

УДК 616.36-008.5-053.31	UDC 616.36-008.5-053.31
АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ АНАЛИЗ АСЦИТИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ: КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ	AUTOMATED ANALYSIS OF ASCITIC FLUIDS: CLINICAL CASES
Барановская Ирина Борисовна – канд. биол. наук <i>ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», Краснодар</i>	Baranovskaya Irina Borisovna – PhD, biology <i>SBIHC «Region clinic hospital Nr 2», Krasnodar</i>
Сысоева Ирина Петровна <i>ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», Краснодар</i>	Sysoeva Irina Petrovna <i>SBIHC «Region clinic hospital Nr 2», Krasnodar</i>
В статье продемонстрированы диагностические возможности автоматизированного анализа биологических жидкостей. Установлена информативная ценность отдельных их показателей в плане выявления неопластических процессов. Подчеркнуто, что показатели автоматизированных систем не могут заменить цитологическое заключение.	The article presents the diagnostic capabilities of automated analysis of biological fluids (BF). The informative value of individual BF indicators for identifying of neoplastic processes has been established. It is emphasized that the indicators of automated systems cannot replace the cytological conclusion.
Ключевые слова: БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЖИДКОСТИ, АСЦИТ, ИНФОРМАТИВНАЯ ЦЕННОСТЬ, ЦИТОЛОГИЧЕСКОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ	Key words: BIOLOGICAL FLUIDS, ASCITES, INFORMATIONAL VALUE, CYTOLOGICAL CONCLUSION

Введение

В настоящее время в цитологическую службу активно внедряются автоматизированные системы. Одна из таких технологий реализована в гематологическом анализаторе Sysmex XN, оснащенный блоком исследования биологических жидкостей (БЖ).

С помощью Sysmex XN появилась возможность количественного учета каждой из лейкоцитарных популяций БЖ, а также оценки общего цитоза (ТС). В случае асцитической жидкости автоматизированный анализ БЖ информативен для верификации бактериального перитонита.

Другим перспективным показателем БЖ является исследовательский параметр – высокофлуоресцентные мононуклеары (НФ). Анализатор идентифицирует их как клетки с высоким содержанием РНК. В ранних публикациях исследователи связывали НФ с неогенезом. Как показала практика, НФ «низкоспецифичен» и отражает как опухолевые, так и неопухолевые клетки (пролиферирующий мезотелий, молодые лимфоциты, гистиоциты). В плане скрининга атипических клеток НФ представляет определенный научный интерес [1–3]. Однако его необходимо анализировать в совокупности с другими параметрами БЖ, результатами лабораторных исследований и данными анамнеза.

В настоящее время отсутствуют информационные технологии, которые могли заменить традиционное цитологическое исследование. «Решающее слово», заключение, как и раньше, остается за цитологом.

Цель: исследовать диагностические возможности автоматизированного анализа биологических жидкостей.

Методы

Исследование проведено на базе ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» (ККБ № 2). Ретроспективно проанализированы пять клинических случаев пациентов (один мужчина, четыре женщины, возраст – 44–77 лет) с асцитическим синдромом хирургического или

гастроэнтерологического отделения стационара. Анализ выпотных жидкостей производили на анализаторе Sysmex XN 1000. В одном случае (№ 5) асцитическую жидкость исследовали дважды.

Проанализированы следующие показатели БЖ: общий цитоз (ТС-ВФ#, $10^9/\text{л}$); содержание лейкоцитов (WBC-ВФ, $10^9/\text{л}$); количество эритроцитов (RBC-ВФ, $10^{12}/\text{л}$); абсолютное и относительное количество мононуклеарных клеток (MN#, $10^9/\text{л}$ и MN%), полисегментоядерных клеток (PMN# $10^9/\text{л}$ и PMN%), нейтрофилов (Ne-ВФ#, $10^9/\text{л}$ и Ne-ВФ), лимфоцитов (LY-ВФ#, $10^9/\text{л}$ и LY-ВФ%), моноцитов (MO-ВФ#, $10^9/\text{л}$ и MO-ВФ%), эозинофилов (EO-ВФ# $10^9/\text{л}$ и EO-ВФ%), клеток с высокой флуоресценцией (HF-ВФ# $10^9/\text{л}$ и HF-ВФ%).

