



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الطب البشري

قسم الباثولوجيا والباثولوجيا الخلوية

بحث علمي أعد لنيل شهادة الدراسات العليا التخصصية في الباثولوجيا والباثولوجيا الخلوية،

بمعنوان:

دراسة دقة وحساسية الرسابة الخلوية المستخلصة من سائل الجنب في تشخيص خباثات

الجنب ومقارنتها مع نتائج الدراسة الخلوية للسائل

رئاسة:

أ.د. وليد الصالح

أستاذ في التشريح المرضي

جامعة دمشق

إشراف:

أ.د. ليلى حفار

أستاذ في التشريح المرضي

جامعة دمشق

إعداد الباحث:

د. زين ابراهيم الابراهيم

٢٠٢٥

قرار لجنة الحكم وتوقيعات لجنة المناقشة Approval

تصريح

الاسم الثلاثي: زين ابراهيم الابراهيم

مكان وتاريخ الولادة: بانياس ١ ١٩٩٦

عنوان البحث باللغة العربية:

دراسة دقة وحساسية الرسابة الخلوية المستخلصة من سائل الجنب في تشخيص خباثات
الجنب ومقارنتها مع نتائج الدراسة الخلوية للسائل

لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم اقتباسه بالكامل من عمل علمي آخر أنجز للحصول
على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أية جامعة أخرى أو معهد تعليمي داخل أو خارج
القطر.

أتعهد بأنني لم أقل إلا الحقيقة ولم أخف شيئاً تحت طائلة المحاسبة وعليه أوقع.

توقيع الباحث:

زين الابراهيم

قائمة المحتويات:

Contents

٦	قائمة الجداول:
٧	قائمة الأشكال:
٩	قائمة المخططات البيانية:
١٠	قائمة الاختصارات:
١١	الملخص
١٢	المقدمة INTRODUCTION
١٣	الدراسات المرجعية:
١٤	أهمية البحث:
١٤	الهدف من البحث:
١٤	مبررات البحث:
١٤	محدوديات البحث:
١٥	١. الخلايا المتوسطة (MESOTHELIAL CELLS)
١٥	١.١ الخصائص الشكلية (MORPHOLOGY):
١٦	١.٢ الكيمياء المناعية النسيجية (IMMUNOHISTOCHEMISTRY)
١٧	٢. جمع العينات وتحضيرها والمصطلحات الخاصة بالتقرير (SPECIMEN COLLECTION, PREPARATION, AND REPORTING TERMINOLOGY)
٢٠	٣. الانصبابات الخبيثة
٢١	كشف الخلايا الخبيثة في سوائل الانصباب
٢٣	٤. الأورام الأولية (البدئية)
٢٣	٤.١ الميزوثيليوما الخبيثة المنتشرة MALIGNANT MESOTHELIOMA
٢٨	٤.٢ لمفوما الانصباب البدئية PRIMARY EFFUSION LYMPHOMA
٣٠	التشخيص التفريقي للمفوما الانصباب البدئية (PEL):
٣١	٥. الأورام الانتقالية (الثانوية)
٣١	٥.١ الكارسينوما الغدية ADENOCARCINOMA
٣٣	التمييز بين السرطانة الغدية الانتقالية والخلايا المتوسطة الارتكاسية:
٣٥	٥.٢ السرطان شائك الخلايا (SQUAMOUS CELL CARCINOMA)

٣٦	السرطان صغير الخلايا (SMALL CELL CARCINOMA)	٥.٣
٣٧	الميلانوما (MELANOMA)	٥.٤
٣٨	لمفوما لا هودجكن NON-HODGKIN LYMPHOMA	٥.٥
٤١	السااركوما SARCOMA	٥.٦
٤٢	أورام الخلية المنتشرة GERM CELLS TUMORS	٥.٧
٤٤	أهمية الرسابة الخلوية IMPORTANCE OF CELL BLOCK	6.
٤٦	الدراسة العملية	
٤٦	المواد و الطرائق MATERIALS AND METHODS	
٤٧	النتائج RESULTS:	
٥٦	مقارنة نتائج دراستنا بالدراسات السابقة:	
٥٧	أمثلة عن بعض الحالات المدروسة	
٥٧	الحالة الأولى:	
٥٨	الحالة الثانية:	
٥٩	الحالة الثالثة:	
٦٠	الحالة الرابعة:	
٦١	الحالة الخامسة:	
٦٣	الحالة السادسة:	
٦٨	المناقشة DISCUSSION	
٧١	الاستنتاجات CONCLUSION:	
٧٢	التوصيات و المقترحات RECOMMENDATIONS AND SUGGESTIONS:	
٧٣	ABSTRACT	
٧٥	المراجع REFERENCES	

قائمة الجداول:

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
جدول رقم (١)	أشيع السرطانات المسببة للانصبابات الخبيثة حسب الموقع والجنس	٢٠
جدول رقم (٢)	الواسمات الكيميائية الخاصة والمناعية النسيجية للسرطانة الغدية الانتقالية والميزوتيليوما	٣٤
جدول رقم (٣)	مخطط التلوينات المناعية النسيجية الموصى بها بناءً على التشخيص التفريقي	٣٥
جدول رقم (٤)	أعمار المرضى المشاركين في الدراسة	٤٧
جدول رقم (٥)	توزع جنس المرضى المشاركين في الدراسة	٤٨
جدول رقم (٦)	توزع المرضى حسب العلاقة بالتدخين	٤٩
جدول رقم (٧)	نتائج الدراسة الخلوية CS فقط	٥٠
جدول رقم (٨)	نتائج الرسابة الخلوية CB فقط	٥٠
جدول رقم (٩)	نتائج دراسة اللطاخة الخلوية CS مع الرسابة CB معاً	٥١
جدول رقم (١٠)	نتائج العينات المشكوك بخبائثها بعد تطبيق التلوينات المناعية	٥٢
جدول رقم (١١)	الأورام المشخصة بعد تطبيق التلوينات المناعية	٥٣
جدول رقم (١٢)	نسبة الحساسية حسب نوع العينة المدروسة	٥٥
جدول رقم (١٣)	مقارنة نتائج دراستنا بالدراسات العالمية	٥٦

قائمة الأشكال:

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
٢٢	فجوات في الرسالة الخلوية	شكل رقم (١)
٢٤	الميزوثيليوما الخبيثة (سائل جنب)	شكل رقم (٢)
٢٥	الميزوثيليوما الخبيثة (النمط المتفرع)	شكل رقم (٣)
٢٦	الميزوثيليوما الخبيثة	شكل رقم (٤)
٢٧	الميزوثيليوما الخبيثة (سائل جنب)	شكل رقم (٥)
٢٧	الميزوثيليوما الخبيثة (سائل جنب)	شكل رقم (٦)
٢٨	الميزوثيليوما الخبيثة-تغايرات غير مألوفة	شكل رقم (٧)
٣٨	لمفوما الانصباب الأولية	شكل رقم (٨)
٣٦	لمفوما بائية كبيرة الخلايا المنتشرة	شكل رقم (٩)
٤٠	لمفوما الخلايا الأرومية	شكل رقم (١٠)
٥٧	خلايا خبيثة تتماشى مع Adenocarcinoma -سائل جنب	شكل رقم (١١)
٥٧	رسابة خلوية تبدي خلايا تتماشى مع Adenocarcinoma	شكل رقم (١٢)
٥٨	كارسينوما غدية - سائل جنب	شكل رقم (١٣)
٥٨	كارسينوما غدية - رسابة خلوية	شكل رقم (١٤)
٥٩	نقائل من الثدي - سائل جنب	شكل رقم (١٥)
٥٩	نقائل من الثدي - رسابة خلوية	شكل رقم (١٦)
٦٠	تلوين مناعي ER إيجابي - رسابة خلوية	شكل رقم (١٧)
٦٠	سائل جنب سلبي الخلايا الشاذة	شكل رقم (١٨)
٦١	رسابة خلوية إيجابية الخلايا الشاذة	شكل رقم (١٩)
٦١	سائل جنب سلبي الخلايا الخبيثة	شكل رقم (٢٠)
٦٢	رسابة خلوية إيجابية الخلايا الخبيثة	شكل رقم (٢١)
٦٣	سائل جنب يبدي ارتشاح بخلايا لمفاوية	شكل رقم (٢٢)
٦٤	رسابة خلوية تبدي ارتشاح بخلايا لمفاوية	شكل رقم (٢٣)
٦٥	إيجابية تلوين CD20	شكل رقم (٢٤)

٦٥	إيجابية CD3 لبعض الخلايا التائية	شكل رقم (٢٥)
٦٦	إيجابية CD10	شكل رقم (٢٦)
٦٧	إيجابية Ki67	شكل رقم (٢٧)

قائمة المخططات البيانية:

