

Znaczenie badań cytologicznych w chorobach naczyniowych mózgu

The role of cytological examination in cerebrovascular diseases

ZOFIA OSUCH

Z Kliniki Neurologii PAM w Szczecinie

STRESZCZENIE. *Artykuł jest krótkim przedstawieniem wiadomości z zakresu diagnostyki cytologicznej płynu mózgowo-rdzeniowego w ostrych chorobach naczyniowych mózgu i rdzenia kręgowego. Omówiono sekwencję zespołów cytologicznych w przypadkach: (1) krwawienia do przestrzeni płynowych i (2) ognisk zawałowych mózgu. Praca zawiera szereg informacji przydatnych w codziennej diagnostyce klinicznej (red.).*

SUMMARY. *Knowledge on cytological diagnostics of the cerebrospinal fluid in acute vascular diseases of the brain and spinal cord is briefly overviewed in the paper. The sequence of cytological syndromes is discussed in cases of: (1) bleeding to the cerebrospinal fluid spaces, and (2) cerebral infarction foci. A number of data useful in everyday clinical practice are presented to the reader (ed.).*

Słowa kluczowe: choroby naczyniowe mózgu / diagnostyka / badania cytologiczne
Key words: cerebrovascular diseases / diagnostics / cytological examination

Badania cytologiczne płynu mózgowo-rdzeniowego mają większe znaczenie praktyczne w krwawieniach podpajęczynówkowych i udarach krwotocznych, niż w udarach niedokrwiennych mózgu. Według Bischoffa:

znaczenie diagnostyczne płynu mózgowo-rdzeniowego zawierającego krew zależy od pewności z jaką można wykluczyć artefakty, a przy rozpatrywaniu różnych metod badawczych należy postawić pytanie – o ile te metody są pewne [1].

Znaczenie tych badań w diagnostyce płynów mózgowo-rdzeniowych krwistych jest tym większe, im bardziej zawodzą nowoczesne badania, jak np. tomografia komputerowa czy rezonans magnetyczny.

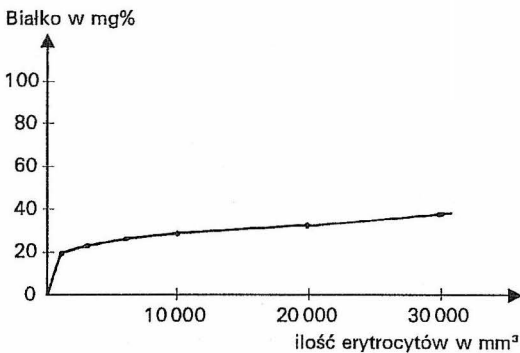
Ustalenie metod badawczych i rodzaju barwień zależy od czasu, jaki upłynął od początku choroby. Należy bardzo uważnie ob-

serwować płyn mózgowo-rdzeniowy od momentu wykonania nakłucia lędźwiowego. Dotyczy to barwy płynu i tu czasem niezawodna jest tzw. próba „trzech probówek”, pomiaru ciśnienia płynu mózgowo-rdzeniowego, które w krwawieniach patologicznych jest z reguły wysokie. W niektórych ośrodkach nadal duże znaczenie przywiązuje się do próby benzydynamowej van den Bergha, nie należy jednak zapominać, że można tu spotkać się z fałszywie dodatnimi wynikami, szczególnie gdy płyn mózgowo-rdzeniowy zawiera przypadkową domieszkę krwi, a od nastawienia próby do odczytu upływa dłuższy czas.

Ksantochromię płynu mózgowo-rdzeniowego po odwirowaniu można zaobserwować już po 6 godzinach od wystąpienia krwawienia, a zmianę barwy płynu poprzez ksantochromiczny, opalizujący można jeszcze obserwować do 3–6 tygodni [1, 2, 5, 6, 8].

Hemolizę krwi w płynie mózgowo-rdzeniowym obserwowano już od 3–4 godz. po wystąpieniu krwawienia, może ona jednak być przypadkowa, gdy, jak twierdzą niektórzy badacze, erythrocyty płynu mózgowo-rdzeniowego zetkną się ze środkami służącymi do odkażania szkła laboratoryjnego [1].