Оценивали содержание общего белка в асцитических жидкостях.

Клинический случай 1. Пациентка Н., 57 лет, экстренно поступила в реанимационное отделение стационара ККБ № 2 с жалобами более трех недель на схваткообразные боли в животе и вздутие, тошноту, рвоту, возникающие после еды.

В анамнезе – резекция желудка по поводу cancer.

Клинический диагноз при поступлении: злокачественное новообразование желудка. Канцероматоз? Частичная спаечная непроходимость?

Была проведена диагностическая пункция брюшной полости. В лабораторию доставлено 20 мл жидкости, цвет – желтый, прозрачность – неполная, белок – 77 г/л.

Общий анализ крови: WBC – $6,45 \cdot 10^9/\text{л}$, HGB – 13,9 г/дл, PLT – $463 \times 10^9/\text{л}$ (тромбоцитоз). Гемостаз и биохимический анализ крови – без особенностей, увеличение С-реактивного белка (СРБ) – до 9,05 мг/л (норма – до 5 мг/мл).

Результаты анализа асцитической жидкости представлены на рисунке 1. Популяция злокачественных клеток имеет высокую флуоресценцию,

поэтому они располагаются выше лейкоцитов.

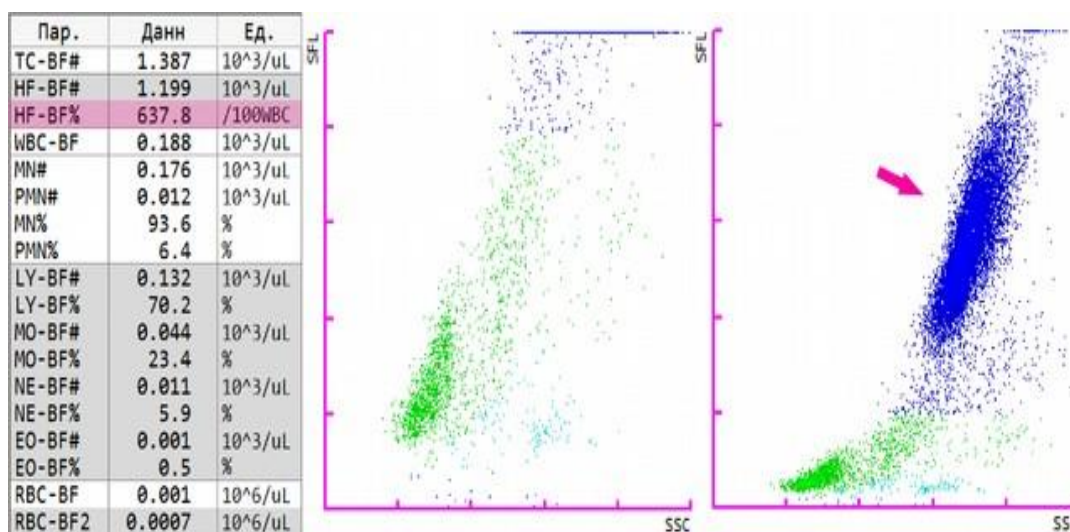


Рисунок 1 – Результаты анализа асцитической жидкости (на правом графике популяция злокачественных клеток отмечена стрелкой, они имеют высокую флуоресценцию, поэтому располагаются выше лейкоцитов, **пациентка Н., 57 лет**)

По результатам анализа асцитической жидкости (рисунок 1): высокий общий цитоз ($1,39 \cdot 10^9/\text{л}$), наличие эозинофилов, за пределами большие величины высокофлуоресцентных клеток – 637,8 %.