الصفحة	عنوان المخطط	رقم المخطط
٤٨	أعمار المرضى المشاركين في الدراسة	مخطط رقم (١)
٤٨	جنس المرضى المشاركين في الدراسة	مخطط رقم (٢)
٤٩	نسبة المرضى المدخنين	مخطط رقم (٣)
٥٠	نسبة إيجابية وسلبية عينات سائل الجنب CS	مخطط رقم (٤)
٥١	نسبة إيجابية عينات الرسابة الخلوية C	مخطط رقم (٥)
٥٢	نسبة إيجابية العينات عند دراسة السائل والرسابة معا	مخطط رقم (٦)
٥٣	نسبة العينات الإيجابية بعد تطبيق التلوينات المناعية	مخطط رقم (٧)
٥٤	الأورام المشخصة بعد تطبيق المناعيات على ١٥ حالة مشتبهة	مخطط رقم (٨)
٥٤	نتيجة العينات الإجمالية ونسبة كل ورم	مخطط رقم (٩)

قائمة الاختصارات:

الاختصار	المعنى
CS	Cytologic smears
CB	Cell Block
MM	Malignant Mesothelioma
PEL	Primary Effusion Lymphoma
SCC	Squamous Cell Carcinoma
CCC	Clear Cell Carcinoma
SLL	Small Lymphocytic Lymphoma
MPE	Malignant Pleural Effusion
H&E	Hematoxylin and Eosin
CEA	Carcino Embryonic Antigen
PAS-D	Periodic Acid-Schiff and Diastase
TTF-1	Thyroid Transcription Factor -1
WT-1	Wilms Tumor 1 protein

الملخص

الهدف: يهدف البحث إلى مقارنة دقة وحساسية انصباب سائل الجنب والرسابة الخلوية في كشف الخباثات البدئية والثانوية.

المواد والطرائق: تم دراسة ٤٥ عينة من عينات المرضى المراجعين لمستشفى المواساة والوطني الجامعيين في دمشق في الفترة الممتدة بين ٢٠٢٤ و ٢٠٢٥.

النتائج: شملت الدراسة ٤٥ مريضاً بمتوسط أعمار ٥٨ سنة. أظهرت نتائج الفحص الخلوي للسائل وحده إيجابية في ١٨ حالة (٤٠٪)، بينما أعطت دراسة الرسابة الخلوية نتائج إيجابية في ٢٣ حالة (٥١.١٪). وعند دمج الطريقتين معاً ارتفعت الحساسية إلى ٣١ حالة (٦٨.٩٪). كما أدى إدخال التلوينات المناعية مع دراسة السائل والرسابة إلى رفع نسبة التشخيص إلى ٤٥ حالة من أصل ٥٠ (٩٠٪)، وهو ما يتوافق مع معظم الدراسات العالمية التي أثبتت تفوق الجمع بين CS و CB و IHC على كل طريقة بمفردها.

الاستنتاجات: خلصت الدراسة إلى أن الاعتماد على الرسابة الخلوية إلى جانب الدراسة الخلوية التقليدية يرفع بشكل ملحوظ المردود التشخيصي ويؤمن تفاصيل خلوية وبنوية أوضح تساعد في التمييز بين الخلايا الارتكاسية والخبيثة، فضلاً عن تحديد المصدر الأولي للأورام الانتقالية. كما يتيح استخدام CB تطبيق التلوينات المناعية النسيجية والفحوص الجزيئية، مما يزيد من دقة التشخيص ويغني في كثير من الحالات عن اللجوء إلى إجراءات غازية مثل الخزعة. وبناءً على ذلك يُوصى باعتماد الفحص المزدوج (CS + CB) كإجراء روتيني في دراسة سوائل الانصباب الجنبية، مع الاستفادة من IHC عند الحاجة لرفع حساسية التشخيص والوصول إلى نتيجة نهائية موثوقة.

المقدمة Introduction

تُبطّن الأجواف الجنبية، والتامورية، والبريتوانية بطبقة واحدة من الخلايا المبطنة المسطحة تُسمى الخلايا المتوسطة (Mesothelial cells)، ويُطلق على هذه البطانة اسم المصلية (Serosa).¹

في الوضع الطبيعي تكون هذه الأجواف منطبقة على بعضها تقريباً، وتحتوي على كمية قليلة جداً من السائل (نحو ٥٠ مل في كل جوف جنبي عند البالغين) تكفي لتليين الأسطح المتقابلة، مما يسهّل انزلاقها على بعضها البعض أثناء التنفس، أو النبض، أو الحركات الحوية للأمعاء.¹

في الحالات المرضية قد يتجمع مقدار زائد من السوائل يُسمى الانصباب (Effusion). ويُصنّف الانصباب سريراً إلى نوعين: الانصباب الرشي (Transudative effusion) والانصباب النضحي/الإفرازي (Exudative effusion). ينشأ الانصباب الرشي من اختلال التوازن بين الضغوط الهيدروستاتية والضغوطات الغروية. وأكثر أسبابه شيوعاً: قصور القلب الاحتقاني، تليف الكبد، والمتلازمة النفروية. أما الانصباب النضحي فينجم عن أذية في طبقة الخلايا المتوسطة كما يحدث في حالات: ذات الرئة (Pneumonia)، الأورام الخبيثة، الذئبة الحمامية الجهازية، ذات الجنب الروماتويدية، احتشاء الرئة، أو الرضوض.^{1,2}

ويمتاز الانصباب النضحي عن الانصباب الرشي بارتفاع تركيز اللاكتات ديهيدروجيناز (LDH) وتركيز البروتين الكلي (وفقاً لمعايير Light).¹ وتكمن أهمية هذا التفريق في أنّ إصابة الجنب بورم خبيث تؤدي إلى انصباب نضحي (إفرازي)، بينما لا تكون هناك حاجة إلى الفحص الخلوي (Cytology) في حال الانصباب الرشي.²

وتُعد الأورام الخبيثة من الأسباب الشائعة للانصبابات النضحية، لأن الأسطح المصلية تُشكّل موقعاً شائعاً للنقائل في العديد من الأورام، فضلاً عن كونها الموقع الأصلي لورم الخلايا المتوسطة الخبيث (Malignant mesothelioma) المرتبط بالتعرض للأسبستوس.²

يُعدّ غشاء الجنب (Pleura) غشاءً متصلاً يغلف جدار الصدر والرئتين. يغطّي الجنب الحشوي (Visceral pleura) كامل السطح الرئوي بما في ذلك الشقوق الكبرى والصغرى التي تفصل الرئة إلى فصوص.

أما الجنب الجداري (Parietal pleura) فيمتد ليغطي الأضلاع، وعظم القص، والبنى الداعمة، وينعكس ليغطي البنى المنصفية في الجهتين اليمنى واليسرى. في المنصف الخلفي تفصل بين طبقتي الجنب الجداري حزمة رقيقة من النسيج الضام الليفي الوعائي. أما في الأعلى، فإن الجنب العنقي (Cervical pleura) ينعكس إلى المنطقة خلف الترقوة فوق قمة الرئة، ويغطي بطبقة متمسكة من النسيج الليفي والعضلات الهيكلية. وفي الأسفل يمثل الجنب الحجابي الحاجزي (Diaphragmatic pleura) الامتداد الذي يصل إلى القاع. وأمامًا، ينعكس الغشاء ليغطي جزءًا من التامور.^{1,2}

يتصل الجنب الحشوي الخلفي مع الجنب الحاجزي عند مستوى الرباط الرئوي (Pulmonary ligament). أما القلب والأوعية الكبرى فتقع ضمن التامور (Pericardium)، وهو مُبطّن بطبقة متصلة من الخلايا المتوسطة. يشكل السطح الحشوي (Epicardial layer) الغلاف الملتصق بعضلة القلب (Myocardium). بينما يتركز السطح الجداري (Parietal pericardium) على طبقة ليفية كثيفة تحتوي على فروع من الشرايين الثديية الباطنة (Internal mammary arteries) والشرايين الحجابية العضلية (Musculophrenic arteries)، إضافةً إلى الأبهر النازل، وفروع العصب المبهم (Vagus nerve)، والعصب الحجابي (Phrenic nerve)، والأعصاب الودية (Sympathetic nerves). ويُغطّى السطح الصدري للتامور بطبقة من الجنب الجداري.^{1,2}

الدراسات المرجعية:

- قام Theerada Assawasaksakul وزملاؤه بدراسة مقطعية لـ ٣٥٣ مريض لديهم انصباب جنب، من بينهم ٢٧٨ مريض كان لديهم الانصباب خبيث، وتم إجراء الدراسة الخلوية والرسابة ومقارنة النتائج مع التشخيص النهائي.
- قامت Saimaa Batool وزملاؤها بدراسة مقطعية لـ ١٥٠ مريض لديهم انصباب جنب، حيث تم تحضير رسابات خلوية لجميع المرضى وأجريت التلوينات المناعية اللازمة.

- دراسة أخرى أجراها Shion Miyoshi وزملاؤه لـ ٥٣ مريض لديهم انصباب جنب خبيث، حيث تم تحضير رسابات خلوية لكافة المرضى وإجراء خزعة عبر تنظير الجنب الصلب-المرن من المكان المشتبه بخبائته.

