

## ANALIZY WYSIĘKÓW OPŁUCNOWYCH

Gromadzenie się płynów w klatce piersiowej może być wynikiem zatoru lub zmian pourazowych, zapalnych, zakaźnych bądź nowotworowych w obrębie opłucnej, płuc, serca lub śródpiersia. Objawy kliniczne wysięku opłucnowego są znacznie zróżnicowane (duszność, ból w klatce piersiowej, kaszel).

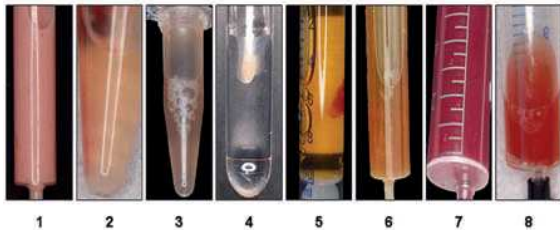
Diagnostyka wysięku opłucnowego odbywa się z reguły w oparciu o badanie radiologiczne.

W przypadku wysięku opłucnowego płyn gromadzi się zarówno pomiędzy płucami i ścianą klatki piersiowej jak i w szczelinach opłucnej pomiędzy płatami płuc.

W ustaleniu przyczyny pomocne okazuje się nierzadko połączenie metod makroskopowych, fizykochemicznych i cytologicznych podczas badania próbki materiału pozyskanej w wyniku punkcji.

### Ocena makroskopowa

Płyn gromadzący się w klatce piersiowej może być wodnisty (łac. hydrothorax), ropny (łac. pyothorax) lub krwisty (łac. haemo(hydro)thorax), jednak z reguły nie pozwala on na określenie etiologii samego wysięku (ryc.1).



Ryc.1. Badanie makroskopowe różnego rodzaju wysięków opłucnowych

1) chłonnokotek, 2) wysięk urazowy, 3) chłoniak, 4) dodatnia próba Rivalty, 5) FIP, 6) nowotwór złośliwy płuca, 7) nowotwór złośliwy płuca, 8) wysięk urazowy

### Badania fizykochemiczne

Badania fizykochemiczne płynu wysiękowego służą głównie różnicowaniu pomiędzy przesiękiem, przesiękiem zmodyfikowanym, wysiękiem i chłonnką. Często jednak niezbędne jest uzupełniające badanie cytologiczne w celu ograniczenia potencjalnego zakresu czynników etiologicznych. W celu oznaczenia liczby komórek i poziomu białek

oraz wykonania cytologii płyn można przesłać w probówce z EDTA.

Do badań chemicznych takich jak oznaczenie stężenia białka oraz cholesterolu i trójglicerydów zaleca się użycie neutralnej próbki bez dodatków bądź próbki do surowicy.

Stężenie LDH w płynie wysiękowym jest parametrem procesów zapalnych, ponieważ LDH jest głównie enzymem granulocytarnym. Rozpad komórek nowotworowych lub mezotelialnych również powoduje uwalnianie LDH

Wartości LDH powyżej 200 IU/l uznaje się za marker procesów wysiękowych.

Wartość pH poniżej 7,4 przemawia za nie-nowotworowym procesem zapalnym. Wartość pH poniżej 7,4 przy jednoczesnym stężeniu glukozy poniżej 30 mg/dl (norma: 70-100 mg/dl) i poziomie neutrofilii powyżej 85% wskazuje na wysięk septyczny.

Płyny gromadzące się w obrębie opłucnej w związku z obecnością złośliwego guza mają często charakter wysięku, lecz towarzyszy im normalne lub podwyższone pH (> 7,4), glukoza w przedziale 10-80 mg/dl oraz poziom neutrofilii poniżej 30%, przy czym różne źródła podają niekiedy wartości graniczne nieznacznie odbiegające od wskazanych powyżej.

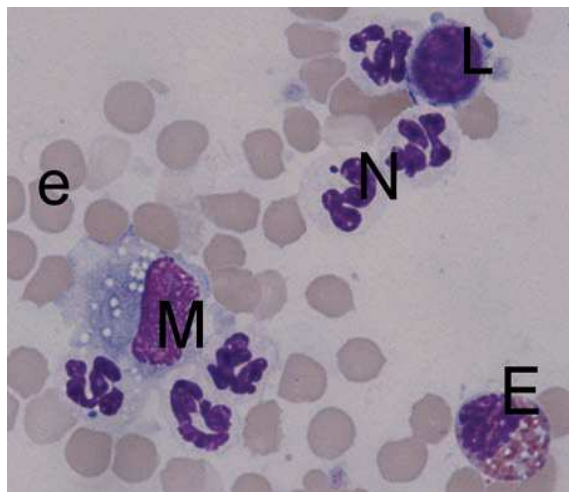
W tabeli nr 1 przedstawiono wartości oparte na danych zaczerpniętych z literatury.

