

La citologia nasale nell'approccio diagnostico-terapeutico delle riniti vasomotorie in età pediatrica

Matteo Gelardi, Massimo Landi*



Parole chiave: citologia nasale, diagnosi differenziale, Nares, Naresma

Abstract

Ancora troppo poco si conosce della diagnosi differenziale delle rinopatie in ambito pediatrico: la conoscenza citologica ci consente di meglio classificare i differenti quadri, confermando la patogenesi allergica, valutando l'andamento terapeutico, ed indirizzando verso altre entità nosologiche come La Nares e la Naresma certamente sottodiagnosticate.

La citologia nasale è una metodica diagnostica di grande utilità in ambito rinoallergologico¹⁻². Essa permette di rilevare le variazioni cellulari di un epitelio esposto a irritazioni (fisico-chimiche)³⁻⁴ acute o croniche, o flogosi di diversa natura (virale, batterica, fungina o parassitaria)⁵⁻⁶, e da circa un secolo costituisce oggetto di interesse, sia in ambito clinico sia scientifico. Infatti, numerosa è stata la letteratura scientifica riguardante lo studio citologico nelle patologie nasali, e in particolare delle rinopatie vasomotorie allergiche e non allergiche, con un notevole contributo al chiarimento di alcuni dei meccanismi fisiopatologici alla base delle riniti allergiche, oltre che a identificare nuove entità nosologiche quali, ad esempio, le riniti non allergiche con eosinofili (non-allergic rhinitis with eosinophils – NARES), con mastcellule (non-allergic rhinitis with mast cell – NARMA) le forme neutrofile (non-allergic rhinitis with neutrophils – NARNE) ed infine le eosinofilo-mastocitarie

(non-allergic rhinitis with eosinophils and mast cell – NARESMA)⁷⁻⁹.

La mucosa nasale è costituita da un epitelio pseudostratificato ciliato (Fig. 1) composto da cellule ciliate, mucipare, striate e basali. La cellula ciliata (Fig. 2) è l'elemento cellulare più differenziato della mucosa nasale¹⁰. Essa, assieme alla cellula mucipara, costituisce la prima linea di difesa delle vie aeree (sistema muco-ciliare).

La diagnostica citologica si basa su un assioma fondamentale: la mucosa nasale, nell'individuo sano, è costituita dai quattro citotipi che normalmente compongono l'epitelio pseudostratificato ciliato precedentemente descritto; non presenta mai altri elementi cellulari tranne che sporadici neutrofili (Fig. 3).

Il riscontro, nel rinocitogramma, di eosinofili, mastcellule, batteri, spore ed ife micotiche, sarà un chiaro segno di patologia nasale.

La citologia nasale nasce alla fine dell'800 quando Z. Gollash, nel 1889, interpretò i numerosi eosino-

UOS di Rinologia, Azienda Ospedaliera Policlinico Bari; * Pediatria di Gruppo, Asl TO1, Torino

gelardim@inwind.it, landi@alma.it

Gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse rispetto agli argomenti trattati nell'articolo.

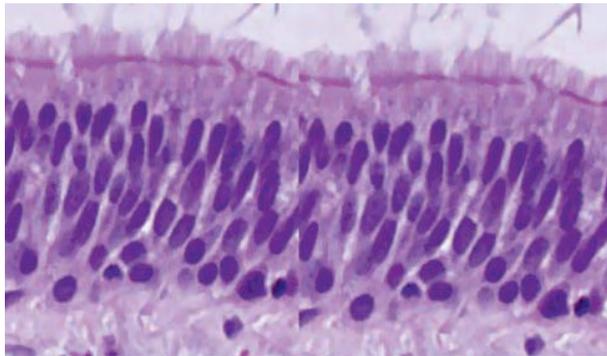


Fig. 1. Mucosa nasale. Epitelio pseudostratificato ciliato. Colorazione MGG – 400X.



Fig. 2. Cellula ciliata. Colorazione MGG – 2000X.