أهمية البحث:

- التأكيد على أهمية إجراء الرسابة الخلوية إلى جانب الدراسة الخلوية، ودقتها في تشخيص خباثات الجنب البدئية والانتقالية.

الهدف من البحث:

- دراسة دقة وحساسية ونوعية الرسابة الخلوية ومقارنتها مع الدراسة الخلوية لسائل الجنب.

مبررات البحث:

- نتيجة انتشار خباثات الجنب (لاسيما الانتقالية) ووصولها لمراحل متقدمة تسيء لإنذار المريض، ودور التشخيص الباكر لخباثات الجنب في تدبير المريض وتحديد خطة علاجه.

محدوديات البحث:

- عدم توفر جميع التلوينات المناعية لتحديد المصدر البدئي لجميع الأورام.
- عدم إمكانية إجراء الدراسات الجينية والجزيئية لتحديد الطفرات.

١. الخلايا المتوسطة (Mesothelial Cells)

١.١. الخصائص الشكلية (Morphology):

في المقاطع النسيجية العرضية، تبدو الخلايا المتوسطة الطبيعية رقيقة وصعبة التمييز.³ لكن في التحضيرات الخلوية (Cytologic preparations) مثل غسالات البريتوان المأخوذة أثناء فتح البطن (Laparotomy)، قد تُشاهد صفائح من الخلايا المتوسطة السليمة. عند رؤيتها بهذا الشكل، تكون لها الخصائص التالية:

- هيولى وفيرة وصافية.
- حدود خلوية واضحة وحادة.
- نوى صغيرة، مركزية التوضع، ذات نمط كروماتين متجانس.
- عادةً بدون نوية (Nucleolus).

في سياق العديد من الحالات الارتكاسية، تمر الخلايا المتوسطة بتغيرات تكاثرية وفرط تنسج (Hyperplastic changes) ملحوظة. ويُلاحظ حينها:

- بقاء الهيولى وفيرة نسبيًا.
- تصبح الحدود الخلوية أقل وضوحًا.
- تكبر النوى بشكل مطلق ونسبي.
- يصبح الكروماتين مفرط التصبغ (Hyperchromatic).
- تظهر النويات بشكل متكرر وتكون بارزة.

ومع تقدم التغيرات الفرط تنسجية في الخلايا المتوسطة الارتكاسية، تصبح التجمعات الخلوية أصغر حجمًا مع سيطرة الخلايا المفردة. وعند تكتلها، تُظهر هذه الخلايا حدودًا خارجية غير منتظمة. قد تكبر النواة بشكل ملحوظ، وخاصة النوية، ولكن النوى تبقى متشابهة في الحجم والشكل والنمط من خلية إلى أخرى. كما يمكن رؤية أشكال

انقسامية طبيعية (Normal mitotic figures). أما الهويلى فقد تصبح متعددة الفجوات (Multivacuolated) مع بداية تنكس الخلايا وامتصاصها للسوائل.³

١.٢. الكيمياء المناعية النسيجية (Immunohistochemistry)

أظهرت الدراسات المناعية النسيجية للأغشية المصلية أن الخلايا المتوسطة تُظهر نمطًا ظاهريًا معقدًا ومتعددًا، مع تداخل في التعبير الجزيئي مع أنسجة طبيعية أخرى وكذلك مع العديد من الأورام الخبيثة.³

الغالبية العظمى من تنشؤات الخلايا المتوسطة الحميدة تعبر عن عدة أنواع من الكيراتين (Keratins)، خصوصًا: CK19, CK5/6, CK7, (Cam.2), AE1/AE3, CK8/18، والتي يمكن كشفها باستخدام أضداد وحيدة النسيلة فعالة ضد الكيراتين الصغير، الحامضي، من النمط الأول.³ في المقابل، لا تُعبر الخلايا المتوسطة عن CK20.⁴ كذلك، فإن الخلايا المتوسطة الحميدة والخبيثة على حد سواء تعبر بشكل متكرر ومفضل عن: Calretinin, Podoplanin, WT-1, HBME-1, Thrombomodulin.

ويلاحظ أيضًا أن Vimentin و Desmin يتم التعبير عنهما في الخلايا المتوسطة الارتكاسية، خاصةً عندما تكون بشكل مغزلي (Spindle form).

- Calretinin: يُعبر عنه في النواة والهويلى لكل من الخلايا المتوسطة الارتكاسية والورمية، وهو مفيد جدًا في التعرف على التمايز المتوسطي (Mesothelial differentiation). إلا أنه قد يُعبر عنه أيضًا في بعض السرطانات الغدية (Adenocarcinomas).⁵⁻⁸

- Cytokeratin 5/6: يعبر عنه في هويلى معظم الخلايا المتوسطة وسرطانات الخلايا الشائكة (Squamous cell carcinomas)، لكنه نادر في السرطانات الغدية.⁹

- WT-1: يعبر عنه في نواة الخلايا المتوسطة الارتكاسية والورمية، وكذلك في البطانة السطحية للمبيض والأورام المشتقة منها.¹⁰

• D2-40: وهو مستند عُرف أولاً بارتباطه ببطانة الأوعية اللمفاوية، ويُعبر عنه أيضًا بقوة في الخلايا

المتوسطة، لكنه يُميز كذلك سرطان المبيض المصلي (Ovarian serous carcinoma).¹¹

٢. جمع العينات وتحضيرها والمصطلحات الخاصة بالتقرير (Specimen) (Collection, Preparation, and Reporting Terminology)

تُجمع العينات عن طريق إدخال إبرة إلى الحيز الجنبى (Thoracentesis). وعند استخدام التصوير بالأشعة فوق

الصوتية (Ultrasonography) لتوجيه عملية البزل، تزداد نسبة النجاح في الحصول على العينة.¹²

يُرسل السائل إلى المختبر دون تثبيت (Unfixed). ولمنع التخثر - الذي يؤدي إلى تفرق الخلايا بشكل واسع مما

يعيق تقييمها - يمكن جمع السائل في عبوات مهيأة بالهيبارين، تحتوي على ٣ إلى ٥ وحدة دولية من الهيبارين

لكل مل من السعة.¹²⁻¹³ وإذا لم تتوفر هذه العبوات، يمكن إضافة الهيبارين مباشرة إلى القارورة قبل جمع السائل،

إذ إن ملاصقة السائل لسطح الزجاج تؤدي إلى تخثر سريع.¹⁴

يجب حفظ السائل مبردًا عند الدرجة ٤م حتى وقت تحضير الشرائح. وتُعد عينات الانصباب شديدة المقاومة للتلف،

حيث يمكن تبريدها لمدة تصل إلى أسبوعين أو أكثر من دون أن تتأثر البنية الخلوية أو الخصائص المستضدية

اللازمة للتلوينات المناعية (Immunostains).¹⁵

تتوفر عدة طرق لتحضير الشرائح. يبدأ التحضير برجّ العبوة جيدًا لتوزيع الخلايا بالتساوي، ثم تُدار عينة

بكمية ٥٠ مل (أو كامل العينة إذا كانت أقل من ٥٠ مل) في جهاز الطرد المركزي. يُطرح الجزء الفوقي

(Supernatant) ويُستخدم الراسب لتحضير: لطاخات (Smears)، تحضيرات بالطرد المركزي الخلوي

(Cytocentrifuge preparations)، أو تحضيرات طبقة رقيقة (Thin-layer / Liquid-based)

(preparations) مثل ThinPrep و SurePath.¹⁵⁻¹⁶

عادةً ما تُثَبَّت الشرائح بالكحول وتُلوَّن بتلوين Papanicolaou. إذا كان هناك اشتباه بورم دموي (Hematologic malignancy)، فإن التحضيرات المجففة بالهواء باستخدام الطرد المركزي الخلوي (Air-dried cytocentrifuge preparations) تكون مفيدة؛ حيث يُلوَّن شريحة واحدة بتلوين من نوع رومانوسكي Romanowsky، ويُحتفظ بالباقي إذا دعت الحاجة لإجراء دراسات مناعية خلوية (Immunocytochemical studies) لتحديد مستضدات سطح اللمفاويات.¹⁷

تُعدّ ما يُسمّى بـ "الرسابة الخلوية (Cell Blocks)" مفيدة بشكل خاص كملحق للتحضيرات الخلوية المذكورة أعلاه. لتحضير الرسابة الخلوية، يُلف الراسب بورق ترشيح، ويوضع في كاسيت، ويُغمر في البارافين، ثم يُقطع ويُلوَّن مثل المقاطع النسيجية التقليدية.¹⁷

قبل وضع الراسب في الكاسيت، من المفيد تخثيره. أحد الطرق الشائعة لذلك هو إضافة بضع قطرات من البلازما وعدة قطرات من محلول الترومبين¹⁸⁻²⁰، لكن هناك طرق أخرى متاحة، بما في ذلك نظام آلي يُسمّى Cellient (شركة Hologic Inc., Marlborough, MA).²⁰⁻²⁴

