

УДК 616.36-008.5-053.31	UDC 616.36-008.5-053.31
КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ АСЦИТИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ	COMPREHENSIVE ANALYSIS OF ASCITES FLUIDS
Барановская Ирина Борисовна – канд. биол. наук <i>ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2», Краснодар</i>	Baranovskay Irina Borisovna – PhD <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 проанализированы результаты использования показателей автоматизированного анализа асцитических жидкостей. Установлена диагностическая ценность комплексного использования ряда параметров. Полученные данные сопоставлены с клиническими случаями.	The article analyzes the results of using the parameters of automated analysis of ascitic fluids. The diagnostic value of the complex use of a number of parameters is established. The obtained data are compared with clinical cases.
Ключевые слова: АСЦИТИЧЕСКИЕ ЖИДКОСТИ, КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ, СКРИНИНГ, ЦИРРОЗ, АТИПИЧНЫЕ КЛЕТКИ	Key words: ASCITES, COMPREHENSIVE ANALYSIS, SCREENING, CIRRHOSIS, ATYPICAL CELLS

Возникновение асцитического синдрома наиболее часто (80 %) обусловлено неопухолевыми процессами (цирроз печени, сердечная недостаточность, панкреатит и др.). Оставшиеся 20 % случаев связаны с неогенезом.

Определение природы выпота (доброкачественный/злокачественный) – одна из задач лабораторной службы.

Алгоритм работы с доставленной в лабораторию биологической жидкостью включает следующие компоненты: макроскопическое описание физических свойств → «разработка» доставленной жидкости и изготовление препаратов → исследование препаратов цитологом.

В период «отсутствия высокотехнологичных автоматизированных систем» информацию о доставленном серозном выпоте получали посредством световой микроскопии препарата. Адекватность выдаваемого на выходе результата зависела от преаналитики на долабораторном этапе (правильный сбор биоматериала, добавление антикоагулянта, своевременная доставка), а также от аналитического этапа, в котором задействован коллектив сотрудников. Человеческий фактор вносит коррективы на каждом этапе исследования, влияя на результирующий показатель.

Внедрение в лабораторную практику высокотехнологичных анализаторов снизило долю субъективного фактора в исследовании биологических жидкостей, прежде всего, это касается подсчета лейкоцитарных популяций и оценки общего цитоза. В настоящее время врач-клиницист располагает объективными критериями для подтверждения наличия/отсутствия воспаления в серозном выпоте (острое или хроническое воспаление? специфический процесс?). Остальная информация, предоставляемая анализатором, имеет статус «исследовательская» и предназначена для специалистов лаборатории.

В частности, статус исследовательского получил показатель содержания моноклеарных клеток с высокой степенью флуоресценции ($\text{HF} \cdot 10^9/\text{л}$ и %). Его высокие значения могут ассоциироваться с опухолевым процессом. При этом данные специальных исследований [1–4] расходятся в определении прогностической ценности показателя HF для выявления атипичных клеток.

Цель работы – комплексная оценка результатов автоматизированного анализа асцитических жидкостей в системе скрининга атипичных клеток.

Материал и методы

Исследование проводили на базе Краевой клинической больницы № 2 (ККБ № 2) г. Краснодара.

Ретроспективно анализировали истории болезни 40 пациентов с асцитическим синдромом, диагноз которых был подтвержден результатами инструментальных и/или гистологических исследований.

Пациенты хирургического и гастроэнтерологического профилей были разделены на две группы:

- группа 1 включала 22 пациента 40–78 лет (10 мужчин и 12 женщин) с верифицированным опухолевым процессом;
- группа 2 представлена 18 пациентами 41–81 года (10 мужчин и 8 женщин) с циррозом печени различного генеза.