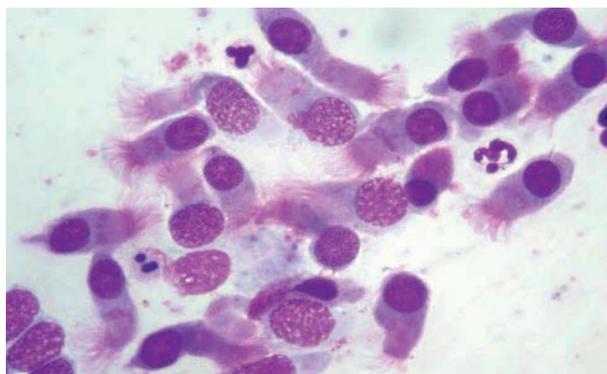


Fig. 3. Rinocitogramma normale. Sono evidenti numerose cellule ciliate e rari neutrofilii. Colorazione MGG – 1000X.

fili presenti nel secreto nasale di un paziente affetto da asma bronchiale, come elementi importanti nella patogenesi di questa malattia ¹¹. Ma il vero impulso alla citodiagnostica nasale si ebbe nel 1927, dalla se-

gnalazione di C. Eyer mann, che rilevò la presenza di granulociti eosinofili nelle secrezioni nasali di pazienti allergici e ne sottolineò l'importanza diagnostica ¹². Da allora, infatti, grande importanza si attribuisce al riconoscimento di specifici citotipi nelle diverse patologie nasali ¹³⁻¹⁵. Pertanto, la citologia nasale è sempre più frequentemente impiegata nello studio delle rinospatie vasomotorie allergiche e non, riniti infettive ed infiammatorie.

Ad aumentare l'interesse per questa diagnostica ed a permetterne la diffusione, hanno contribuito diversi fattori: da un lato la semplicità con cui vengono realizzati i prelievi, dall'altro, la scarsa invasività, che consentono l'eventuale ripetizione dell'esame, spesso necessaria nel follow-up delle patologie vasomotorie e nel monitoraggio dell'efficacia di alcuni trattamenti medico-chirurgici. Essendo una metodica semplice, sicura, non cruenta, poco costosa, presenta le caratteristiche ideali per un'applicazione ambulatoriale, da effettuare in tutte le fasce di età ¹⁶.

La tecnica citologica prevede i seguenti momenti:

- prelievo (detto anche campionamento);
- processazione (che comprende la fissazione e la colorazione);
- osservazione microscopica.

Il prelievo citologico consiste nella raccolta di cellule superficiali della mucosa nasale e ciò può essere effettuato sia con l'ausilio di un tampone sterile (tampone comunemente utilizzato per eseguire un tampone orofaringeo), sia con l'utilizzo di una piccola curette (scraping) in materiale plastico monouso (Rhino-probe® o meglio, in quanto prodotto italiano il Nasal Scraping®) ¹⁷. Il campionamento va effettuato in corrispondenza della porzione media del turbinato inferiore, notoriamente sede del giusto rapporto tra cellule ciliate e mucipare (1/4 a favore delle ciliate).

Solitamente, nel caso di piccoli pazienti, si preferisce il tampone nasale allo scraping in quanto più agevole e meno fastidioso, riservando lo scraping ai pazienti più collaboranti.

Il campionamento va effettuato sempre sotto attenta visione, in rinoscopia anteriore, per mezzo di uno speculum nasale e una buona illuminazione. Come già precisato, non essendo una metodica cruenta, non richiede alcun tipo di anestesia.

