminino, com 8 anos de idade, com o diagnóstico de leucose linfóide aguda. Após um curso terapêutico de antiblásticos por via venosa, metotrexate intratecal e irradiação seletiva do sistema nervoso central, apresentou fase de remissão de 8 meses. Deu entrada em hospital com sintomas meníngeos, referindo a mãe que há uma semana estivera internada em outro hospital com «meningite meningocócica». O exame de LCR, feito por via lombar, revelou 394 células/mm<sup>3</sup>; proteínas 55mg/dl; cloretos 725mg/dl; glicose 49mg/dl. O exame citológico mostrou tratar-se de neuroleucemia, sendo 96% das células examinadas linfoblastos (Fig. 6). *Caso 6* -- Z.A.G. (Registro 08275): paciente do sexo feminino, com 25 anos de idade, com leucose linfóide aguda que não respondeu ao tratamento antiblástico. Uma crise violenta de cefaléia alertou o médico que a assistia para provável comprometimento leucêmico do sistema nervoso. O exame do LCR por via cisternal mostrou 420 células por mm<sup>3</sup>; proteínas 52mg/dl; cloretos 712mg/dl; glicose 42mg/dl. O exame citológico confirmou a suspeita clínica de neuroleucemia (Fig. 7).



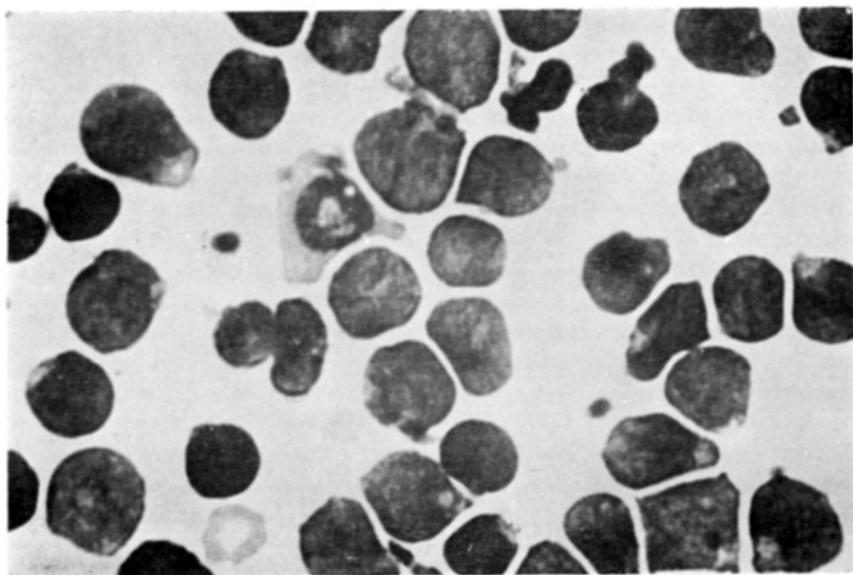
*Fig. 3 — Melonoma metastático: células neoplásicas de tipo anaplástico, encontradas no LCR (caso 2).*



*Fig. 4 — Adenocarcinoma: célula típica, com núcleo deslocado para a periferia e vasto citoplasma muco-secretor (caso 3).*



*Fig. 5 — Meningite carcinomatosa: grupo de células neoplásicas de grande porte. Comparar com um linfócito existente no mesmo campo (caso 4).*



*Fig. 6 — Neuroleucemia: praticamente todas as células são linfoblastos (caso 5).*

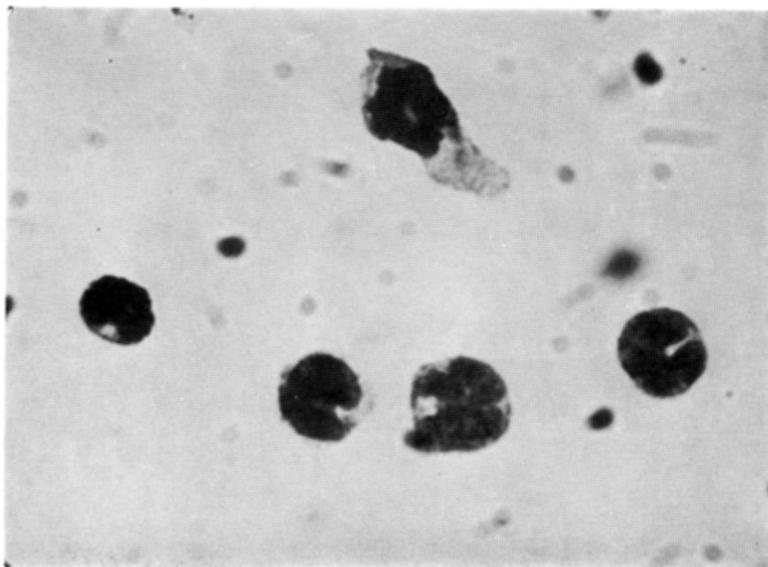


Fig. 7 — Neuroleucemia: células linfóides blásticas em número menor que no caso anterior (caso 6).