Цитологическое заключение: злокачественное новообразование. Трудно дифференцировать между мезотелиомой и метастатической аденокарциномой. Вероятно, метастатическая аденокарцинома.

Клинический случай 2. Пациентка А., 75 лет, плановое поступление в гастроэнтерологическое отделение стационара ККБ № 2 с жалобами на схваткообразные боли в левом боковом фланге живота, диспепсический синдром.

В анамнезе: в 1974 г. была выполнена резекция по поводу язвенной болезни желудка, осложненной перфорацией. Чувствовала себя удовлетворительно до марта 2016 г., когда появились жалобы на рвоту после еды. *Установлен диагноз:* заболевание выходного отдела кисты желудка с инвазией в поперечно-ободочную кишку. В послеоперационный период было проведено 6 курсов химиотерапии, последний курс – 08.12.2016.

Общий анализ крови и биохимический анализ – без особенностей.

Исследование онкомаркеров: РЭА (органы ЖКТ) – 1,31 нг/мл (норма 0,2–3,4 нг/мл), СА 19-9 (поджелудочная железа) – 166,81 Ед/мл (норма 2–37), СА 72-4 (желудок) – 1,05 Ед/мл (норма 0–6,9).

Проведена пункция брюшной полости, В лабораторию доставлено 20 мл жидкости желтого цвета, неполной прозрачности, белок – 71,5 г/л.

На рисунке 2 представлены результаты анализа биологической жидкости. На графиках видно, что злокачественные клетки попадают в область высокофлуоресцирующих клеток (HF-BF).

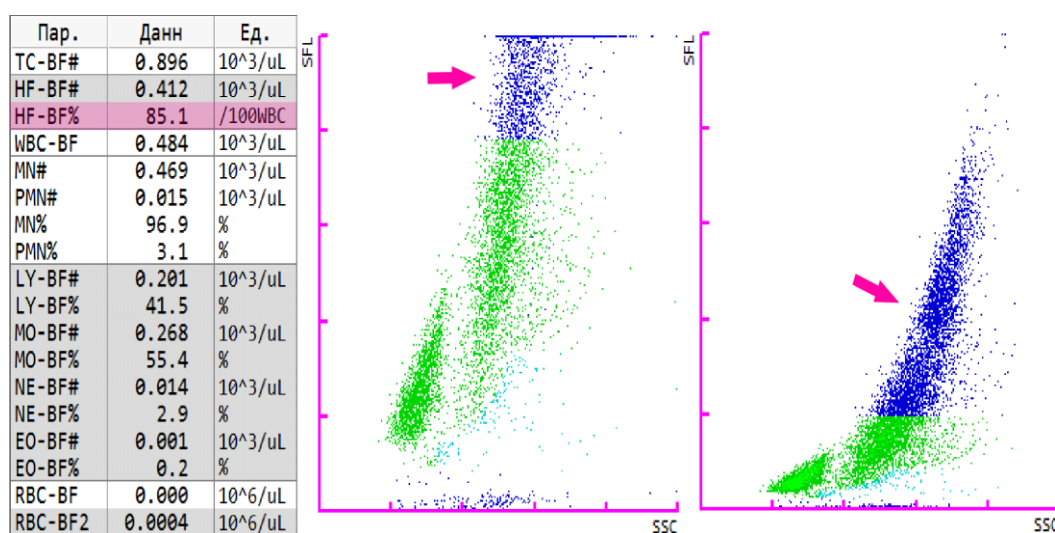


Рисунок 2 – Результаты анализа биологической жидкости (на графике злокачественные клетки обозначены синим цветом и отмечены стрелками, они попадают в область высокофлуоресцирующих клеток (HF-BF), **пациентка А., 75 лет**)

Особенности результатов БЖ (рисунок 2): умеренный общий цитоз ($0,90 \cdot 10^9/л$), высокое значение показателя HF (85,1 %), наличие эозинофилов.