Una volta effettuato il campionamento, il materiale cellulare viene disteso su un vetrino portaoggetti, fissato mediante asciugatura all'aria e successivamente colorato secondo il metodo di May Grunwald-Giemsa (MGG). Tale metodo di colorazione è quello solitamente utiliz-

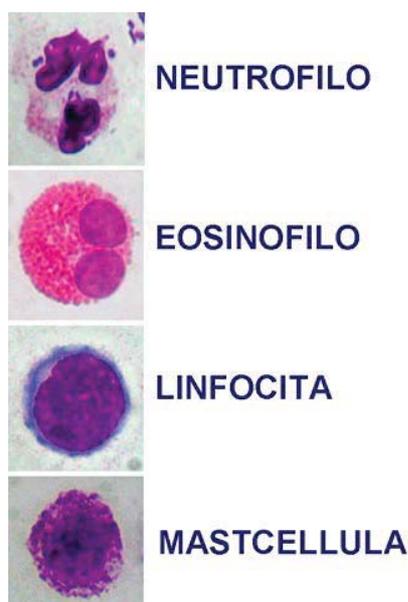


Fig. 4. Cellule della immunoflogosi. Colorazione MGG.

zato, in quanto in grado di colorare tutte le componenti cellulari della mucosa nasale, le cellule dell'immunoflogosi (neutrofili, eosinofili, linfociti e mastcellule) (Fig. 4), i batteri, le spore micotiche e le ife fungine.

La tecnica di colorazione richiede un tempo di circa 30' anche se oggi sono disponibili sistemi di colorazione rapida (MGG QUICK STAIN – Bio-Optica® – Milano, Italia) che, in un tempo estremamente breve (20-30''), permettono una buona colorazione cellulare.

L'osservazione del vetrino viene effettuata mediante l'utilizzo di un comune microscopio ottico, purché

La diagnostica citologica si basa sul fatto che la mucosa nasale, nell'individuo sano, è costituita dai quattro citotipi che compongono l'epitelio pseudostratificato ciliato e non presenta mai altri elementi cellulari.

provvisto di obiettivo capace di ingrandire sino a 1000X.

Per l'analisi del rinocitogramma si procede con una lettura per campi (non meno di 50), al fine di reperire gli elementi cellulari importanti ai fini della diagnosi (eosinofili, mastcellule, neutrofili, batteri, spore ecc.), calcolando, al termine della lettura, la percentuale di essi^{16 17}.

Citopatologia nasale

Le patologie nasali colpiscono in primo luogo le cellule ciliate, determinando un rimaneggiamento dell'epitelio della mucosa a favore delle cellule calciformi mucipare (metaplasia mucipara). Questo dato ha delle implicazioni sia fisiopatologiche che cliniche; infatti, il proporzionale incremento delle cellule mucipare determina un aumento della produzione di muco, mentre la riduzione della componente cellulare ciliata causa una ridotta dinamica del trasporto mucociliare (TMC). Tutto ciò favorisce il ristagno di secrezioni catarrali all'interno delle cavità naso-sinusali, e predispone ad un rischio maggiore di infezione da sovrapposizione batterica¹⁸.

Tenendo conto che il normale turn-over della cellula ciliata è di circa tre settimane, le flogosi ricorrenti, di fatto, impediranno il ripristino del normale rapporto tra i vari citotipi, instaurando un circolo vizioso auto-mantenentesi^{19 20}.

La citologia nasale nelle rinopatie "vasomotorie" allergiche e non allergiche

Il paziente affetto da rinite allergica (RA), stagionale o perenne, se stimolato naturalmente, o mediante test di provocazione nasale specifico, sviluppa una risposta nasale immediata, cosiddetta early phase, ed una tardiva, denominata late phase^{21 22}. Dal punto di vista microscopico, tali risposte sono sempre caratterizzate da una infiltrazione mucosa di cellule immunoflogistiche (eosinofili, mastcellule, neutrofili e linfociti), che in seguito al rilascio di numerosi mediatori chimici, sono causa dei principali sintomi che caratterizzano la malattia IgE mediata (prurito, congestione nasale, rinorrea, starnutazione, lacrimazione, ecc).