Wzrost białka w krwawieniu patologicznym zależy od obrzęku mózgu, ilości wyznaczynionej krwi. W płynach mózgowo-rdzeniowych przypadkowo skrwawionych wzrost ten jest niewielki. Może być większy wtedy, gdy ilość erythrocytów w kamerze Fuchsa-Rosenthala przekracza 100 tys./mm³. Wtedy też możemy liczyć się z ksantochromią płynu mózgowo-rdzeniowego [8].



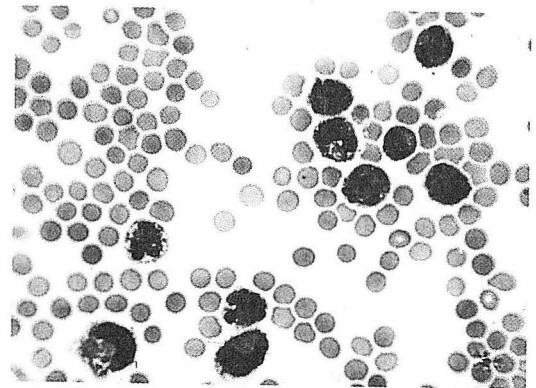
Ważne jest również, aby badanie płynu mózgowo-rdzeniowego było wykonane jak najwcześniej od czasu jego pobrania. W innym przypadku należy liczyć się ze zmianą składu komórkowego, gdyż autolizie ulegają takie komórki, jak: makrofagi, monocyty, granulocyty [5]. Aby uniknąć błędów w interpretacji wyniku otrzymanego z płynu mózgowo-rdzeniowego należy na skierowaniu napisać, jaka była barwa płynu mózgowo-rdzeniowego. Zdarza się, że wykonujący badanie skupia swoją uwagę na komórkach układu białokrwinkowego (zawarty w płynie Türka kwas octowy lodowaty rozpuszcza krwinki czerwone) omijając w wyniku krwinki czerwone i taki wynik może uchodzić za prawidłowy, szczególnie gdy białko nie jest za wysokie i obraz kliniczny niezbyt

jasny. Konsekwencje w tym przypadku ponosi pacjent.

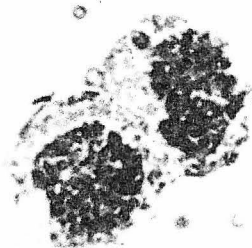
Przystępując do badania cytologicznego płynu mózgowo-rdzeniowego zawierającego krew należy ustalić metodę badania oraz rodzaj zastosowanego barwienia. Uwzględnić tu należy czas, jaki upłynął od wystąpienia krwawienia oraz zwrócić uwagę na to, czy chory nie był wcześniej nakłuwany.

Ilość płynu mózgowo-rdzeniowego potrzebna do wykonania badania zależy od barwy płynu. Przy bardzo krwistych płynach należy do komory sedymentacyjnej, np. Sayka czy do wirówki, pobrać około trzech kropli płynu mózgowo-rdzeniowego, a przy płynach wodojasnych, ksantochromicznych – około 10 kropli [3, 7].

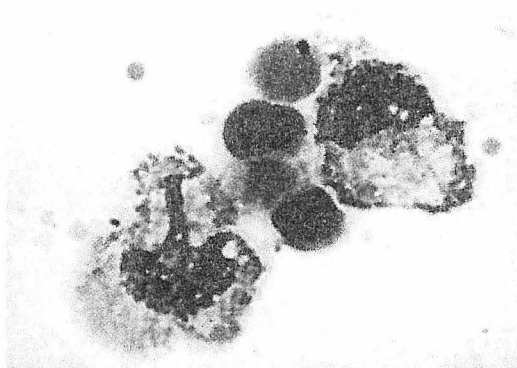
Płyn mózgowo-rdzeniowy poddany sedymentacji lub wirowaniu barwimy metodą May-Grünwald-Giemsa: w przypadku podejrzenia przebytego krwawienia dodatkowo stosujemy barwienie błękitem berlińskim, pruskim czy też Turnbulla, w celu wykrycia żelaza hemosyderyny. W naszej Klinice stosujemy reakcję z błękitem berlińskim. Ta metoda ma szczególne znaczenie w przypadkach podejrzanych o przebyte krwawienie. Przy ostrym masowym krwawieniu do przestrzeni płynowych obraz cytologiczny jest obrazem krwi obwodowej.