Цитологическое заключение: метастатическая аденокарцинома.

Клинический случай 3. Пациент Ш., 44 года, поступил в хирургическое отделение ККБ № 2 с жалобами на боли в поясничной области и в нижних отделах живота, вздутие в правой подвздошной области, тошноту.

Общий анализ крови: без особенностей. В общем анализе мочи – эритроциты в большом количестве.

Клинический диагноз. Острый аппендицит? Острый панкреатит? Почечная колика?

Данные инструментальных исследований. На обзорном УЗИ органов брюшной полости выявлены признаки новообразования желудка, асцит. Эзофагогастродуоденоскопия: инфильтративно-язвенный с-г желудка? Лимфома желудка?

Биохимическое исследование крови: СРБ увеличен до 16,42 нг/л (норма – 0–5 нг/л), показатели гепатобилиарной системы и функции почек – без особенностей.

Результаты анализа БЖ: умеренная клеточность (общий цитоз – $0,339 \cdot 10^9/\text{л}$), большое количество высокофлуоресцентных клеток (54,3 %), наличие эозинофилов, белок – 78 г/л. Скатерограммы и данные анализа биологической жидкости представлены на рисунке 3. Злокачественные клетки попадают в область высокофлуоресцирующих клеток.

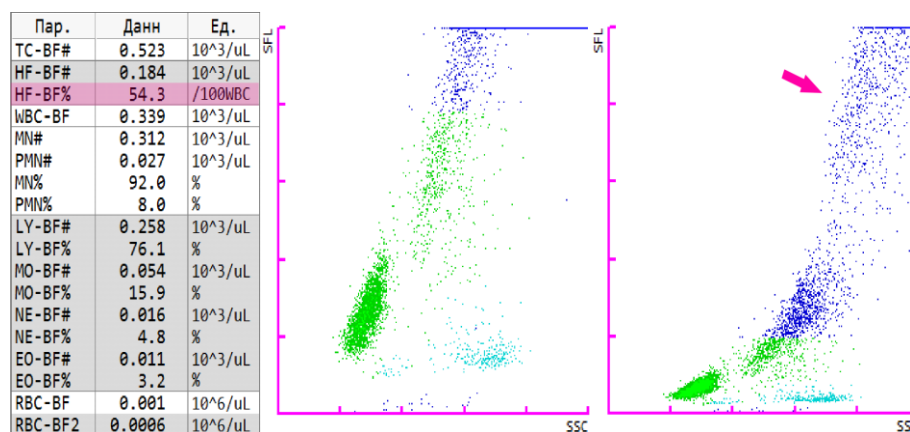


Рисунок 3 – Результаты анализа биологической жидкости (на графике злокачественные клетки обозначены синим цветом и отмечены стрелками, попадают в область высокофлуоресцирующих клеток, **пациент Ш., 44 года**)

Цитологическое заключение: метастатическая аденокарцинома.

Гистологическое заключение: перстневидноклеточный рак желудка.

Клинический случай 4. Пациентка А. экстренно поступила в хирургическое отделение стационара ККБ № 2 с жалобами на выделение

темной крови из прямой кишки в течение месяца, боли в брюшной области, общую слабость, головокружение. Проведена консервативная терапия с положительным эффектом. Источник кровотечения – геморроидальные узлы.

Клинический диагноз: канцероматоз неясного генеза.

Инструментальные исследования. Диагностическая лапароскопия, биопсия образования брюшины. В брюшной полости обнаружено до 1000 мл свободной мутной жидкости без запаха. Петли тонкой кишки в виде единого конгломерата.

Особенности результатов анализа БЖ: высокая клеточность – $2,956 \cdot 10^9/\text{л}$, содержание высокофлуоресцентных молодых клеток – 12,5 %, наличие эозинофилов, белок – 53,2 г/л. Скатерограммы и данные анализа биологической жидкости представлены на рисунке 4. Опухолевая популяция морфологически гетерогенная. Одна часть клеток попадает в область моноцитов, остальная часть – в область клеток с высокой флуоресценцией. Это позволяет заподозрить присутствие злокачественных клеток.