Quando l'esposizione allergica è di bassa intensità, ma persistente nel tempo, come è tipico delle riniti perenni (ad esempio da dermatofagoidi), si realizza quella condizione cellulare, definita "Flogosi minima

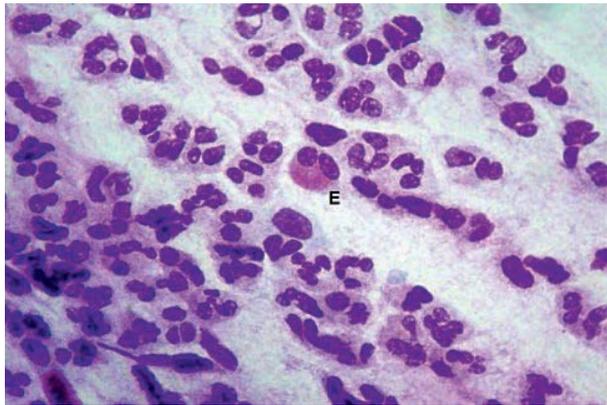


Fig. 5. Rinite allergica "perenne". "Flogosi Minima Persistente". Sono evidenti numerosi neutrofili e rari eosinofili. Colorazione MGG - 1000X.

persistente" ^{23 24} (Fig. 5), caratterizzata da una persistente infiltrazione di neutrofili e, solo in minima parte, da eosinofili. Raramente si riscontrano mastcellule ed importanti segni di degranolazione eosinofilo-mastocitaria. Suddetta condizione cellulare si traduce clinicamente in una sintomatologia sub-cronica, che contraddistingue i pazienti affetti da queste forme perenni, dove i sintomi dominanti sono l'ostruzione nasale e la rinorrea mucosa.

Nelle forme di RA stagionale, il rinocitogramma potrà modificarsi a seconda se il paziente verrà esaminato durante, oppure fuori dal periodo pollinico.

Nella prima condizione, il paziente presenterà tutti i segni clinici della malattia: la citologia nasale sarà caratterizzata da neutrofili, linfociti, eosinofili e ma-

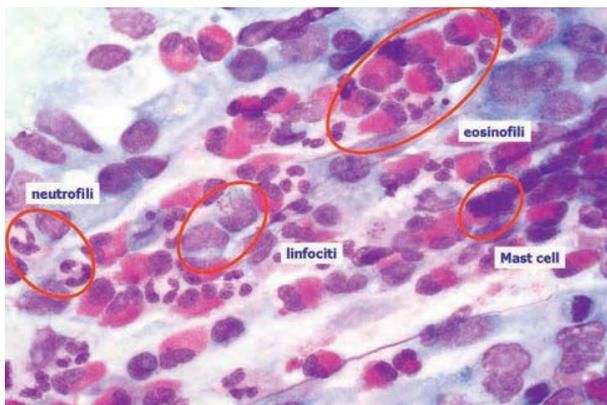


Fig. 6. Rinite allergica "stagionale". Sono evidenti numerosi neutrofili, eosinofili, linfociti e mastcellule, in parte in fase di degranolazione. Colorazione MGG - 1000X.

stcellule, in gran parte degranulati (Fig. 6); di contro, se valutato al di fuori della stagionalità, presenterà chiaramente un "silenzio" sia clinico, sia citologico, specie se saranno trascorsi più di trenta giorni dal termine della pollinazione. In questi casi, per una diagnosi di certezza, occorrerà avvalersi o del test di provocazione nasale con allergene specifico, oppure, ancor meglio, rimandare lo studio citologico al periodo di massima pollinazione dell'allergene sospetto.

Sempre nell'ambito delle riniti allergiche, un dato interessante è emerso nel corso di un nostro studio ²⁵ nel quale è stato rilevato che i soggetti con rinite perenne e i pollinosici monosensibili, hanno presentato aspetti differenti, sia per quanto riguarda la concentrazione delle cellule immunoflogistiche, sia per i valori di resistenza nasale allo studio rinomanometrico. In particolare, i pollinosici hanno mostrato livelli più elevati di infiltrazione di cellule immunoflogistiche (eosinofili, neutrofili e mastcellule) ed un maggior aumento delle resistenze nasali. Oltre alle differenze nella tipologia cellulare, si sono riscontrate variazioni riguardanti il grado di degranolazione eosinofilo-mastocitaria, che variava a seconda del tipo di polline interessato (graminacee, parietaria, cipresso e olivo), con un maggior grado di degranolazione per i pollini appartenenti alla famiglia delle graminacee.