Исследовали следующие параметры автоматизированного анализа биологических жидкостей: показатель общего цитоза (TC-BF, $10^9/\text{л}$); содержание лейкоцитов (WBC-BF, $10^9/\text{л}$), количество эритроцитов (RBC-BF, $10^{12}/\text{л}$); абсолютное и относительное количество моноклеарных клеток ($\text{MN}\# \cdot 10^9/\text{л}$ и MN %); абсолютное и относительное количество полисегментоядерных клеток ($\text{PMN}\# \cdot 10^9/\text{л}$ и PMN %); абсолютное и относительное количество моноклеарных клеток с высокой флуоресценцией ($\text{HF-BF}\# \cdot 10^9/\text{л}$ и HF-BF %); абсолютное и относительное количество нейтрофилов ($\text{NE-BF}\# \cdot 10^9/\text{л}$ и NE-BF %); абсолютное и

относительное количество лимфоцитов (LY-BF# · 10⁹/л и LY-BF%); абсолютное и относительное количество моноцитов (МО-BF# · 10⁹/л и МО-BF%); абсолютное и относительное количество эозинофилов (ЕО-BF# · 10⁹/л и ЕО-BF%).

Концентрацию общего белка (г/л) в асцитической жидкости определяли на анализаторе «Белур».

Статистическую обработку данных производили при помощи программы Statistica 7. Анализировали следующие статистические показатели: среднее значение (M), стандартная ошибка (St er), стандартное отклонение (SD), критерий статистической значимости различий (p).

Межгрупповые различия считались статистически значимыми при непараметрическом критерии Манна – Уитни ($p < 0,05$). Рассчитывали гистограммы плотности вероятности $p(x)$.

Результаты

В таблице 1 представлены результаты анализа асцитических жидкостей у пациентов с опухолевыми (группа 1) и неопухолевыми (группа 2) процессами.

Согласно полученным данным (таблица 1) статистически значимые межгрупповые различия ($p < 0,05$) зарегистрированы в отношении следующих показателей:

- количество высокофлюоресцентных клеток и эозинофилов (относительное и абсолютное);
- общий цитоз;
- концентрация общего белка.

На рисунке 1 показаны гистограммы относительного количества высокофлюоресцентных молодых клеток (HF %) в асцитических жидкостях пациентов двух групп.

Таблица 1 – Результаты анализа асцитических жидкостей у пациентов с неопластическими процессами и циррозами печени

Показатель	Группа 1 (неогенез)	Группа 2 (цирроз)	p-level
TC-BF#, 10 ⁹ /л	1,37 ± 0,43 (1,67)	0,25 ± 0,06 (0,24)	0,002
WBC-BF#, 10 ⁹ /л	1,11 ± 0,36 (1,38)	0,25 ± 0,06 (0,24)	0,008
RBC-BF#, 10 ¹² /л	0,01 ± 0,00 (0,02)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,086
MN-BF#, 10 ⁹ /л	0,77 ± 0,24 (0,91)	0,21 ± 0,05 (0,22)	0,021
PMN-BF#, 10 ⁹ /л	0,27 ± 0,13 (0,52)	0,03 ± 0,01 (0,03)	0,009
MN, %	81,43 ± 3,07 (11,88)	80,39 ± 4,085 (20,57)	0,539
PMN, %	18,57 ± 0,07 (11,38)	19,61 ± 4,85 (20,57)	0,539
HF-BF#, 10 ⁹ /л	0,15 ± 0,10 (0,17)	0,01 ± 0,00 (0,02)	0,000
HF-BF, %	28,09 ± 0,14 (37,83)	5,42 ± 0,87 (3,70)	0,000
NE-BF#, 10 ⁹ /л	0,26 ± 0,13 (0,51)	0,03 ± 0,01 (0,03)	0,031
NE-BF, %	17,60 ± 3,05 (11,82)	19,61 ± 4,85 (20,57)	0,075
LY-BF#, 10 ⁹ /л	0,34 ± 0,08 (0,32)	0,17 ± 0,05 (0,20)	0,047
LY-BF, %	51,79 ± 05,6 (19,97)	59,44 ± 5,94 (25,20)	0,311
MO-BF#, 10 ⁹ /л	0,43 ± 0,10 (0,17)	0,04 ± 0,01 (0,05)	0,006
MO-BFЭ %	29,64 ± 4,82 (18,68)	20,95 ± 3,29 (13,97)	0,199
EO-BF#, 10 ⁹ /л	0,01 ± 0,01 (0,03)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,000
EO-BF, %	0,97 ± 0,38 (1,47)	0,00 ± 0,00 (0,00)	0,000
Общий белок, г/л	43,22 ± 9,20 (27,59)	16,00 ± 5,81 (20,96)	0,019

Примечание: жирным шрифтом выделены статистически значимые различия ($p < 0,05$).