إنّ تخثير العينة باستخدام قطرات من البلازما والترومبين لا يؤدي إلى تفرق الخلايا التشخيصية كما يحدث في الخرثرة المتكونة تلقائيًا، بل يعمل على تجميد الراسب في كتلة متماسكة. وإذا لم يُضف الهيبارين إلى السائل وظهرت خثرات، يجب إزالتها ووضعها في كاسيتات لمعالجتها كعينة للرسابة الخلوية.²⁴

استخدام أكثر من طريقة تحضير للعينة في حالات الانصباب يزيد من حساسية الكشف عن الأورام الخبيثة.²⁵ أحد التركيبات التحضيرية الشائعة هو استخدام شريحة رقيقة (Thin-layer slide) واحدة مع رسابة خلوية (Cell Block). تُعدّ مقاطع الرسابة الخلوية مفيدة بشكل خاص في التلوينات الخاصة (Special stains) والتلوين المناعي النسيجي (Immunohistochemistry)، نظرًا لسهولة تحضير عدة شرائح مكررة، وقلة تلوين الخلفية المعيق، وإمكانية توحيد التحضير للشرائح الضابطة (Control slides).²⁶ تُعدّ الرسابة الخلوية (Cell Blocks) مفيدة أيضًا لإجراء مقارنات مورفولوجية دقيقة مع المقاطع النسيجية (Histopathologic sections)، مثل

الحالات التي يكون فيها المريض قد خضع سابقاً لخزعة ثدي، وذلك لأنها تُثَبَّت وتُلَوَّن بطريقة مماثلة تماماً للمقاطع النسيجية.²⁶

في بعض المختبرات، يُحضَّر أولاً مسحة رطبة غير مثبتة (Unfixed wet smear) وتُلَوَّن بصبغة التولويدين الأزرق (Toluidine Blue) لتحديد السوائل التي تحتوي على عدد كبير من الخلايا الخبيثة. ومن المفيد فصل هذه العينات عن دورة التلوين الروتينية لتجنّب التلوّث المتبادل (Cross-contamination).²⁷

يُحفظ السائل المتبقي في الثلاجة تحسباً لاحتياج الشرائح الإضافية. وقد يكون السائل الطازج مفيداً أحياناً لإجراء دراسات أخرى مثل تحليل التدفق الخلوي (Flow cytometry)²⁷⁻²⁹، أو التحليل الجيني الجزيئي (molecular genetic analysis)³⁰⁻³².

تُستخدم عادةً التصنيفات العامة مثل "سلبية الخلايا الخبيثة" (Negative for malignant cells) و"إيجابية الخلايا الخبيثة" (Positive for malignant cells) للإبلاغ عن النتائج، لأنها تعطي النتيجة بشكل موجز وواضح.³³ أما النتائج غير الحاسمة، أي عندما تكون الخلايا غير الطبيعية سيئة الحفظ أو قليلة العدد بحيث لا يمكن التأكيد على وجود خباثة، غالباً ما تُبلّغ بصيغ مثل: "وجود خلايا شاذة" (Atypical cells present) للدلالة على درجة منخفضة من الاشتباه، أو "مشبوهة للخباثة" (Suspicious for malignancy) للدلالة على درجة عالية من الاشتباه.³³

تحدث التشخيصات المشبوهة في حوالي ٥٪ من العينات³⁴⁻³⁵. في هذه الحالة، إذا كان المريض مصاباً بخباثة تشمل الغشاء المصلي، فمن المحتمل أن يتراكم السائل مرة أخرى، وقد تكون العينات اللاحقة تشخيصية للخباثة. ولم تُحدّد بعد معايير كفاية عينة الانصباب (Criteria for adequacy of an effusion specimen).³⁵

٣. الانصبابات الخبيثة

تميل بعض الأورام أكثر من غيرها إلى الانتشار نحو الجنب. وأكثرها شيوعاً مبيّن في الجدول (١). أمّا عند الأطفال، فإنّ السبب الأكثر شيوعاً للانصباب الجنبى أو البريتوانى الخبيث هو لمفوما لا هودجكن (Non-Hodgkin lymphoma).³⁶

جدول ١: أشيع السرطانات المسببة للانصبابات الخبيثة حسب الموقع و الجنس

الموقع	الذكور	الإناث
الجنب	الرئة	الثدي
	لمفوما الوكيميا	الرئة
	السبيل الهضمي	لمفوما الوكيميا
	السااركوما	المبيض
	الميزوثيليوما	السبيل الهضمي
	السبيل البولي والتناسلي (كلية، بروسات، مثانة)	بطانة الرحم
	الميلانوما	السااركوما
		الميزوثيليوما

معظم المرضى المصابين بانصباب خبيث يكون لديهم ورم أولي موثق سابقاً. غير أنّه في بعض الحالات قد يكون الانصباب الخبيث هو التظاهر الأول لخباثة كامنة. ويُعدّ سرطان الرئة أكثر الأورام الأولية الكامنة شيوعاً لدى الرجال والنساء الذين يراجعون بانصباب جنبى خبيث.³⁶

إن وجود خلايا خبيثة في سائل الجنب أو التامور أو البريتوان يشير إلى إنذار سيّء؛ إذ إن البقيا المتوسطة للمرضى الذين لديهم انصباب جنبى أو بريتوانى إيجابى تقلّ عن ستة أشهر.^{1,37} وتتميّز بعض الأورام ببقيا متوسطة أطول قليلاً، مثل سرطانات الثدي الإيجابية لمستقبلات الإستروجين، والميزوثيليوما، واللمفومات، والسرطانات الغدية

المخاطبة المتميزة جيداً في الزائدة الدودية، بينما تكون البقيا أقصر في حالات سرطانات الرئة والجهاز الهضمي.¹
كما قد تتحسن البقيا عند بعض المرضى عند استخدام العلاج الجزيئي الهدي للورم.³⁸

وبما أنَّ معظم الانصبابات الجنبية الخبيثة تتكرر، مما يسبب صعوبة في التنفس، فإن الهدف العلاجي يتمثل في تحسين نوعية الحياة عبر تقليل ضيق النفس. وغالباً ما يُجرى إدخال أنبوب صدري أو إحداث التصاق جنبي (Pleurodesis) عبر حقن تلك أو الدوكسيسيكليين أو البليوميسين في الجوف الجنبي، وذلك كإجراء تلطيفي.^{1,39}

أما لدى المرضى المصابين بانصباب جنبي متكرر، فيمكن وضع قنطار جنبي دائم ذي نفق (مثل **PleurX**؛ من شركة Becton, Dickinson and Company، فرانكلين ليكس، نيوجيرسي) في العيادة الخارجية، مما يتيح لهم تصريف السائل الجنبي ذاتياً من دون الحاجة إلى بزل متكرر.^{1,40}

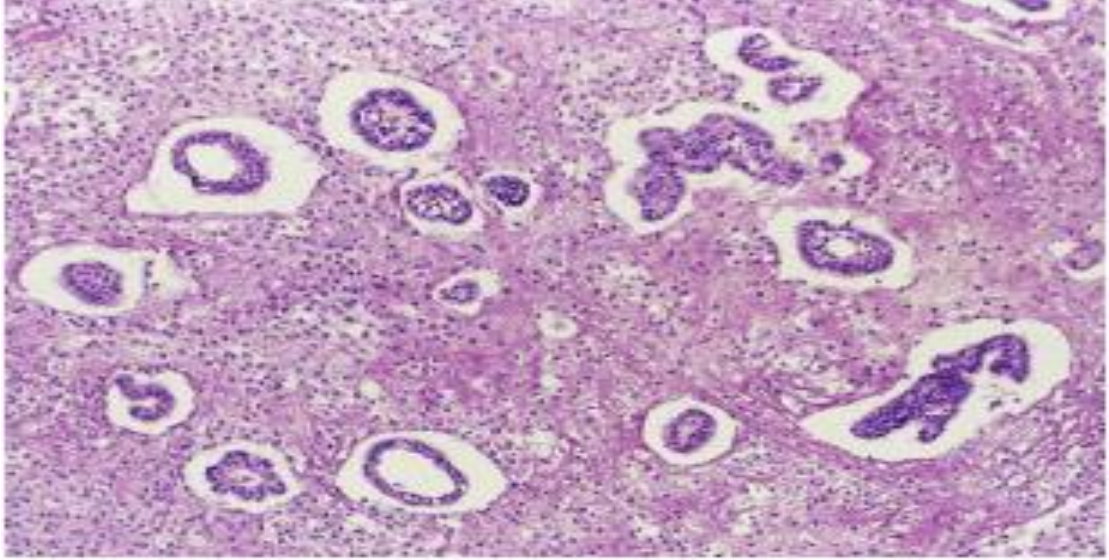
وفي حالة الانصباب البريتوني الخبيث المتكرر، قد يتألف العلاج التلطيفي من بزل متكرر، أو معالجة كيميائية داخل البريتون، أو وضع قنطار تصريف أو تحويلة بريتوانية وريدية (غالباً إلى الوريد الأجوف العلوي).^{37,39} ومن المثير للدهشة أنه لا يوجد دليل على أن انتشار الخلايا الورمية عبر التحويلة البريتوانية الوريدية يقلل من البقيا.³⁹ وبشكل عام، تفشل المعالجة الكيميائية الجهازية في التخفيف من معظم حالات الانصباب الخبيث المتكرر، مع بعض الاستثناءات اللافتة، مثل الانصبابات الناجمة عن اللمفوما وسرطان الرئة صغير الخلايا.³⁹