L'eosinofilia nasale si riscontra nella patologia allergica in tutte le età; la presenza di batteri intra ed extracellulari è segno di infezione batterica sovrapposta (rinosinusite allergica).

Studiando la citologia nasale in 1013 bambini (dati in fase di pubblicazione), di età compresa tra i primi mesi di vita e 13 anni, abbiamo rilevato la presenza di patologie immunoflogistiche sin dalla tenera età (pochi mesi di vita), dove sia la clinica, sia gli esami allergologici (Prick test), non erano ancora dirimenti per una determinata patologia. Inoltre, lo studio ci ha permesso di evidenziare, sempre in questa fascia di età, la presenza di rinopatie non IgE mediate, quali: NARES (Fig. 7A), NARMA (Fig. 7B), NARNE (Fig. 7C) e NARESMA (Fig. 7D). Queste rinopatie "cellulari" hanno un andamento cronico-progressivo, una sintomatologia più intensa, e sono causa di complicanze loco-regionali (rinosinusite, otiti ricorrenti), e a distanza (bronchiti, polmoniti, asma, sindrome rino-bronchiale). Se non controllate farmacologicamente, dopo circa 20 anni, possono complicare in poliposi nasale ²⁶.

Nel paziente affetto da rinite allergica, la risposta allergica è sempre caratterizzata da una infiltrazione mucosa di cellule immunoflogistiche (eosinofili, mastcellule, neutrofilie e linfociti), che sono causa dei principali sintomi che caratterizzano la malattia IgE mediata.

È proprio la forma "NARESMA", entità nosologica recentemente descritta⁸, ad essere quella a maggiore tendenza alla complicità (poliposi nasale e/o asma), oltre che ad una peggiore qualità della vita, con importanti disturbi del sonno (continui risvegli, roncopia e sleep-apnee).

Le riniti "sovrapposte"

Il contributo più importante che la citologia nasale ha dato nell'ambito della diagnostica delle rinopatie è stato quello di aver introdotto, per la prima volta, il concetto della "sovrapposizione" di più patologie nasali; è infatti possibile, grazie alla diagnostica citologica, individuare pazienti affetti da più entità nosologiche (ad esempio: RA associata a NARES; RA associata a NARESMA, ecc.). La possibilità di riconoscere tali condizioni cliniche permette di evitare errate impostazioni terapeutiche^{27,28}. Solitamente trattasi di pazienti che, pur avendo una positività per allergeni stagionali, presentano una sintomatologia rinitica perenne, con citologia positiva per eosinofili e/o mastcellule anche al di fuori della stagione pollinica dell'allergene corrispondente. Lo studio rinocitologico in questi casi è di grande utilità, in quanto unica diagnostica in grado di "smascherare" in una sorta di "diagnosi differenziale citologica" sovrapposizioni di più patologie.

Come precedentemente ricordato, trattasi di condizioni cliniche caratterizzate da una sintomatologia vasomotoria più intensa e ad andamento cronico; se non diagnosticate e trattate farmacologicamente in maniera adeguata, e, il più delle volte "personalizzata" (cicli di corticosteroidi nasali, a volte sistemici, antistaminici, antileucotrieni, ecc.), tendono a complicare (ipertrofia dei turbinati, rinosinusite, sindrome rinobronchiale, rino-otiti, ecc.).