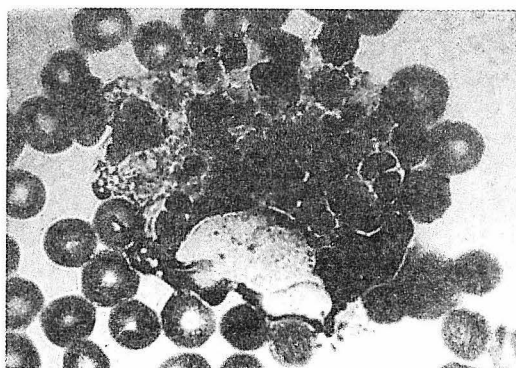
Fotografia 1. Całe pole widzenia zalegają erythrocyty świeże. Wśród nich granulocyty obojętnochłonne i limfocyty. Pow. 40x



Fotografia 2 i 3. Komórki monocytarne z retikulárną cytoplazmą. Pow. 1000x



Fotografia 4. Komórki monocytarne opłaszczone limfocytami. Pow. 1000x



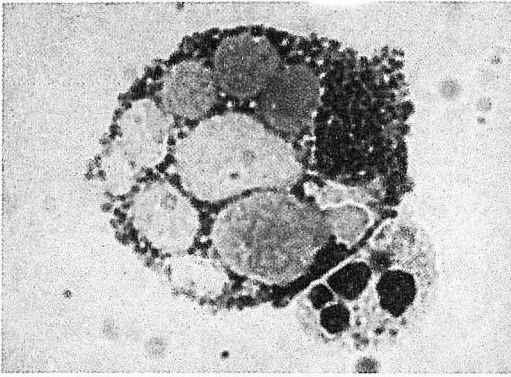
Fotografia 5. Makrofag z wchłoniętymi erytrocytami, jądrami granulocytów i ziarnistościami hemolizy. Pow. 1000x

Po 12, czasem po 24 godzinach od początku zachorowania, na skutek drażniącego działania krwi na opony dochodzi do tak zwanego aseptycznego zapalenia opon lub tylko ich podrażnienia (odczyn meningealny w krwawieniu) (fot. 1). Wielkość tego odczynu zależy od ilości wynaczynionej krwi i zdolności układu siateczkowego do reakcji oponowej w następstwie drażniącego działania krwi. Jest to trudny do interpretacji okres w krwawieniu. Może to być przecieży płyn przypadkowo skrwawiony u chorego z zapaleniem opon, a jeśli dodatkowo chory gorączkuje, problem kliniczny jest nietłwy i nie daje się szybko rozwiązać.

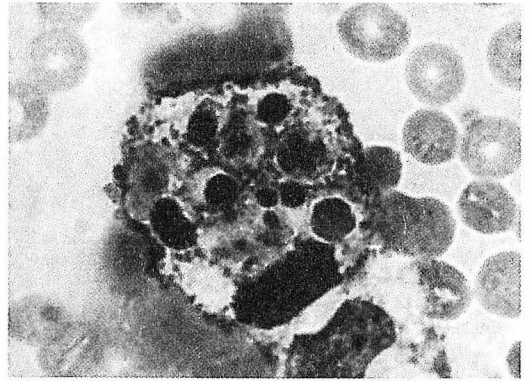
W następnej fazie obserwuje się wzrost komórek grupy monocytarno-makrofago-

wej. Jest to szczególna forma reakcji opon miękkich (fot. 2, 3, 4). Niektórzy autorzy twierdzą, że makrofagi stanowią rodzaj komórek siateczkowych predysponowanych do fagocytozy. Podczas fagocytozy granice makrofagów są wyraźne, dobrze wybarwione, niektóre mają tzw. „nibynóżki”, co wskazuje na ich dużą aktywność (fot. 8). Początkowo makrofagi są wypełnione erytrocytami świeżymi, czasem w swoim wnętrzu zawierają jądra granulocytów (są to tzw. granulocytofagi) (fot. 5, 7).