كشف الخلايا الخبيثة في سائل الانصباب

من الوسائل الجيدة للتعرف على الخلايا الخبيثة في سائل الانصباب البدء بتحديد بعض الخلايا المتوسطة mesothelial السليمة، واعتمادها كمرجع، ثم البحث عن مجموعة خلوية ثنائية (مع استثناء الخلايا اللمفاوية أو الناسجة histiocytes بالطبع) تختلف عنها بوضوح.¹⁰ ولا يشترط أن تكون الخلايا الخبيثة أكبر حجماً من الخلايا المتوسطة؛ فقد تكون مساوية لها أو أصغر حجماً، لكن يُمكن تمييزها من خلال زيادة نسبة النوى إلى الهيولى N/C، أو فرط التصبغ النووي، أو وجود نويات ضخمة.¹⁰

توجد استثناءات لهذه القاعدة، وأبرزها الميزوثيليوما، حيث قد يصعب أحياناً التمييز الدقيق بين الخلايا المتوسطة السليمة وتلك الورمية.¹¹

من الناحية الطبيعية، نادراً جداً ما تُشكّل الخلايا المتوسطة تجمعات كبيرة تحتوي على أكثر من ١٢ خلية. أما في الانصبابات التي تظهر فيها تجمعات خلوية كبيرة وعديدة، فإن ذلك يُعدّ دليلاً واضحاً على وجود خباثة.^{10,11} ويجب توخّي الحذر لعدم الخلط بين التجمعات الرخوة للخلايا، والتي تُعتبر غالباً من الشوائب الشائعة في تحضيرات الطرد المركزي الخلوي أو التحضيرات المعتمدة على السوائل. فالتجمعات الخبيثة عادةً ما تكون متماسكة بإحكام.¹¹ وفي مقاطع الرسابة الخلوية (Cell Block)، كثيراً ما تُشاهد الخلايا الخبيثة متموضعة داخل فجوات (lacunae) (انظر الشكل ١). وتُشاهد هذه المساحات الصافية المحيطة بالخلايا المفردة أو المجموعات الخلوية في نحو ٧٥٪ من الرسابات الخلوية لانصبابات خبيثة، معظمها سرطانات غدية، إلا أن هذه العلامة غير نوعية تماماً، إذ يمكن رؤيتها أيضاً في ثلث الانصبابات السليمة.⁴¹ وتُعدّ الفجوات مفيدة في تحديد الخلايا محتملة الشذوذ تحت التكبير المنخفض، غير أنّ التشخيص النهائي يتطلب الفحص بتكبير عالٍ.⁴¹



الشكل ١: الفجوات في الرسابة الخلوية (سائل جنبي). في مقاطع الرسابة الخلوية، غالباً ما تتموضع الخلايا الخبيثة داخل فراغ (فجوة-lacuna)، ويُعد سبب هذا المظهر الصناعي (Artifact) غير معروف. يُشاهد هذا غالباً في السرطانات الغدية، ونادراً في اللمفوما والميلانوما (ملوّنة بالهيماتوكسيلين والإيوزين).

٤. الأورام الأولية (البديئية)

الأورام الأولية للأسطح المصلية نادرة الحدوث، وتُفوقها بكثير الأورام الثانوية الانتقالية من مواقع أخرى. ومن بين الأورام الخبيثة الأولية المصلية التي تُؤخذ بعين الاعتبار هنا: الميزوثيليوما ولمفوما الانصباب الأولية.⁴²

٤.١. الميزوثيليوما الخبيثة المنتشرة Malignant Mesothelioma

يشكل ورم الخلايا المتوسطة الخبيث المنتشر (ويُشار إليه اختصاراً بالميزوثيليوما) أقل من ٢٪ من الانصبابات الخبيثة. وهي مرتبطة بشدة في معظم الحالات بالتعرض للأسبستوس، وتنشأ غالباً في الجنب.⁴²

تنمو الخلايا المتوسطة الخبيثة على شكل لوحيات متعددة تندمج لتشكل عقيدات أكبر تُرى شعاعياً على هيئة ثخانة في الجنب. ومن الناحية النسيجية، تُصنّف هذه الأورام إلى أنماط:

▪ شبه الظهاري (epithelioid)

▪ شبه المغزلي (sarcomatoid)

▪ مُتَلَيّف (desmoplastic)

▪ ثنائي الطور (Biphasic)

ويظهر النمط الظهاري بعدة أنماط نسيجية؛ الأكثر شيوعاً منها النمط الصلب (solid)، الأنبوبي الحليمي

(tubulopapillary)، والترابيقي (ذو الحواجز) (trabecular).⁴³ أما الأنماط الأقل شيوعاً فتشمل: النمط الصغير

الحليمي (micropapillary)، الشبيه بالغدي دقيق الكيسات (microcystic adenomatoid)، الخلايا الرائقة

(Clear cell)، الانتقالي (Transitional)، المشيمي (deciduoid)، الشبيه بلمفوما الخلايا الناسجة

(lymphohistiocytoid) حيث يبرز ارتشاح لمفاوي شديد، ونمط صغير الخلايا (small cell). وغالباً ما تُشاهد

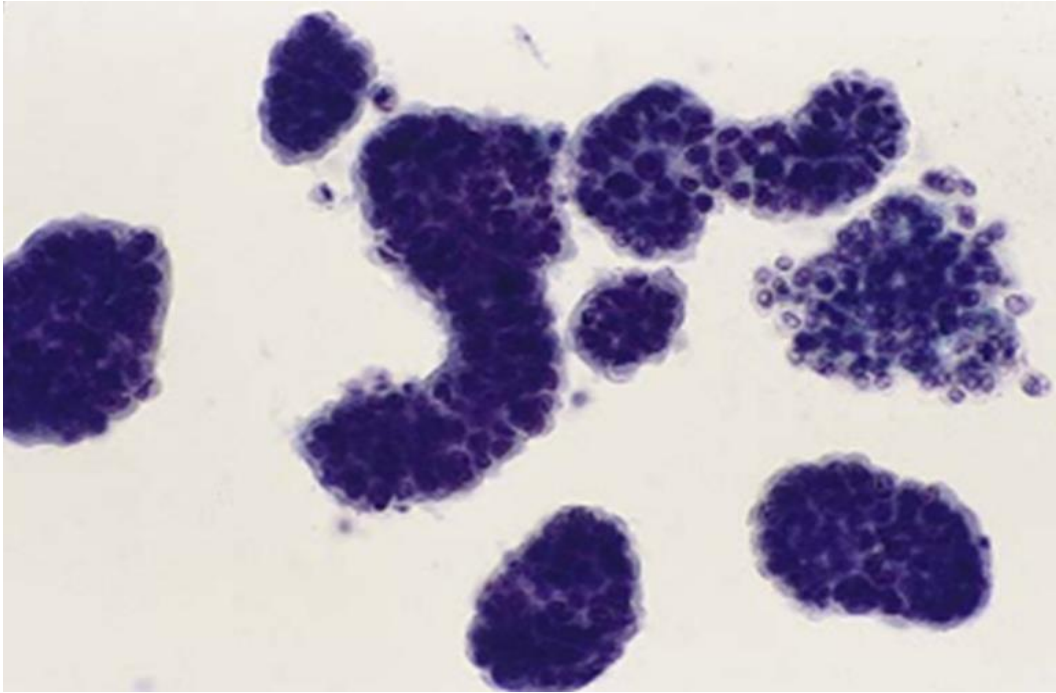
أنماط مختلطة. والواقع أن معظم حالات الميزوثيليوما أورام متميزة جيداً، وتبدو أثناء دراستها خلويّاً (cytological)

حميدة بشكل خادع.^{42,43}

مثلها مثل الخلايا المتوسطة السليمة، تُظهر خلايا الميزوثيليوما تفاعلاً مناعياً إيجابياً تجاه السيتوكيراتينات، و الكالريتينين، و بروتين ورم ويلمز (WT1) ، و D2-40.⁴²

وعلى الرغم من أنها أكثر شيوعاً بعد عمر ٦٠ عاماً، فإن الميزوثيليوما قد تظهر ضمن مجال عمري واسع، ولو نادراً، حتى عند الأطفال.⁴³ وتتمثل الأعراض الأولية غالباً بألم صدري وضيق نفس. ويُعدّ تأكيد التشخيص غير سهل دائماً، إذ يبلغ متوسط الفترة الزمنية بين بداية الأعراض ووضع التشخيص نحو ٨ أسابيع.⁴⁴ وغالبية المرضى لديهم انصباب عند التشخيص، عادةً ما يكون وحيد الجانب. وعند الفحص العياني، يوصف الانصباب الإيجابي للميزوثيليوما غالباً بأنه ذو لون وقوام شبيه بالعلس.⁴⁴