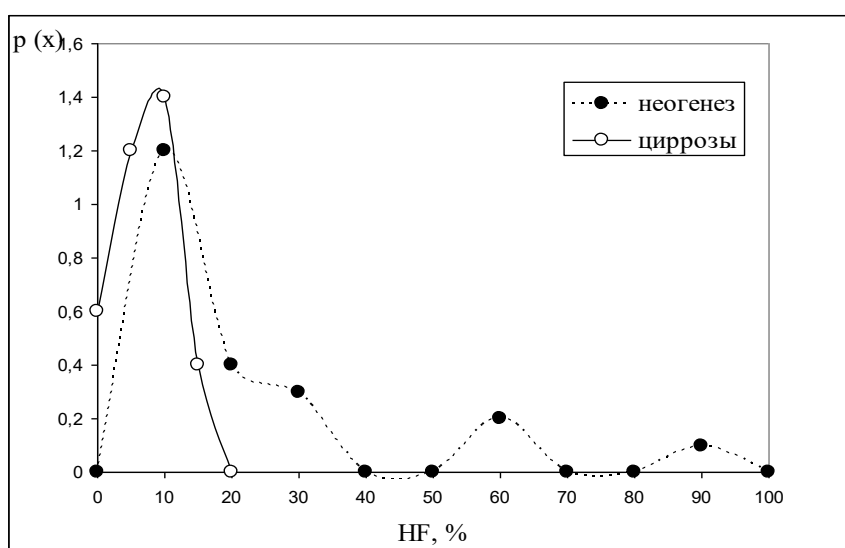


Рисунок 1 – Гистограммы относительного количества высокофлуоресцентных клеток в асцитических жидкостях различного генеза

В соответствии с рисунком 1, при циррозах печени (группа 2) наиболее вероятное значение HF – 5–10 %. Индивидуальный анализ показал, что у двух пациентов (11,1 %) высокофлюоресцентных клеток не обнаружено (HF = 0 %). У 6 пациентов (33,3 %) значение HF больше нуля, но меньше 5 %. Максимально высокое содержание высокофлюоресцентных клеток при циррозах печени составило 14,3 %.

Совершенно другая гистограмма имеет место у пациентов с неопластическими процессами (группа 1). На рисунке 1 показан длинный «хвост» распределения, свидетельствующий о широкой амплитуде колебаний показателя HF (%). Согласно данным индивидуального анализа, при опухолевых процессах количество высокофлюоресцентных клеток значительно варьировало – от 2,9 до 85,1 %.

У 45 % больных значение HF >10 %. При этом у 13 % из них относительное количество высокофлюоресцентных клеток превышало 30 %. Хвост распределения HF >20 % практически полностью ассоциирован с опухолевыми процессами.

Одна из возможных причин подобного «разброса данных» – различное содержание атипичных клеток в асцитической жидкости. Согласно проопыту, ситуация, когда в анализируемом биоматериале присутствуют единичные патологические клетки, не является редкой. В подобных случаях необходим комплексный анализ всего спектра данных.

Другой диагностически ценный параметр – показатель общего цитоза (ТС-BF). Согласно результатам сравнительного анализа (таблица 1), клеточность выпота при неопластических процессах достоверно выше, чем при циррозах печени ($1,37 \pm 0,43 \cdot 10^9/\text{л}$ и $0,25 \pm 0,06 \cdot 10^9/\text{л}$, соответственно). Исходя из полученных данных, в среднем в условиях неогенеза значение параметра ТС-BF в пять раз превышает аналогичный показатель при циррозах печени.

Результаты индивидуального анализа показали, что у пациентов с циррозами клеточность выпота варьирует в диапазоне $0,024\text{--}0,687 \cdot 10^9/\text{л}$, в то время как при неогенезе диапазон колебаний ТС-ВФ – от $0,186$ до $6,171 \cdot 10^9/\text{л}$.

На рисунке 2 показана гистограмма значений показателя ТС-ВФ при опухолевых процессах.