Цитологическое заключение: комплексы аденокарциномы.

Патогистологическое заключение: метастазы низкодифференцированной аденокарциномы со структурами недифференцированного рака.

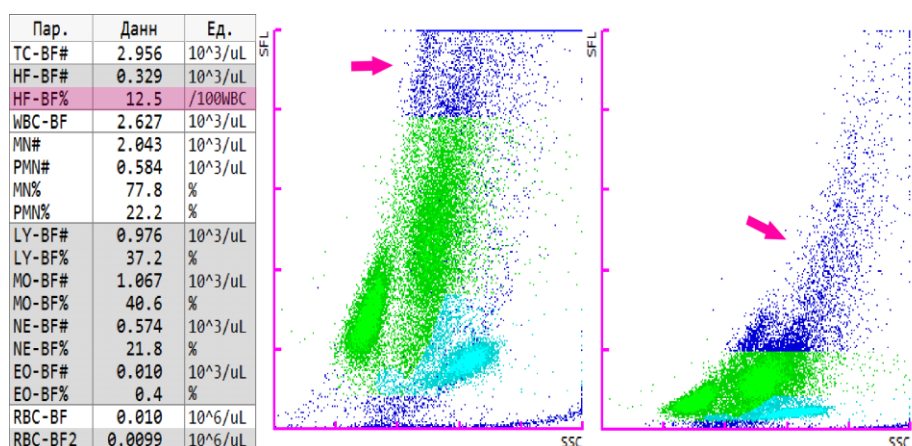


Рисунок 4 – Результаты анализа биологической жидкости (на графике злокачественные клетки обозначены синим цветом и отмечены стрелками). Опухолевая популяция морфологически гетерогенная, одна часть клеток попадает в область моноцитов, другая – в область клеток с высокой флуоресценцией (**пациентка А.**)

Клинический случай 5. Пациентка М., 77 лет, поступила в гастроэнтерологическое отделение стационара ККБ № 2 экстренно. Считает себя больной около двух месяцев, когда впервые появились боли в животе, тошнота, рвота после еды. Потеряла в весе, увеличились живот и отеки нижних конечностей.

При инструментальном исследовании установлено объемное образование малого таза без определенной органной принадлежности.

Исследование онкомаркеров: СА 19-9 (поджелудочная железа) – 55,8 Ед/мл (норма – 2–37 Ед/мл), АФП (печень, яичники) – 1,46 нг/мл (0–8,04 нг/мл), СА 125 (яичник) – 139,9 Ед/мл (норма – 0–35 Ед/мл).

Общий анализ крови – без особенностей.

Результат цитологического исследования № 1. Препараты неинформативны. Элементы крови, бесструктурное вещество, единичные макрофаги.

Особенности анализа биологической жидкости (случай 5, № 1, рисунок 5а): высокий общий цитоз – $1,085 \cdot 10^9$ /л, практически нет высокофлуоресцентных мононуклеаров (HF–BF = 2,1 %), наличие эозинофилов, белок – 60 г/л. На скатерограмме наблюдают плохое разделение клеточных популяций и присутствие в большом количестве дегриса. Это подтверждает плохое качество образца.

Особенности анализа биологической жидкости (случай 5, № 2, рисунок 5 б). Высокий общий цитоз – $5,079 \cdot 10^9$ /л, достаточно большое содержание высокофлуоресцентных клеток (21,5 %), наличие эозинофилов, белок – 40,9 г/л. На скатерограмме наблюдается хорошее разделение клеточных популяций, в области моноцитов и над ними отмечено стрелками присутствие подозрительной популяции.

Результат цитологического исследования № 2: метастатическая аденокарцинома.

Заключительный клинический диагноз: рак яичника.