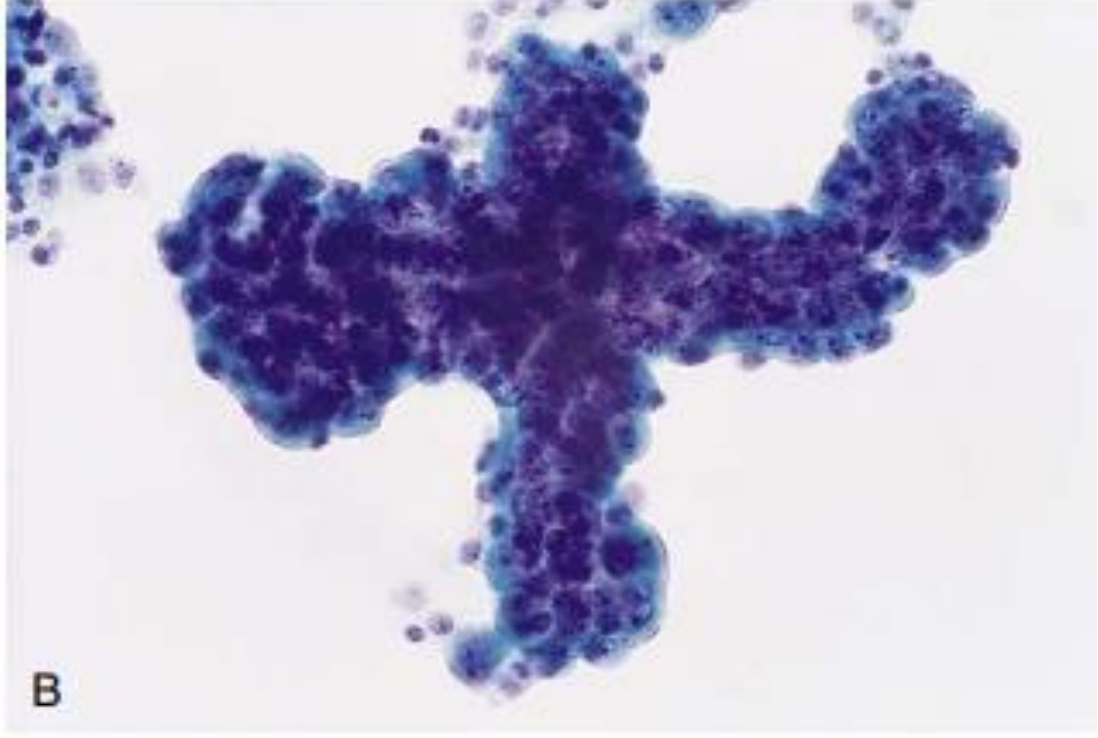
وعند جمع النتائج المشبوهة والإيجابية معاً، فإن حساسية الفحص الخلوي للانصباب في تشخيص الميزوثيليوما لا تتجاوز ٣٢٪.⁴⁴ ومن الجدير بالذكر أن الأنماط الظهارية وثنائية الطور (biphasic) هي الأكثر ميلاً لطرح خلايا خبيثة، بينما الأنماط الشبيهة بالساركوما والمتليّف نادراً ما تطرح خلايا. وعندما يحدث ذلك، يكون النمط الخلوي الأكثر تمييزاً هو وجود تجمعات كبيرة عديدة من الخلايا تُعرف بـ التويّات (morulae) انظر الشكل 2A.⁴⁴



الشكل ٢: الميزوثيليوما الخبيثة (سائل جنبي). كرات صلبة شبيهة بالتويّات (Morule-like spheres)، بعضها ممدود، تتألف من خلايا تُشبه الخلايا المتوسطة السليمة. إن وجود سائل يحوي العديد من التجمعات الخلوية الكبيرة يُعتبر دليلاً شبه مؤكّد على الخباثة (ملوّنة بطريقة بابانيكولا).

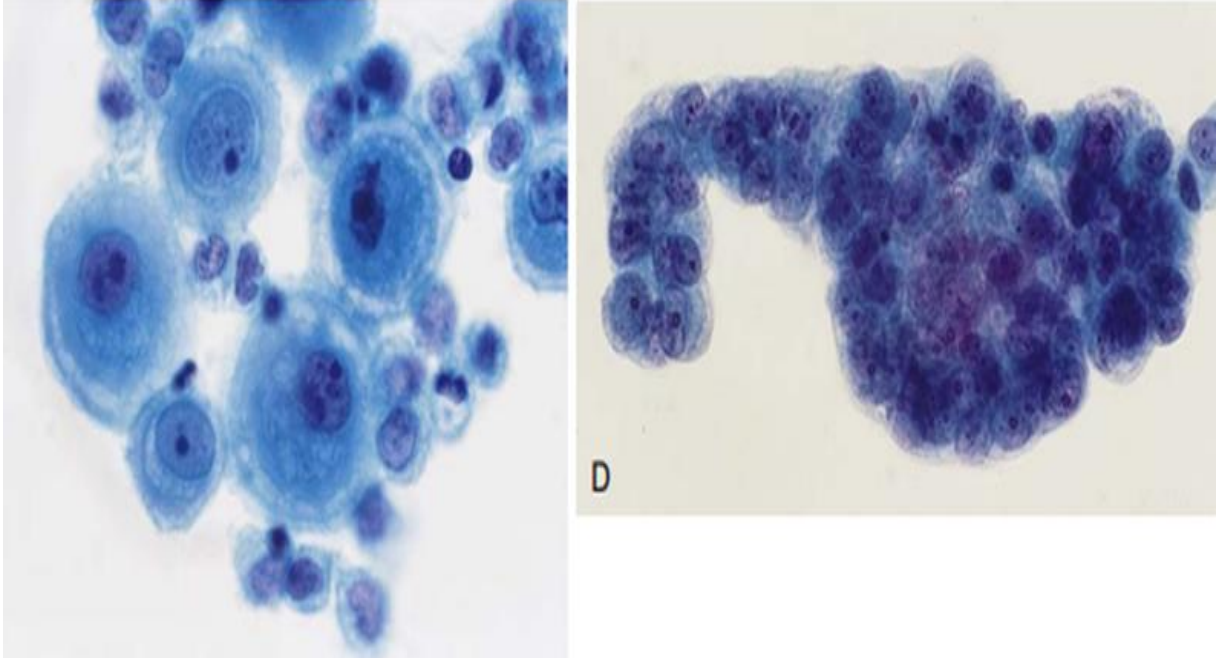
تتكوّن هذه التجمعات من عشرات - إن لم يكن مئات - الخلايا التي يمكن تمييز أصلها المتوسطي بوضوح، حيث تمتلك نواة مستديرة، ونوية بارزة، وهيولى كثيفة ذات حواف شاحبة. وتُظهر التويّات (Morulae) محيطاً عقيدياً متعرّج الحواف يشبه سطح التوت (mulberry clusters)، كما يُلاحظ في بعضها وجود تقرّعات. انظر الشكل

43,44.2B



الشكل ٣: الميزوثيليوما الخبيثة (النمط المتفرع). يمكن أن نرى النمط المتفرع في بعض الحالات. لاحظ الحواف المتعرجة العقيدية (تلوين بابانيكولا).

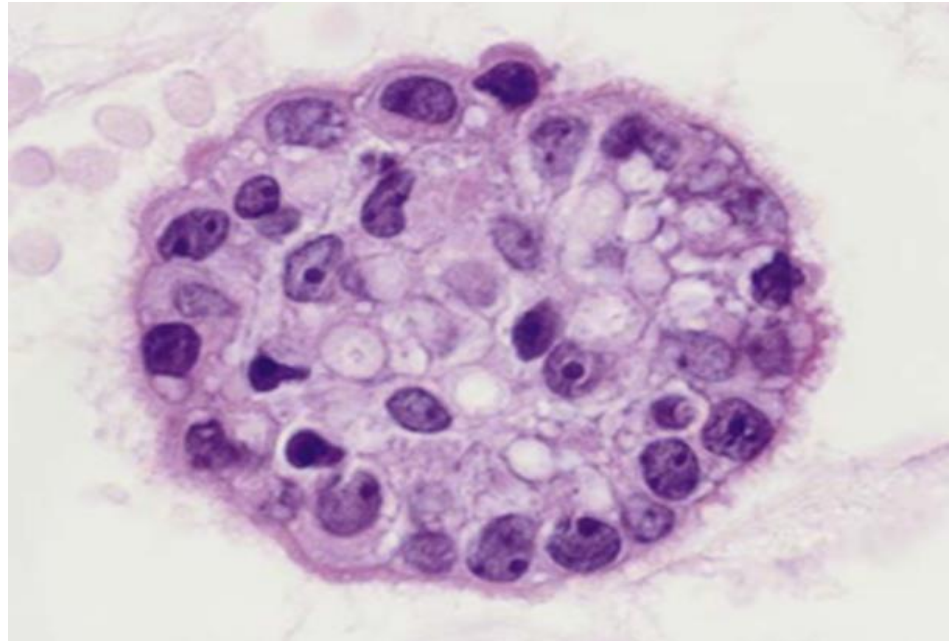
في معظم الحالات، تكون الخلايا المتوسطة الخبيثة أكبر من الخلايا السليمة، وأحياناً بشكل واضح. وتكون الهيولى وفيرة في أغلب الحالات، مما يجعل نسبة النوى إلى الهيولى تبدو طبيعية على نحو خادع (الشكل 2C)، إلا أنّ الهيولى قد تكون شحيحة في بعض الحالات الأخرى (الشكل 2D).⁴⁴