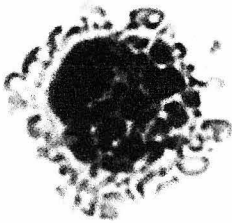
Po fagocytozie następuje fermentacyjne rozpuszczenie erytrocytów. Obok szczątków erytrocytów są puste, tzw. zamaskowane miejsca, które wielkością odpowiadają erytrocytowi, są to wodniczki po rozpuszczonych



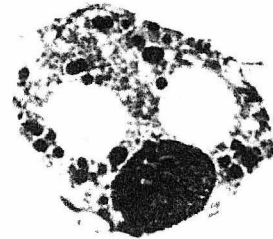
Fotografia 6. Makrofag z wchłoniętymi erytrocytami i z wodniczkami. Pow. 1000x



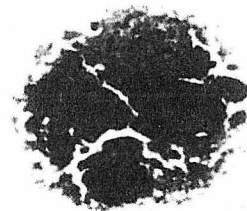
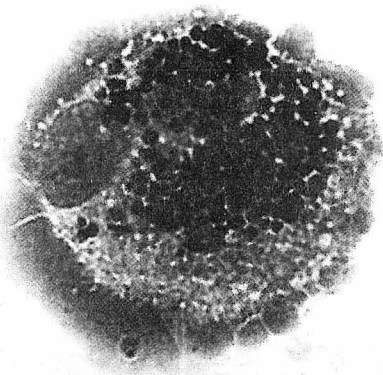
Fotografia 7. Makrofag z erytrocytami i ziarnistościami hemosyderyny. Pow. 1000x



Fotografia 8. Makrofag z nieregularną błoną komórkową („nibynóżki”) i ziarnistościami hemosyderyny. Pow. 1000x



Fotografia 9. Makrofag zawierający ziarnistości hemosyderyny i wodniczki. Pow. 1000x



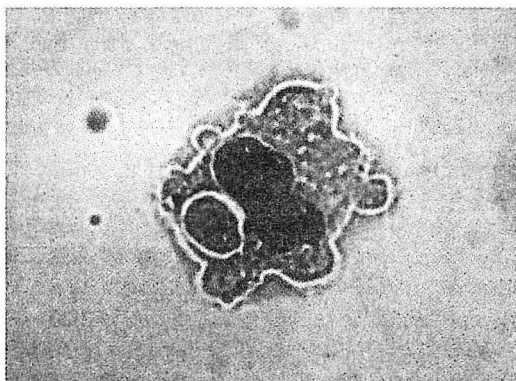
Fotografia 10 i 11. Hemosyderynofagi. Pow. 1000x

erytrocytach (fot. 6, 9). Powstają one w ten sposób, że drobina hemoglobiny zostaje wcześniej rozpuszczona niż otoczka cytoplazmatyczna, w ten sposób powstają wodniczki otoczone bardziej wybarwionym mostem cytoplazmatycznym. Makrofagi przy pomocy swoich fermentów mogą nie tylko rozpuszczać erytrocyty, ale także rozbić drobinę hemoglobiny na jej dwie składowe: beżelazową hematoidynę oraz żelazową hemosydera (fot. 8, 9, 10, 11). Hematoidynę w postaci żółto-brązowych rombów widzimy w płynie mózgowo-rdzeniowym stosunkowo rzadko, powstaje ona najczęściej po ustaniu krwawienia – jest bardziej rozpusz-

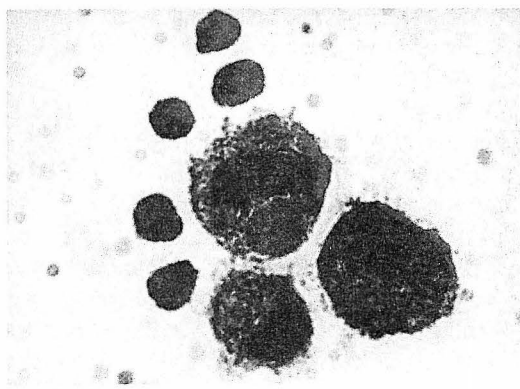
czalna. Sayk widywał ją pozakomórkowo, inni badacze głównie śródkomórkowo. Ziarna hemosydera widujemy w makrofagach od trzeciej godziny po krwawieniu, częściej jednak dopiero po 7 godzinach. Obecność jej można zauważyć do 3 miesięcy, rzadziej do 6 miesięcy po krwawieniu. Duże znaczenie ma tu reakcja z błękitem berlińskim pozwalająca rozpoznać przebyte krwawienie, gdyż pojedyncze obkurczone makrofagi w płynie z ziarnami wewnątrz komórki mogą budzić podejrzenie o artefakt. Badanie to wzmacnia pewność, że jest to hemosydera.