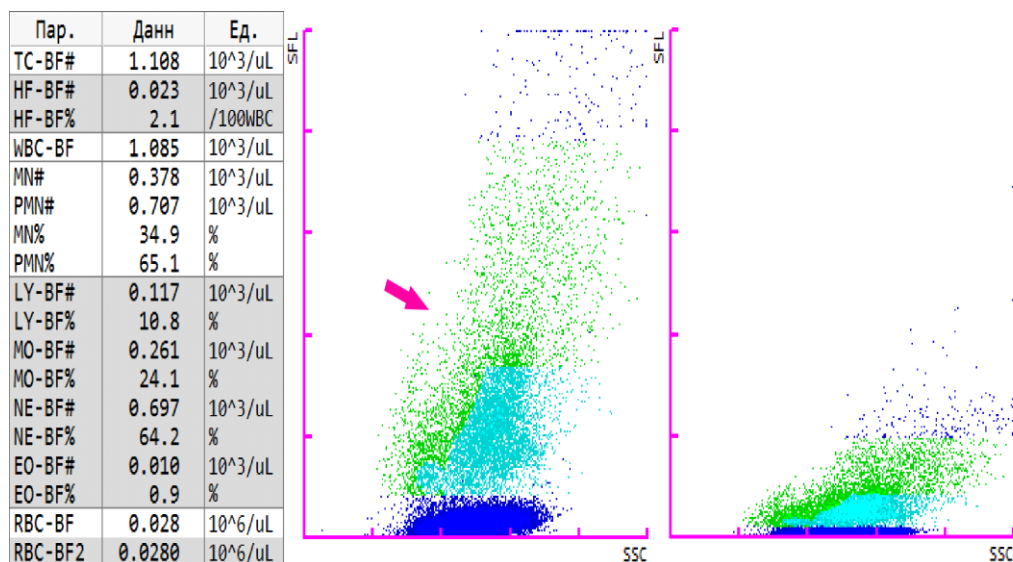


Рисунок 5а – Результаты анализа биологической жидкости (плохое разделение клеточных популяций (отмечено стрелкой) и присутствие в высоком количестве дегриса, некачественный образец, пациентка М., 77 лет)

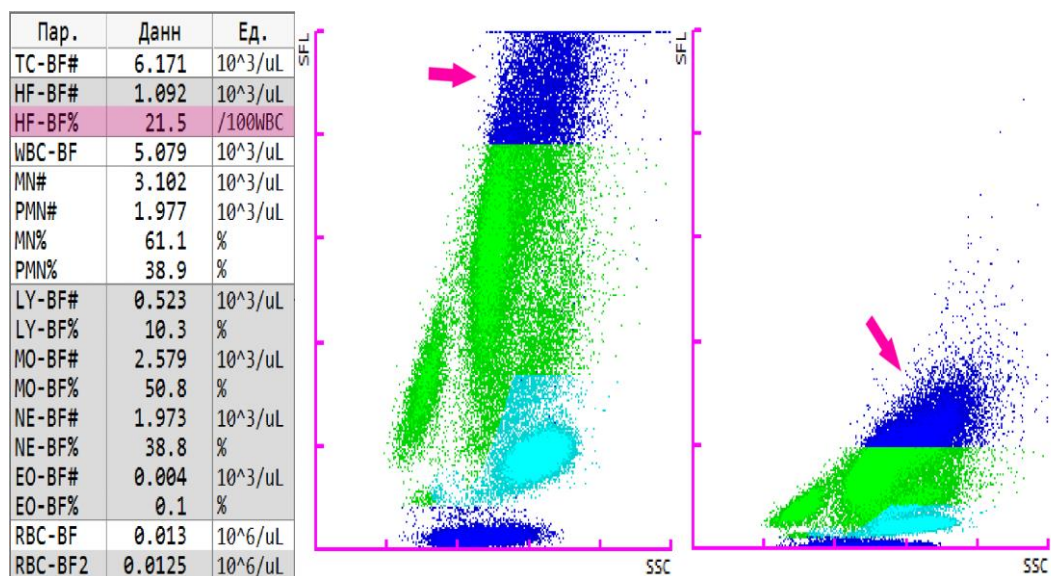


Рисунок 5б – Результаты анализа биологической жидкости (хорошее разделение клеточных популяций (в области моноцитов и над ними – присутствие подозрительной популяции, отмечена стрелками)