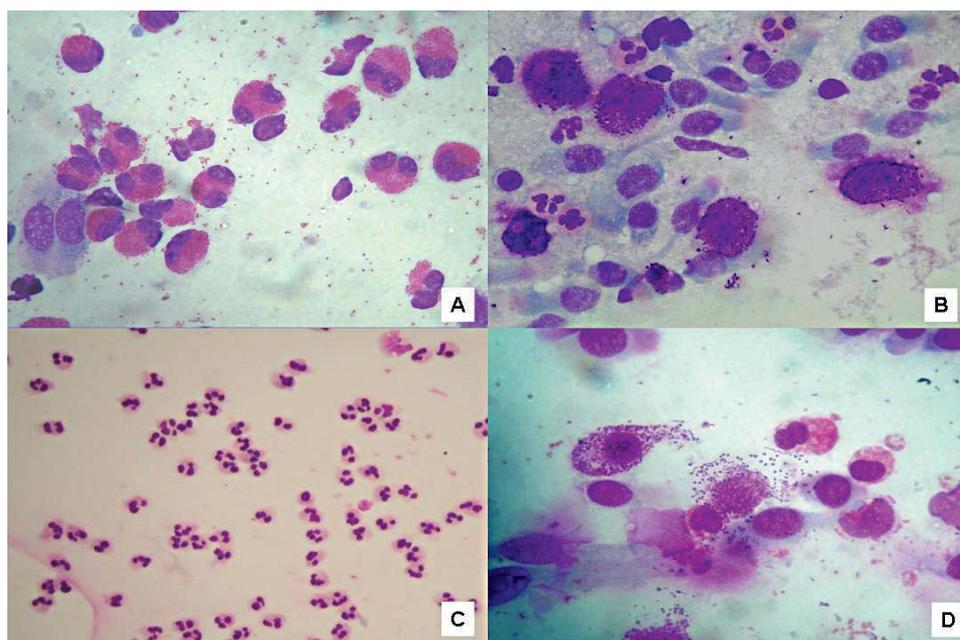


Fig. 7. Riniti non allergiche: A) NARES; B) NARMA; C) NARNE; D) NARESMA. Colorazione MGG – 1000X.

I risvolti clinico-terapeutici di tali condizioni sono importanti non solo per l'ORL e l'Allergologo, ma anche per il Pediatra, visto che le stesse possono essere presenti sin dalla prima infanzia.

Tali pazienti, se sottoposti a immunoterapia specifica (ITS), per un verso trarranno tutti i benefici legati alla ITS (blocco della cosiddetta "marcia allergica"), per altro verso, non presenteranno rilevanti miglioramenti sul piano sintomatologico, derivante dalla co-presenza della forma "non allergica" quest'ultima non sensibile all'ITS. Tale condizione andrà ad inficiare le aspettative di guarigione che solitamente sono attese dal trattamento con ITS, specie di chi pensa di essere affetto della sola RA. Chissà quante volte abbiamo sentito dire dai nostri pazienti: dottore, ho fatto un trattamento con ITS per più di 5 anni, ma i sintomi vasomotori nasali non sono mai cessati! A tal riguardo i suddetti pazienti dovranno essere sempre informati sulla condizione clinica sia sui programmi clinico-terapeutici, caratterizzati il più delle volte da trattamenti farmacologici cronici, da effettuare sia durante che al termine dell'ITS, al fine di un maggiore controllo dei sintomi nasali, che sempre accompagnano tali rinopatie.

Alla luce di quanto su riferito è auspicabile che la citologia nasale entri in modo sistematico nell'iter diagnostico delle rinopatie, anche in ambito pediatrico, al fine di consentire una precisa diagnosi ed un razionale approccio terapeutico, condizioni essenziali per prevenire le innumerevoli complicanze e migliorare la qualità di vita del paziente.