### Badanie cytologiczne

W badaniu cytologicznym w pierwszej kolejności poddaje się ocenie liczbę komórek, a następnie identyfikuje się poszczególne rodzaje komórek.

W zależności od liczby komórek zaleca się wykonanie rozmazu płynu pobranego metodą punkcji lub pozyskanego zeń osadu (wirowanie 5 min przy 165-365G lub 1000-1500 obr./min.) na nośniku i przesłanie preparatu do laboratorium po osuszeniu. Należy przy tym podkreślić, iż nie można mówić o prawidłowej cytologii wysięku, ponieważ każdy wysięk możliwy do stwierdzenia klinicznie lub radiologicznie jest sam w sobie patologiczny.

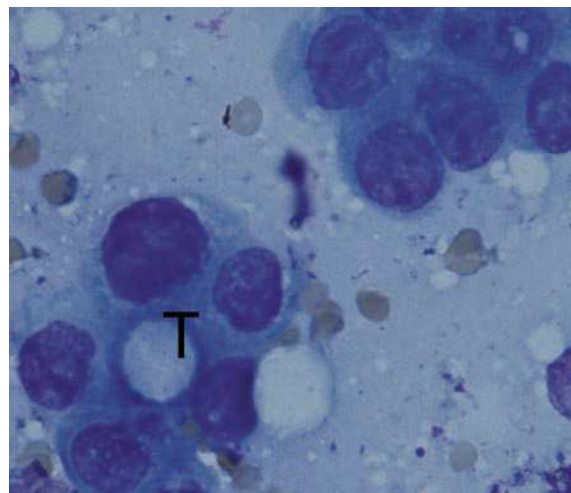
Na podstawie liczby i rodzaju komórek (rys. 2) w płynie można często określić przyczynę wysięku (**tabela nr 2**).



Ryc. 2: Neutrofile (N), makrofag (M), eozynofil (E), uaktywniony limfocyt (L) i rozsiarne erytrocyty (e) w wysięku opłucnowym

Komórki mezotelialne mogą mieć jedno, dwa lub większą ilość kulistych jąder. Zaobserwować można również zróżnicowane ilości jednorodnej cytoplazmy. Widoczna często korona z wypustków komórkowych uwarunkowana jest rodzajem komórek. Makrofagi występują w większości przypadków. Ich cytoplazma jest w znacznie bardziej zwakuolizowana, a ich jądra mają kształt ziarna fasoli. Prawidłowe rozróżnienie makrofagów, komórek mezotelialnych i komórek nowotworowych nie zawsze jest możliwe. Neutrofile w niewielkiej ilości obecne są w niemal każdym wysięku. Można je podzielić na neutrofile zdegenerowane (wskutek infekcji) i neutrofile niezdegenerowane. Niekiedy zaobserwować można także wewnątrzkomórkowe drobnoustroje będące przyczyną infekcji. Limfocyty występują w dużych ilościach w niemal każdym wysięku. Najwięcej jest ich w chłonce. W przypadku chłoniaka zaobserwować można komórki limfatyczne spełniające kryteria złośliwości. Mastocyty występują rzadko w płynie wysiękowym. Można je zaobserwować w niewielkich ilościach podczas procesu zapalnego. Występują natomiast licznie w przypadku wewnątrzopłucnowych nowotworów mastocytarnych. Natomiast zwiększona liczba eozynofili jest typowa dla odmy opłucnowej, dirofilariozy oraz reakcji alergicznych. Obecność erytrocytów może być następstwem urazów, zwiększonej przepuszczalności naczyń oraz zaburzeń krzepliwości. Może być również uwarunkowana sposobem pobrania materiału. Obecność trombocytów wskazuje na

niedawny krwotok lub zanieczyszczenie próbki w trakcie pobrania. Próbkę płynu z opłucnej może zawierać komórki nowotworowe (ryc.3) różnego pochodzenia (patrz niżej).