Makrofagi zawierające w cytoplazmie erytrocyty, wodniczki, hemosydera świadczą o krwawieniu dwuczasiowym (fot. 6, 9) – najczęściej z pękniętego tętniaka. Takiego obrazu nigdy nie spotykamy w krwawieniu przypadkowym. Wielu autorów uważa, że odróżnienie krwawienia patologicznego od przypadkowego jest proste, gdyż w ostatnim nie widzimy makrofagów.

W latach siedemdziesiątych Oechmichen i Schütze, na podstawie przeprowadzonych badań, wykazali możliwość pojawienia się erytofarii w płynach skrwawionych przypadkowo. Były to jednak płyny pobrane w czasie odmy lub od chorych z niespecyficznym podrażnieniem opon. Potwierdziliśmy to w badaniach doświadczalnych na zwierzętach (fot. 12).



Fotografia 12. Makrofag z wchłoniętym 1 erytrocytem – badanie doświadczalne. Pow. 1000x



Fotografia 13, 14. Makrofagi małe z wchłoniętym 1 erytrocytem – krwawienie przypadkowe. Pow. 1000x

Tablica 1. Cechy różnicujące krwawienie patologiczne od krwawienia przypadkowego w badaniu cytologicznym kontrolnym

Elementy różnicujące		Krwawienie patologiczne	Krwawienie przypadkowe
Makrofagi	ilość	2.5–52.5%	0–1–2%
	wielkość	27,5–102 μ	17,8–22,2 μ
	ilość wchłoniętych erytrocytów	2–39	1–2
	ilość ziaren hemosyderyny	4–95, często gruboziarniste granulacje	0–1
	obecność ziaren barwika i erytrocytów	często	nigdy
	obecność reakcji z błękitem berlińskim	obecna, gdy są hemosyderynofagi	nigdy
Monocyty	ilość	32–45%	poj. do 80%
	wielkość	15–25 μ	15–22 μ
	kształt	okrągłe, często formy pobudzone i retikularne	okrągłe, owalne, często mogą być inne formy

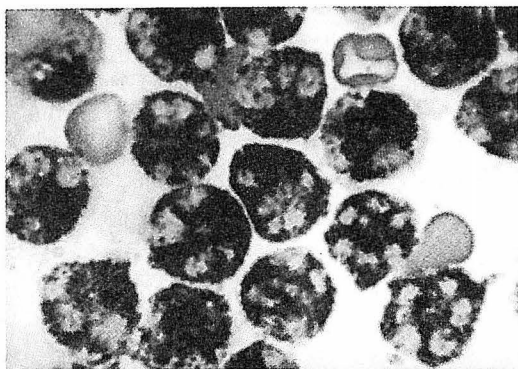
Występowanie fagocytozy zależy od składu komórek w płynie mózgowo-rdzeniowym. Krwawienie może np. wystąpić u chorego z zapaleniem wirusowym opon niewielkiego stopnia lub też z niewielkim odczynem monocytarnym. Taki płyn zawiera monocyty i makrofagi, które pod wpływem drażniącego działania krwi nabierają aktywności i fagocytują 1 lub 2 erytrocyty. Natomiast nigdy nie widzi się tam ziaren hemosyderyny (fot. 13, 14).

Badanie cytologiczne płynu mózgowo-rdzeniowego w udarach niedokrwiennych w około 80% przypadków nie wykazuje zmian, pomijając chorych z procesem swoistym, np. z kiłą oponowo-naczyniową przebiegającą pod postacią udaru mózgu. W 20% można jednak spotkać patologiczny odczyn komórkowy, który nie jest modelem cytologicznym tego udaru. Zależy on od stopnia ukrwotocznienia zawału, rozległości uszkodzenia tkanki nerwowej i bliskiego sąsiedztwa z przestrzeniami płynowymi.