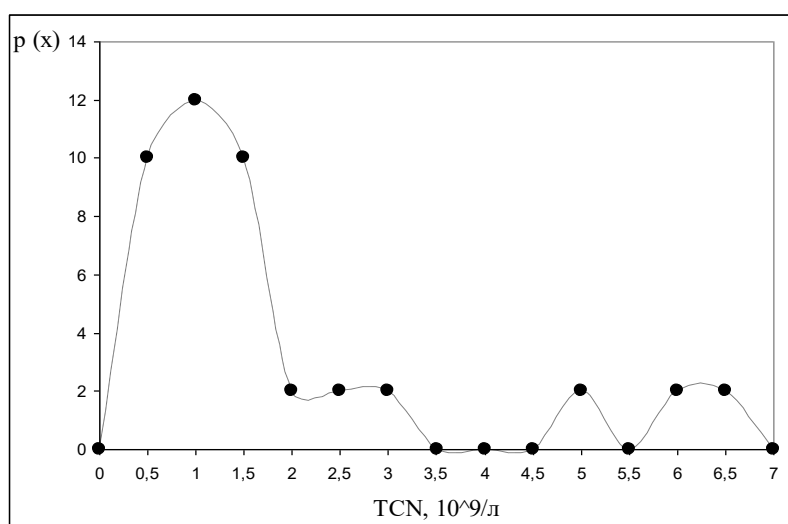


Рисунок 2 – Гистограмма распределения показателя НФ (%) при опухолевых процессах

Согласно рисунку 2, у большинства пациентов с неопластическими процессами значение ТС-ВФ близко к $1,0 \cdot 10^9/\text{л}$, у 23 % больных оно варьировало в диапазоне $2,0\text{--}7,0 \cdot 10^9/\text{л}$.

Согласно нашему опыту, при выпоте с резко выраженной клеточностью (при отсутствии воспаления) подозревают онкопатологию. Отсутствие в подобных препаратах идентифицируемых опухолевых клеток связано с погрешностями преаналитического этапа в лабораторных исследованиях (например, сгусток), деструкцией клеток, низким ядерно-цитоплазматическим соотношением опухолевых клеток (например, перстневидно-клеточный рак желудка).

Относительно показателей общей клеточности однозначного вывода нет. В частности, у четырех пациентов с онкопатологией (18 %) зарегистрирована низкая общая клеточность ($\text{ТС-ВФ} < 0,300 \cdot 10^9/\text{л}$),

сопоставимая со значением аналогичного показателя группы 2 (цирроз). Малоклеточный серозный выпот может регистрироваться, например, при гепатоцеллюлярной карциноме.

При анализе результатов автоматизированного анализа обращают внимание на наличие/отсутствие эозинофилов. Согласно полученным данным (таблица 1) в асцитических выпотах при циррозах (не осложненных бактериальным перитонитом) эозинофилы отсутствовали. При неогенезе наличие эозинофилов зарегистрировано в 91 % случаев.

Показатель содержания белка в асцитической жидкости не специфичен, но вносит свой вклад в итоговую результирующую.

Содержание общего белка – 25 г/л условно принимают за дискриминационную точку, разграничивающую транссудат от экссудата. Установлено, что при неопластическом процессе концентрация белка в три раза выше ($43,22 \pm 9,20$), чем при циррозе печени ($16,00 \pm 5,8$) г/л. Серозный выпот группы 1 ассоциируется с экссудатом, а группы 2 – с транссудатом.

Клинические случаи

Случай 1. Пациентка Б., 61 год. Поступила экстренно в хирургическое отделение стационара с жалобами на резкие боли в области пупочной грыжи, в анамнезе она в течение 10 лет. Клинический диагноз при поступлении: «Ущемление пупочной грыжи?»

Проведено УЗИ органов брюшной полости. В результате выявлены признаки невраправимой пупочной грыжи, распространенного гидроперитонеума.

При оперативном вмешательстве удален грыжевый мешок с признаками опухолевой инфильтрации. Из брюшной полости эвакуировано до 3000 мл жидкости, отправленной на цитологическое исследование.