Ryc. 3: Cewkowata formacja komórek nabłonka (T) w płynie opłucnowym kota ze złośliwym nowotworem płuca

**Krwiak opłucnej (haemothorax)** powstaje w wyniku urazu, wskutek rozerwania guza lub w następstwie zaburzeń krzepliwości (np. w wyniku zatrucia środkami do zwalczania gryzoni). Wysięk taki ma postać wodnistej, czerwonej cieczy, a jego parametry biochemiczne są zbliżone do parametrów krwi obwodowej. Z cytologicznego punktu widzenia krwiak opłucnej charakteryzuje się głównie obecnością erytrocytów. Po upływie 2 dni następuje erytrofagocytaza makrofagowa, a po 5 dniach pojawia się sydereyna.

**Przebieg** lub **przebieg zmodyfikowany** jest wysiękiem wskutek zwiększonego ciśnienia hydrostatycznego lub onkotycznego. W skali makro przebieg ma postać bezbarwnej lub bursztynowej cieczy (hydrothorax). Analiza fizykochemiczna płynu przebiegowego, a w szczególności oznaczenie stężenia białka, służy różnicowaniu pomiędzy przebiegami hydrostatycznymi (sercowymi) a przebiegami onkotycznymi (hipoproteinemicznymi).

Z cytologicznego punktu widzenia płyn przebiegowy charakteryzuje się obecnością jedynie pojedynczych limfocytów, komórek mezotelialnych, makrofagów i neutrofilii. Pojęcie „przebiegu zmodyfikowanego” funkcjonuje wyłącznie w weterynarii i zostało stworzone w celu opisu cech wspólnych dla przebiegu i wysięku.

Przyczynami **chłonkotoku** (chylothorax) mogą być uszkodzenia przewodu piersio-

wego bądź zaburzenia przepuszczalności naczyń limfatycznych. Chłonkotok obserwuje się często u kotów w przebiegu kardiomiopatii przerostowej lub restrykcyjnej. U psów do czynników odpowiedzialnych za chłonkotok należą guzy, przepukliny oraz choroby serca. Sam płyn jest mętno-mleczny bądź bladorożowy. Z formalnego punktu widzenia stanowi on przesiek zmodyfikowany i odznacza się bardzo wysoką zawartością trój glicerydów. (> 100 mg/dl) przy jednocześnie niemal prawidłowej wartości cholesterolu. Z cytologicznego punktu widzenia chłonkotok charakteryzuje się obecnością licznie rozsianych limfocytów, makrofagów, pojedynczych neutrofilii i komórek mezotelialnych oraz mikroskopijnych drobinek tłuszczu.

**Wysięki** powstają wskutek uwarunkowanego procesem zapalnym wzrostu przepuszczalności naczyń. Mają one często postać mętnej i czerwono-brunatnej cieczy (pyothorax). W badaniu cytologicznym można zaobserwować obecność zdegenerowanych i niezdegenerowanych neutrofilii, makrofagów i uaktywnionych komórek mezotelialnych. W wysiękach septycznych (nokardioza, streptotrychoza) zaobserwować można również wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe struktury chorobotwórczych drobnoustrojów.

Klasycznym przykładem wysięku opłucnowego o podłożu zapalnym jest mokra postać **zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów**, w którym wysięk przybiera postać ciągnącej się, bladożółtej lub bursztynowej cieczy.

Wśród właściwości fizykochemicznych charakteryzujących wysięk towarzyszący zakaźnemu zapaleniu otrzewnej kotów wymienić należy ciężar właściwy powyżej 1030 oraz dodatnią próbę Rivalta wskutek wysokiego stężenia białka (> 35-45 g/l). Wykonana dodatkowo elektroforeza pokazuje stosunek albuminy do globuliny poniżej 0,8. Analiza cytologiczna rozmazu wykazuje z reguły niskie stężenie komórek (1500-2000 kom./1 $\mu$ l), wśród których znajdują się nieliczne niezdegenerowane neutrofile, pojedyncze makrofagi, limfocyty i komórki plazmatyczne, a także pojedyncze komórki mezotelialne. Niekiedy jednak zaobserwować można wysięki o bardzo znacznym stężeniu komórek (do 6000 kom./1 $\mu$ l).