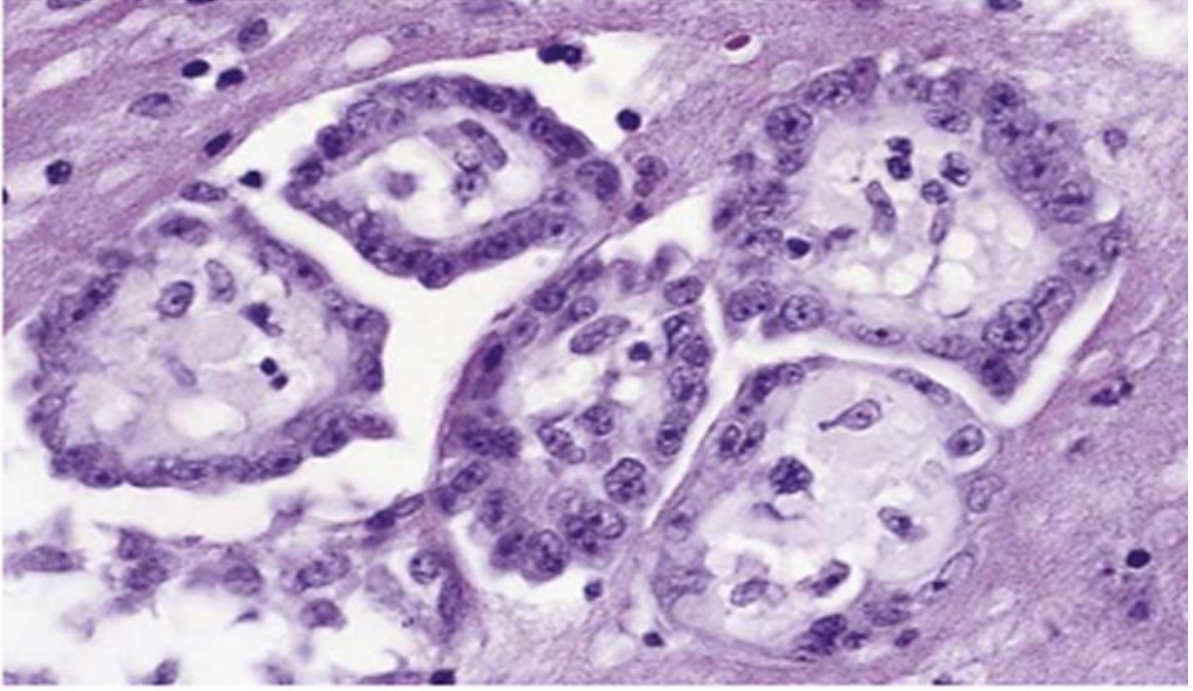


الشكل ٤: الميزوثيليوما الخبيثة. في العديد من حالات الميزوثيليوما، يُعاد تمثيل نسبة النوى إلى الهيولى المشاهدة في الخلايا المتوسطة السليمة (ملونة بطريقة بابانيكولا). **الشكل 2D:** في حالات أخرى، تكون نسبة النوى إلى الهيولى مرتفعة بشكل ملحوظ (ملونة بطريقة بابانيكولا).

يُمكن في بعض الأحيان تمييز الزغيبات المجهرية (الشكل ٣)، ويكون اللاتناظر النووي خفيفاً في معظم الحالات. وفي مقاطع الرسابة الخلوية، قد تظهر التجمعات إما على شكل كتلة صلبة من الخلايا (الشكل ٣) أو تحوي في مركزها نواة كولاجينية أو لباً من عديدات السكاريد المخاطية الحمضية (الشكل ٤).^{44,45}

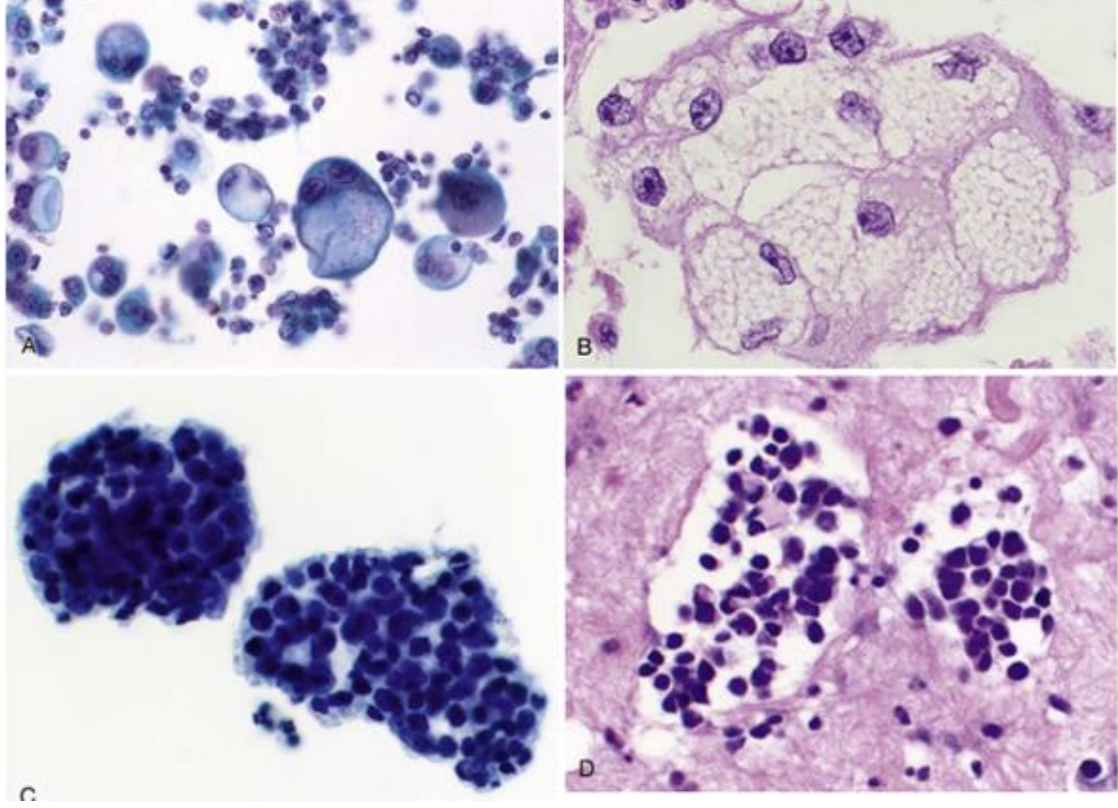
الشكل ٥: الميزوتليوما الخبيثة (سائل جنب). في بعض الحالات، يمكن أن تُرى الزغابات المجهرية الطويلة خلال الفحص الروتيني بالمجهر الضوئي (تلوين الهيماتوكسيلين والإيوزين).





الشكل ٦: الميزوثيليوما الخبيثة (سائل جنب). في بعض الحالات، تُظهر مقاطع الرسابة الخلوية تجمعات من الخلايا الخبيثة تحيط بلب كولايجيني (تلوين الهيماتوكسيلين والإيوزين).

ليس كل سوائل الميزوثيليوما تُظهر النمط المعروف بتجمعات "عناقيد التوت" (mulberry-cluster pattern). ففي نمط شائع آخر، لا تكون الخلايا الخبيثة متماسكة، بل تكون متفرقة كخلايا مفردة أكبر ببساطة من الخلايا المتوسطة السليمة (الشكل 2C).⁴⁵ وتشمل التغيرات غير المألوفة أوراماً تتكوّن من خلايا ذات هيولى رائقة وفيرة ذات فجوات (الشكل 5: A و B)، وأوراماً مؤلفة من خلايا صغيرة (الشكل 5: C و D)، إضافةً إلى أورام تترافق بارتشاح غزير بخلايا لمفاوية وخلايا ناسجة، وأخرى تترافق بأجسام رملية (Psammoma bodies).⁴⁵



الشكل ٧: الميزوثيليوما الخبيثة - تغيرات غير مألفة. (A,B) نادراً، قد تبدي الميزوثيليوما فجوات هيولية بارزة ("تمط الخلايا الرائقة"). (C,D) بعض أورام الميزوثيليوما تتكون من خلايا صغيرة، غير أن استخدام مصطلح " الميزوثيليوما صغيرة الخلايا" غير محبذ لتجنب الالتباس مع سرطان الرئة صغير الخلايا. (A و C تلوين بابانيكولا، B و D تلوين H&E).