Zmiany komórkowe w tkance nerwowej mogą znaleźć swoje odbicie w zmianach zachodzących w składzie cytologicznym płynu mózgowo-rdzeniowego. Zależy to w dużym

stopniu od lokalizacji zmian w stosunku do przestrzeni płynowych. Wczesna reakcja granulocytowa pojawiająca się w płynie mózgowo-rdzeniowym w ostrych schorzeniach naczyniowych mózgu była obserwowana przez licznych autorów. Dotyczy to głównie zawałów krwotocznych, a w mniejszym stopniu zawałów białych. Duża reakcja granulocytarna może wskazywać na krwotoczny charakter udaru [4].

Obserwowano również wzrost liczby monocytów i makrofagów w grupie zawałów niedokrwiennych i krwotocznych w końcu pierwszego tygodnia udaru (w krwotokach wcześniej). W przypadku uszkodzenia tkanki w następstwie udaru występuje specjalny rodzaj makrofagów, tzw. lipofagi w tkance mózgu i w płynie [7]. Uważa się, że erytrocyty wynaczone do mózgu aktywują układ siateczkowo-śródbłonkowy. Im jest więcej tym więcej w płynie mózgowo-rdzeniowym pojawia się monocytów i makrofagów. Majewska i Hejka stwierdziły wzrost pleocytozy u 41% badanych chorych z ogniskiem niedokrwienia mózgu [7]. Jakimowicz uważa, że niekiedy powstaje



Fotografia 15. Granulocyty obojętnochłonne zawierające lipidy – barwienie sudanem czarnym B. Reakcja 1+. Pow. 1000x

nekrotyczne zapalenie opon wskutek przenikania do płynu mózgowo-rdzeniowego produktów rozpadu ogniska martwiczego.

Preparaty cytologiczne poza rutynowym barwieniem metodą May-Grünwald-Giemsa, barwiono sudanem czarnym B, w celu wykrycia lipidów (fot.15). Znajdowano je w granulocytach, erytrocytach, makrofagach. Taką pozytywną reakcję stwierdza się głównie w rozpadowych procesach tkanki nerwowej, nigdy natomiast w prawidłowym płynie mózgowo-rdzeniowym. Często też znajdowano komórki żerne obciążone ciałami tłuszczowymi w zawałach zatorowych [5].

PIŚMIENNICTWO

1. Bischoff A., Zöbali L.: Leitsymptom: Der bluthaltige Liquor. Schweiz. Med. Wschr. 1966, 96, 105.
2. Cap J., Szabova J.: Cytologické obryzy likvorového sedimentu pri krvacani do centralného nervového systému u deti. Cs. Neurol. 1969, 32, 95.
3. Hryckiewicz D.: Znaczenie badania makrofagów w płynie mózgowo-rdzeniowym w krwawieniach podpajęczynówkowych. Roczniki PAM, Szczecin 1970, 16, 445.
4. Kolasa M.: Badanie cytologiczne płynu mózgowo-rdzeniowego w chorobach naczyniowych mózgu. Praca doktorska, AM Kraków 1981.
5. Kulczycki J.: Atlas cytologiczny płynu mózgowo-rdzeniowego. PZWL, Warszawa 1988, 55-62.
6. Kulczycki J., Osuch Z.: Cytologia płynu mózgowo-rdzeniowego. W: Podstawy neuropatologii. PZWL, Warszawa 1981.
7. Heyka Z.: Obraz morfologiczny płynu mózgowo-rdzeniowego w krwotokach podpajęczynówkowych. Neurol. Neurochir. Pol. 1968, 2, 535.
8. Osuch Z.: Obraz cytologiczny płynu mózgowo-rdzeniowego po przypadkowym jego skrwawieniu w czasie nakłucia lędźwiowego. Roczniki PAM, Szczecin 1982, 28, 285.
9. Strumień M.: Różnicowanie krwistego płynu mózgowo-rdzeniowego. Neurol. Neurochir. Pol. 1977, 11, 269.

Adres: Dr Zofia Osuch, Klinika Neurologii PAM, ul. Unii Lubelskiej 1, 71-344 Szczecin