**Wysięki opłucnowe** w przebiegu **nowotworów złośliwych** powstają w wyniku

blokady odpływu limfy w obrębie błony surowiczej oraz wtórnego procesu zapalnego. W skali makro wysięku nowotworowego nie można odróżnić od wysięku o innej genezie. Wysięk w pojęciu ogólnym może wykazywać cechy przesieku lub wysięku w wąskim rozumieniu, jeżeli mamy do czynienia z wtórną reakcją zapalną. Stężenie białek oraz liczba komórek mogą się znacznie różnić. Pierwotne procesy nowotworowe mogą być umiejscowione w obrębie klatki piersiowej bądź poza nią. Do pierwszej grupy zalicza się pierwotne nowotwory płuc lub przerzuty innych nowotworów, nowotwory śródpiersia, chłoniaki, przerost tkanki limfatycznej grasicy, oraz rzadziej grasiczaki i międzybłoniaki. U psów i kotów międzybłoniaki występują bardzo rzadko i prawidłową diagnozę gwarantuje z reguły jedynie badanie histologiczne lub immunohistologiczne. W przypadku nowotworów pierwotnych umiejscowionych poza klatką piersiową komórki nowotworowe przedostają się za pośrednictwem przerzutów płucnych bądź naczyń limfatycznych do płynu opłucnowego. Obraz cytologiczny różni się w zależności od rodzaju nowotworu, przy czym brak komórek nowotworowych w płynie wysiękowym nie wyklucza nowotworu. Do cytologicznych kryteriów złośliwości zalicza się przede wszystkim zmiany w strukturze jąder, np. zanik kulistości jąder komórkowych, granulacja chromatyny, tworzenie się jąderek oraz zmiana wartości indeksu plazmojadrowego. Za kryterium drugorzędne uznaje się obecność skupisk komórkowych (np. rak, międzybłoniak). Jednak w przypadku chłoniaka skupiska takie nie występują. Zarówno makrofagi jak i reaktywne wytwory mezotelium z reguły nie tworzą większych skupisk komórkowych.

**Reasumując** należy podkreślić, iż analiza cytologiczna płynu opłucnowego przeprowadzona z uwzględnieniem objawów klinicznych, ogólnego obrazu oraz parametrów fizykochemicznych może być bardzo pomocna w diagnozie.

Prawidłowa interpretacja wymaga przy tym znajomości wyników badań klinicznych i rentgenologicznych. Nie zawsze możliwe jest postawienie ostatecznej diagnozy dotyczącej przyczyny wysięku opłucnowego. W takich przypadkach konieczne jest powtórzenie badań oraz wykonanie dodatkowych czynności diagnostycznych (torakoskopia, biopsja).

**Tabela nr 1:** Wybrane parametry biochemiczne umożliwiające różnicowanie wysięków opłucnowych

	Ciężar właściwy	Białko (g/l)	Liczba komórek (kom./ $\mu$ l)	Indeks cholest./trójglic.	LDH IU/I	pH	Glukoza mg/dl
<b>Przesięk</b>	<1018	<25 próba Rivalty ujemna	<1000	>1	<200	~7,4	70-100
<b>Przesięk zmodyfikowany</b>	1018-1025	25-75 próba Rivalty ujemna lub nieznacznie dodatnia	1000-7000	>1		~7,4	70-100
<b>Wysięk s.s.</b>	>1025	>30 próba Rivalty dodatnia	>7000	>1	>200	<7	<30
<b>Chłonka</b>	>1018	>25	różne	<1 trój lic. >100 mg/dl		~7,4	70-100
<b>FIP</b>	>1030	>35-45 próba Rivalty dodatnia indeks album. /globul. <0,8	1500-2000		>300	~7,4	<70
<b>Wysięk nowotworowy</b>	>1018	>25	różne	>1	200-1600	$\geq$ 7,4	10-80
<b>Krwiak opłucnej</b>	>1025	>30	>100	>1		~7,4	-

**Tabela nr 2:** Skład komórkowy wysięków opłucnowych

	Limfocyty	Komórki mezotelialne	Makrofagi	Neutrofile zdegenerowane	Neutrofile niezdegenerowane	Erytrocyty	Komórki nowotworowe
<b>Przesięk</b>	(+)	+	+	-	(+)	-	-
<b>Przesięk zmodyfikowany</b>	++	+	+	-	+	(+)	-/+
<b>Wysięk s.s</b> - zakaźny - niezakaźny	+ +	+ +	+ +++	+++ -	+ ++	(+) (+)	- -/+
<b>Chłonka</b>	+++	+	+ +++	-	+	-	-
<b>Chłonka rzekoma</b>	++	++	++	+	++	(+)	-
<b>FIP</b>	+	-	+	-	+	-	-
<b>Krwiak opłucnej</b>	(+)	+ +++	+	(+)	(+)	+++	-
<b>Wysięk nowotworowy</b>	+	+	+	-	+	(+)	++/-