Em nosso laboratório o estudo da citologia inflamatória do LCR é feito por pessoal treinado no reconhecimento de células anormais. Na rotina usamos a técnica de Moraes-Rêgo e Fernandes, descrita a seguir. Estira-se um tubo de microhematócrito em bico de Bunsen, obtendo-se, assim, duas micropipetas tipo Pasteur. Uma delas é colada com fita gomada lateralmente ao cabo de alça de platina especial, com 2mm de diâmetro. Cerca de 5-8ml do LCR são centrifugados a 2.000 rpm. Verete-se com a mão esquerda o LCR centrifugado em outro tubo, mantendo-se aquele com as células sedimentadas invertido. Com a mão direita introduz-se a micropipeta capilar montada no cabo da alça de platina no tubo e toca-se o botão (ou círculo) de células sedimentadas, com movimentos rotatórios curtos. As células serão acarretadas para o tubo capilar com o pouco de LCR existente no fundo do tubo. Libera-se a micropipeta do cabo da alça de platina e, com auxílio de um pipetador de borracha, semelhante ao usado em hematologia sopra-se uma gotícula do líquido contendo as células sobre uma lâmina seca. Com a microalça de platina distende-se o líquido segundo a técnica «do pente» de Spriggs (2), que consiste em distender no sentido horizontal a gota por cerca de 1cm e, rapidamente, reestender no sentido vertical, à moda de dentes de pente, as bordas do material estendido horizontalmente. A finalidade é obterem-se películas finíssimas do material distendido, que sequeam rapidamente quando a lâmina é agitada ao ar. Este processo permite a obtenção de material isento de deformações. O esfregão é corado pelos corantes de Giemsa ou Leishman. Se no material tratado por esta técnica encontram-se células «anormais» ou tumorais, uma alíquota de LCR é submetida à sedimentação em câmara de Köhmel (fabricada por *Sydma Equipamentos e Reagentes Médicos*

Ltda., Rua Américo Brasiliense, 284, 3º andar, Ribeirão Preto, SP, Brasil). Esta preparação é corada também pelo Giemsa, servindo para confirmar o diagnóstico e para documentação fotomicrográfica.

#### COMENTARIOS

A casuística apresentada neste trabalho, extraída de exames de LCR realizados na rotina do laboratório, sem se ter conhecimento prévio do caso clínico, enfatiza a necessidade de estar o liquorologista familiarizado com os aspectos oncológicos da citologia desse material, evitando assim que informações vitais para a conduta diagnóstica e terapêutica sejam perdidas. A citologia estabeleceu o diagnóstico de neoplasia nos 6 casos apresentados. Em apenas um paciente (caso 1) fez-se o diagnóstico de neoplasia maligna primitiva do sistema nervoso central: meduloblastoma. Este tumor, altamente infiltrante, compromete as meninges na sua exteriorização a partir do encéfalo, esfoliando grupos de células para o LCR ("drip metástases") que se implantam no sistema nervoso, preferentemente na medula. A citologia, o aspecto característico — agrupamento de células de aspecto blástico que se amoldam umas às outras à moda de mosaico, com núcleos volumosos, de fina estrutura cromatinica, às vezes com nucléolos e pouco citoplasma, constituindo as rosetas e pseudorosetas — permite estabelecer facilmente o diagnóstico em preparações coradas pelo Giemsa. Em nossa experiência, as metástases de meduloblastomas são indistinguíveis citologicamente das de neuroblastomas (Fig. 2). Os dados clínicos são fundamentais para o diagnóstico diferencial. Tal segurança não se observa no exame histopatológico, pois os linfomas malignos podem apresentar aspecto semelhante em corte. Kölmel<sup>1</sup> cita a sarcomatose leptomenígea primária como alternativa diagnóstica. As células do carcinoma glandular e do "oat-cell" aparecem com certa frequência no LCR, mesmo quando a neoplasia primária não foi ainda diagnosticada<sup>1</sup>. O caso 3, de adenocarcinoma, aqui apresentado, exemplifica essa assertiva. Um dos pacientes de neuroleucemia (caso 5) tivera diagnóstico de meningite meningocócica uma semana antes, certamente inaceitável, já que o tipo de células encontrado 7 dias após foi da linhagem linfocitária, mais especificamente, o linfoblasto. Este caso serve para reafirmar a necessidade de ser o sedimento do LCR examinado por citologista. O caso de número 4, diagnosticado como meningite carcinomatosa, confirma observação de outros autores<sup>1,3</sup>, de que frequentemente não se demonstra o tumor primitivo na carcinomatose das meninges.