Bibliografia

- 1 Bogaerts P, Clement P. *The diagnostic value of a cytogram in rhinopathology*. *Rhinology* 1981;19:203-8.
- 2 Malmberg H, Holopainen E. *Nasal smear as a screening test for immediate-type nasal allergy*. *Allergy* 1979;34:331-7.
- 3 Gluck U, Gebbers JO. *Cytopathology of the nasal mucosa in smokers: a possible biomarker of air pollution?* *Am J Rhinol* 1996;10:55-7.
- 4 Boysen M, Zadig E, Digerne V, et al. *Nasal mucosa in workers exposed to formaldehyde: a pilot study*. *Br J Indust Med* 1990;47:116-21.
- 5 Gelardi M, Tomaiuolo M, Cassano M, et al. *Epstein-barr virus induced cellular changes in nasal mucosa*. *Virology Journal* 2006;3:6-10.
- 6 Bickmore JT. *Nasal cytology in allergy and infection*. *Otorhinolaryngology Allergy* 1978;40:39-46.
- 7 Jacobs RL, Freedman PM, Boswell RN. *Non-allergic rhinitis with eosinophilia (NARES syndrome): clinical and immunologic presentation*. *J Allergy Clin Immunol* 1981;67:253-7.
- 8 Gelardi M, Maselli Del Giudice A, et al. *Non-allergic rhinitis with eosinophils and mast cells (NARESMA) constitutes a new severe nasal disorder*. *Int Journal Immunopathol Pharmacol* 2008;23:325-31.
- 9 Connell JT. *Nasal Mastocytosis*. *J Allergy* 1969;43:182-9.
- 10 Gelardi M, Cassano P, Cassano M, et al. *Nasal cytology: description of hyperchromatic supranuclear stria as a possible marker for the anatomical and functional integrity of the ciliated cell*. *Am J Rhinol* 2003;5:263-8.
- 11 Gollash Z. *Kenntniss des asthmatischen sputums*. *Fortschr Med* 1889;7:361-5.
- 12 Eyermann CH. *Nasal manifestations of allergy*. *Ann Otol* 1927;36:808-15.
- 13 Hansel FK. *Observation on the cytology of the secretions in allergy of the nose and paranasal sinuses*. *J Allergy* 1934;5:357-66.
- 14 Bryan MP, Bryan WTK. *Cytologic diagnosis in allergic disorders*. *Otolaryngol Clin North Am* 1974;7:637-66.
- 15 Gelardi M, Fiorella ML, Marasco E, et al. *Blowing a nose black and blue*. *Lancet* 2009;373:780.
- 16 Gelardi M. *Atlas of nasal cytology*. Torino: Centro Scientifico Editore 2006.
- 17 Meltzer EO, Jalowayski AA. *Nasal cytology in clinical practice*. *Am J Rhinol* 1988;2:47-54.
- 18 Gelardi M, Fiorella ML, Leo G, et al. *Cytology in the diagnosis of rhinosinusitis*. *Pediatr Allergy Immunol* 2007;18(Suppl. 18):50-2.
- 19 Chapelin C, Coste A, Gilain L, et al. *Modified epithelial cell distribution in chronic airways inflammation*. *Eur Respir J* 1996;2:2474-8.
- 20 Lee HS, Majima Y, Sakakura Y, et al. *Quantitative cytology of nasal secretions under various conditions*. *Laryngoscope* 1993;103:533-7.
- 21 Pelikan Z, Pelikan-Filipek M. *Cytologic changes in the nasal secretions during the immediate nasal response*. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:1103-12.
- 22 Pelikan Z, Pelikan-Filipek M. *Cytologic changes in the nasal secretions during the late nasal response*. *J Allergy Clin Immunol* 1989;83:1068-79.
- 23 Ciprandi G, Buscaglia S, Pesce GP, et al. *Minimal persistent inflammation is present at mucosal level*

- in asymptomatic rhinitis patients with allergy due to mites.* J Allergy Clin Immunol 1995;96:971-9.
- ²⁴ Ricca V, Landi M, Ferrero P, et al. *Minimal persistent inflammation is also present in patients with seasonal allergic rhinitis.* J Allergy Clin Immunol 2000;105(1 Pt 1):54-7.
- ²⁵ Gelardi M, Maselli Del Giudice A, et al. *Nasal resistance and allergic inflammation depend on allergen type.* Int Arch Allergy Immunol 2006;141:384-9.
- ²⁶ Gelardi M, Russo C, Fiorella ML, et al. *Inflammatory cell types in nasal polyps.* Cytopathology 2010;21:201-3.
- ²⁷ Gelardi M, Fiorella ML, Fiorella R, et al. *When allergic rhinitis is not only allergic.* Am J Rhinology 2009;23:312-5.
- ²⁸ Canonica GW, Bonini S, Passalacqua G, et al. *Allergic rhinitis and its impact on asthma.* Progetto ARIA (aggiornamento Italia 2010).