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что первое исследование БЖ (случай 5а) нельзя считать информативным (ошибка преаналитического этапа?). Информативность второго исследования (случай 5б) подтверждена цитологическим заключением.

Заключение

В работе продемонстрированы диагностические возможности автоматизированного анализа биологических жидкостей для скрининга атипичных клеток.

На наличие опухолевых клеток указывали:

- умеренный или высокий общий цитоз;
- умеренное или большое содержание высокофлуоресцентных моноклеаров;
- наличие эозинофилов.

Большую настороженность в плане наличия злокачественного процесса должна вызывать совокупность двух из трех вышеперечисленных признаков.

Выделенные критерии имеют тенденцию к динамическому изменению. При повторном взятии пункции картина может кардинально измениться (случай 5, а–б). Следует учитывать, что результаты анализа БЖ принципиально зависят от преаналитического этапа, прежде всего от объема взятой и доставленной жидкости в лабораторию. Важно знать, сколько прошло времени от взятия биоматериала до доставки жидкости в лабораторию.

Интерпретацию результатов автоматизированного анализа жидкости затрудняет отсутствие стандартизированных количественных диапазонов содержания клеток различных популяций, на которые возможно ориентироваться при скрининге. Согласно нашему опыту, общий цитоз порядка $1,0\text{--}2,0 \cdot 10^9/\text{л}$ и выше, особенно при отсутствии признаков острой воспалительной реакции, подозрителен в плане онкологического процесса.

При циррозах значение общего цитоза редко превышает $0,5\text{--}0,7 \cdot 10^9/\text{л}$. Злокачественный процесс может регистрироваться при любом содержании высокофлуоресцентных клеток. Его вероятность повышается при $\text{HF} \geq 12\%$ и близка к 100% при $\text{HF} \geq 50\%$.

Эозинофильная инфильтрация – неспецифический маркер онкопатологии, так как сопровождает воспалительные процессы различного генеза. Однако в «порядочных асцитах», например, в трансудатах при циррозах печени эозинофилы, как правило, отсутствуют.

Показатели БЖ являются одной из линий скрининга атипических клеток, основу цитологического заключения составляют морфологические критерии. В настоящее время ни одна автоматизированная система не может заменить труд, опыт и профессионализм цитолога.

Список литературы

1. Evaluation of high-fluorescence body fluid (HF-BF) parameter as a screening tool of malignancy in body fluids / *L. Rastogi, J. Dass, V. Arya, J. Kotwal* // *Indian J Pathol Microbiol.* – 2019 Oct. – Dec.; 62 (4): 572–577. DOI: 10.4103/IJPM.IJPM_802_18.
2. Two-site evaluation of a new workflow for the detection of malignant cells on the Sysmex XN-1000 body fluid analyzer / *J. Favresse, L. Boland, M. Schellen, C. Fervaille, F. Wuestenberghs, A. Camboni, B. Chatelain, F. Mullier, J. P. Defour, H. Jacqmin* // *Int J Lab. Hematol.* – 2020 Oct.; 42 (5): 544–551. DOI: 10.1111/ijlh.13187.
3. Оценка метастатического неогенеза в асцитическом выпоте путем автоматизированного анализа биологических жидкостей / *И. Б. Барановская, О. Ф. Самохина, Г. А. Демидченко, И. П. Сысоева* // *Кубанский научный медицинский вестник.* – 2019; 26. (1): 58–66.