O presente estudo realça a validade da técnica utilizada para obtenção de esfregaços de sedimento do LCR, por permitir a obtenção de grande número de células com sua estrutura perfeitamente conservada, agrupadas numa pequena área, permitindo que o exame seja feito mais rapidamente na rotina diária e com igual segurança, tanto na citologia inflamatória como oncológica. Neste aspecto mostra-se mais abrangente que as câmaras de sedimentação, impróprias para contagens específicas das células do LCR, visto como fornecem contagens de linfócitos significativamente mais baixas do que as determinadas por outros métodos de obtenção das células do LCR.

## RESUMO

Os autores reportam o encontro de células neoplásicas em 6 casos de exames de LCR realizados na rotina do laboratório. Em 5 casos o encontro dessas células foi acidental: meduloblastoma (caso 1); melanoma (caso 2); adenocarcinoma (caso 3); meningite carcinomatosa (caso 4) e neuroleucemia (caso 5). Em um caso havia suspeita clínica de neuroleucemia (caso 6). A ocorrência imprevisível de células neoplásicas no LCR exige que o liquorologista domine a citologia oncológica, para que não sejam perdidas informações essenciais para o diagnóstico, prognóstico e terapêutica do caso em estudo. A técnica para a obtenção de preparados destinados ao estudo da citologia do LCR foi desenvolvida no laboratório dos autores e mostrou-se adequada, por permitir o reconhecimento de células inflamatórias e de células neoplásicas com igual segurança. O fundamento da técnica descrita consiste na preparação de esfregaços de pequena extensão, muito finos que secam quase instantaneamente ao ar, permitindo assim que a estrutura das células seja conservada. Para tanto o sedimento resultante da centrifugação de 5-8ml de LCR é suspenso no pouco de LCR que sobra no tubo após o sobrenadante ter sido transferido para o outro tubo. O tubo que contém o sedimento é mantido invertido com a mão esquerda do operador, que, com a direita, toca o fundo do tubo com micropipeta de Pasteur, feita pela distensão de um tubo de microhematócrito, previamente colado ao cabo de uma alça de platina com 2mm de diâmetro. Uma gota da suspensão de células é soprada com pipetador hematológico sobre uma lâmina e distendida com alça, à moda de "pente" numa área máxima de 1cm<sup>2</sup>. Após secagem por agitação ao ar, o preparado é corado pelo Giemsa ou Leishman.

## SUMMARY

*Cerebrospinal fluid cytological examination in the diagnosis of primitive and metastatic neoplasias of the nervous system: considerations on six cases.*

The authors report 6 cases of cerebrospinal fluid (CSF) examinations in which malignant cells were found. In 5 cases the finding was incidental: medulloblastoma (case 1); malignant melanoma (case 2); adenocarcinoma (case 3); meningitis carcinomatosa (case 4) and neuroleukaemia (case 5). In only one case neuroleukaemia was suspected before the study of the CSF (case 6). The unexpected occurrence of malignant cells in the CSF demands the pathologist to be well acquainted with tumor cell cytology, in order to identify them providing so useful information that can decidedly influence subsequent diagnostic and therapeutic procedures. The cell collection technic developed in the authors' laboratory was considered adequate, because both inflammatory and malignant cells were securely identified. Its principle is to obtain thin air-dried smears that dry almost instantaneously on slides, in order the cellular structure be preserved. After centrifuging about 5-8ml of CSF the tube is inverted so as to pour off the whole of the supernatant fluid. It is kept inverted with the operator's left hand, so that no drop of fluid can run back on to the cells. With his right hand the operator touches the bottom of the inverted tube with a Pasteur micropipette precisely made by distending a microhematocrit

tube under the flame of a Bunsen burner and attached with adhesive tape to the handle of a wire loop 2mm in diameter. One little drop of the cell suspension is blown with an hematologic suction tube on a slide and spread out with the loop in the maner of a comb, taking care not to scratch over the same place twice, as it dries almost instantaneously. Only a square centimeter or so need be covered. The smear is stained with Giemsa or Leishman stain.

## REFERÊNCIAS

1. KÖLMEL, H.W. — Atlas of Cerebrospinal Fluid Cells. Springer Verlag, Berlin, 1976.
2. SPRIGGS, A.I. & BODDINGTON, M.M. -- The Cytology of Effusions in the Pleural, Pericardial and Peritoneal Cavities and of Cerebrospinal Fluid. Ed. 2. William Heinemann Medical Books Ltd., London, 1968.
3. STAMMLER, A.; MARGUTH, F. & SCHMIDT-WITTKAMP, E. -- Die Meningitis carcinomatosa und sarcomatosa. Fortschr. Neurol. Psychiat. 32: 53, 1954.

*Rua Américo Brasiliense, 284, 3º andar - 14100 - Ribeirão Preto, SP - Brasil.*