Особенности биохимических показателей: увеличение С-реактивного белка (СРБ) до 117,9 мг/л (норма 0–5) и креатинина – до 144,4 мкмоль/л (норма 44–90). В общем анализе крови (ОАК) лейкоцитоз (лейкоциты –

17,74 · 10⁹/л), тромбоцитоз (тромбоциты – 623 · 10⁹/л), анемия умеренной степени выраженности (гемоглобин – 9,9 г/дл)

Автоматизированный и биохимический анализ асцитической жидкости: общий цитоз – 2,49 · 10⁹/л, содержание лейкоцитов – 2,28 · 10⁹/л, клетки с высокой флюоресценцией – 9,2 % или 0,210 · 10⁹/л, содержание эозинофилов – 5,4 %, общий белок – 68 г/л (экссудат).

Результаты цитологического исследования «Метастатическая аденокарцинома», патогистологического исследования грыжевого мешка: «Плотная фиброзная сосудистая ткань со структурами аденокарциномы».

Случай 2. Пациент Г., 75 лет. Планово поступил в гастроэнтерологическое отделение стационара. С 2012 г. в анамнезе хронический рецидивирующий гепатит С. Противовирусную терапию не проводили. При ультразвуковом исследовании выявлены признаки гепатоспленомегалии, асцита, очаговые образования в правой доле (цирроз? cancer?).

Исследование онкомаркеров: альфа-фетопротеина (АФП) (печень, яичники) – 43,05 нг/мл (норма 0–8,04).

Автоматизированный анализ выпотной жидкости:

общий цитоз – 0,194 · 10⁹/л, содержание лейкоцитов – 0,177 · 10⁹/л, клетки с высокой флюоресценцией – 9,6 % или 0,017 · 10⁹/л, содержание эозинофилов – 0,6 %.

Цитологическое заключение: выпот с незначительной клеточностью. Встречаются единичные клетки с атипией, которую трудно дифференцировать между дегенеративно-дистрофическими изменениями мезотелия и клетками злокачественного новообразования.

Заключительный клинический диагноз: цирроз печени, вирусный С, класс В по Чайлд – Пью. Гепатоцеллюлярная карцинома.

Заключение

Параметры автоматизированного анализа биологических жидкостей «недооценены» как отечественными, так и зарубежными исследователями. Этот вывод можно сделать по ограниченному объему публикаций, посвященных этой теме, а также по методологическому подходу к оценке получаемых данных. Человеческий организм – сложная биологическая система с нелинейными процессами. Как следствие, значение отдельного показателя нужно интерпретировать с позиции вероятности в конкретном числовом диапазоне.

В частности, в системе скрининга атипических клеток диагностически значимым является следующий комплекс параметров:

- высокий общий цитоз ($TCN > 1,0 \cdot 10^9/\text{л}$);
- наличие эозинофилов ($EOS > 0 \%$);
- высокое содержание высокофлюоресцентных клеток ($HF > 20 \%$).

Таким образом, микроскопическое цитологическое исследование остается «золотым стандартом» исследования генеза выпота.

Список литературы

1. *Cho Y. U. et al.* Body fluid cellular analysis using the Sysmex XN-2000 automatic hematology analyzer: focusing on malignant samples / *Y. U. Cho, H. S. Chi, S. H. Park [et al.]* // *Int J Lab Hematol.* – 2015; 37:346–356.
2. Cell counting of body fluids: comparison between three automated haematology analysers and the manual microscope method / *P. Danise, M. Maconi, A. Rovetti [et al.]* // *Int J Lab Hematol.* – 2013; 35:608–613.
3. Validation of the body fluid module on the new Sysmex XN-1000 for counting blood cells in cerebrospinal fluid and other body fluids / *C. Fleming, R. Brouwer, J. Lindemans [et al.]* // *Clin. Chem Lab Med.* – 2012; 50:1791–1798.
4. Detection of malignant cells in serous body fluids by counting high-fluorescent cells on the Sysmex XN-2000 hematology analyzer / *D. Labaere, N. Boeckx, I. Geerts [et al.]* // *Int J Lab Hematol.* – 2015; 37: P715–722.
5. *Sharma S.* Cytomorphological analysis of effusion fluids for detection malignant cells in a tertiary care hospital in northern India / *S. Sharma, S. Asotra. S. Asotra* // *Cancer Res Ther.* – 2023 Jan 1; 19 (Suppl 2): P. 628–632. doi: 10.4103/jcrt.jcrt_1045_22.