٤.٢. لمفوما الانصباب البدئية Primary Effusion Lymphoma

تُعدّ لمفوما الانصباب الأولية (Primary Effusion Lymphoma – PEL) نوعاً نادراً من اللمفومات الخلوية البائية (B-cell lymphoma) المرتبطة بفيروس الهربس البشري ٨ (HHV-8)، وتظهر بشكل انصباب جنبي دون وجود كتلة ورمية.⁴⁶ تنشأ معظم الحالات في سياق عوز مناعي (مثل فيروس HIV أو بعد زراعة الأعضاء الصلبة)، إلا أنّ PEL قد تُشاهد أيضاً في غياب أي حالة عوز مناعي.⁴⁶

غالباً ما تقتقر الخلايا الخبيثة إلى الواسمات البائية العامة (CD19، CD20، CD79a)؛ بينما يُثبت الواسم البائي عادةً عبر الدراسات الجزيئية. ونادراً ما تُظهر بعض حالات PEL نمطاً مناعياً ظاهرياً للخلايا التائية.^{47,48} وجميع

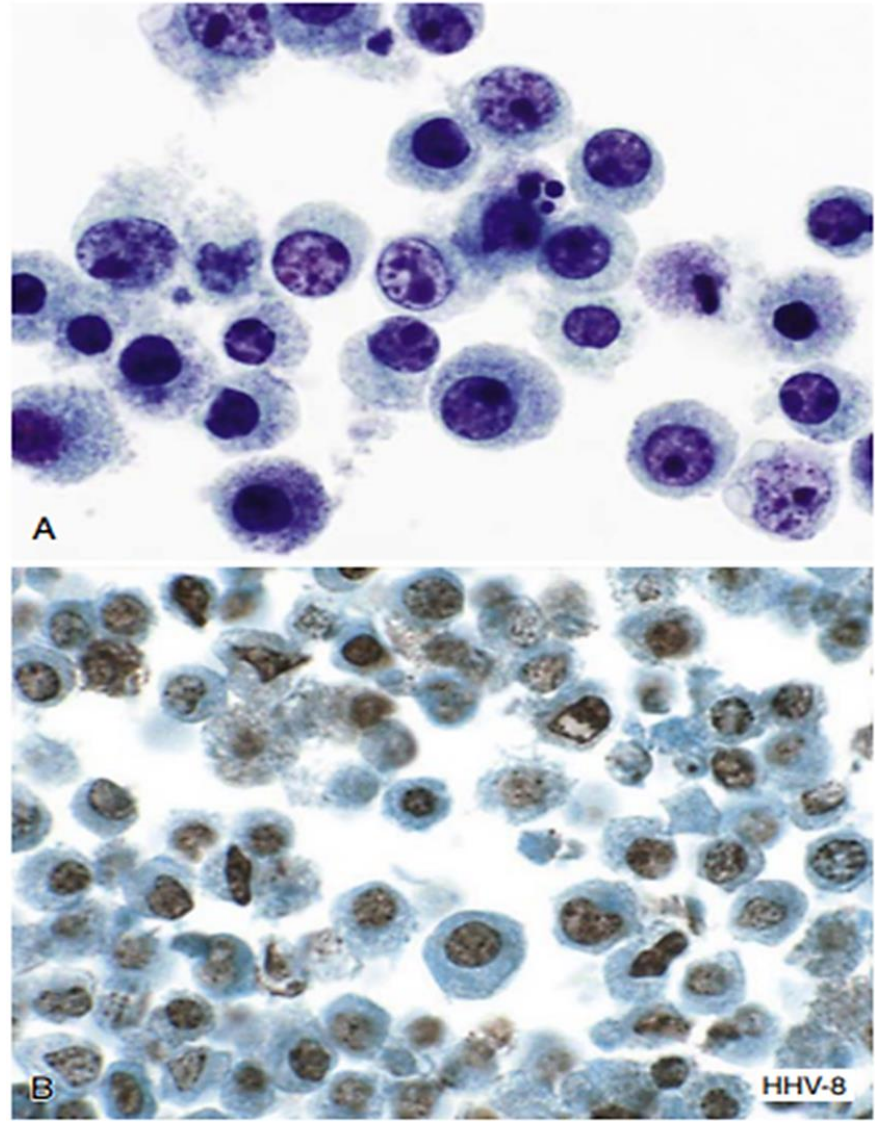
الحالات إيجابية لفيروس HHV-8، بل إن كشف هذا الفيروس يُعدّ خطوة أساسية لتأكيد تشخيص PEL.

بالتعريف، يُعتبر هذا الورم خباثة قائمة على السوائل فقط، من دون وجود آفة كتلية مرافقة أو ضخامة عقدية لمفاوية أو ضخامة عضوية.⁴⁹ الإنذار في هذه الحالات سيئ، إذ يبلغ متوسط البقاء أقل من ٦ أشهر.^{46,49}

الخلايا الورمية دائماً كبيرة الحجم، وتتنوع أشكالها المجهرية بين الشكل البلازماوي - الارتكاسي/المناعي (plasmablastic/immunoblastic) ذي النواة المستديرة والنوية البارزة، وبين الشكل الكشمي (anaplastic) ذي النواة الكبيرة غير المنتظمة متعددة الفصوص (الشكل 6A). وتكون الهيولى وفيرة، وقد تحتوي على منطقة شفافة حول النواة (perinuclear hof) أو فجوات. وتشاهد الانقسامات الخلوية وأجسام الموت الخلوي المبرمج (apoptotic bodies) بكثرة.⁴⁷

يكون تشخيص الخباثة واضحاً عادةً. ونظراً لكون الحالة السريرية غالباً في سياق عوز مناعي، ينبغي الاشتباه بوجود لمفوما، ويمكن تأكيد ذلك بالتلوينات المناعية. وغالباً ما تعبّر خلايا لمفوما الانصباب الأولية عن CD45 (مستضد الكريات البيض الشائع)، لكنها تكون سلبية للواسمات البائية CD19 و CD20. بينما تُظهر واسمات لمفاوية أخرى مثل واسم التنشيط CD30 وواسمات الخلايا البلازمية CD38 و CD138 إيجابية شائعة.^{46,49}

ويُعدّ إثبات وجود فيروس HHV-8 خطوة جوهرية للتشخيص (الشكل 6B).⁴⁸ وفي معظم الحالات، تكون الخلايا الورمية مصابة بشكل مترافق بفيروس إبشتاين-بار (EBV)، ويُثبت ذلك بشكل أفضل عبر التهجين الموضعي للـ RNA المُشفّر بالفيروس (EBER in-situ hybridization).⁴⁸



الشكل ٨: لمفوما الانصباب الأولية. (A) الخلايا الخبيثة كبيرة الحجم، ذات أغشية نووية سميكة، وكروماتين متوزع بشكل غير منتظم، ونويات بارزة. كما تُشاهد Apoptotic bodies (ملونة بطريقة بابانيكولا). (B) وجود فيروس الهربس البشري ٨ - (HHV-8) المُثبت هنا بواسطة التلوين المناعي النسيجي - يُعد شرطاً أساسياً لتشخيص لمفومات الانصباب الأولية.

التشخيص التفريقي للمفوما الانصباب البدئية (PEL):

١. لمفوما الخلايا البائية الكبيرة المنتشرة (Diffuse large B-cell lymphoma) - (غير PEL)

٢. اللmfوما المعتمدة على الانصباب سلبية HHV-8

٣. اللmfوما المرتبطة بالتهاب الجنب القيحي (Pyothorax-associated lymphoma)

٤. لمفوما الخلايا الكبيرة الكشمية (Anaplastic large cell lymphoma)

٥. الاضطرابات التكاثرية للمفاوية التالية للزرع (Posttransplant lymphoproliferative disorder)

٦. الكارسينوما (Carcinoma)

٧. الميلانوما (Melanoma)

٥. الأورام الانتقالية (الثانوية)

٥.١. الكارسينوما الغدية Adenocarcinoma

تُعدّ السرطانات الانتقالية إلى حدّ بعيد أكثر الخباثات شيوعاً في الانصبابات. ومن بينها، تُعتبر السرطانات الغدية (Adenocarcinomas) أكثر شيوعاً من السرطانات شائكة الخلايا (Squamous Cell Carcinomas) والسرطانات صغيرة الخلايا (Small Cell Carcinoma). ويظهر سرطان الرئة ميلاً خاصاً للانتشار إلى الأسطح الجنبية، إذ إن ١٥٪ من مرضى سرطان الرئة يكون لديهم انصباب جنبي إيجابي عند التشخيص، بينما يُطوّر ٥٠٪ منهم انصباباً جنبياً خبيثاً خلال سير المرض.⁵⁰

في معظم الحالات، يمكن التعرف بسهولة على الخلايا السرطانية لأنها متميّزة شكلياً عن الخلايا المتوسطة بشكل أو بآخر، وهذا هو المفتاح لتشخيصها في التحضيرات الخلوية. وغالباً ما تكون خلايا السرطان الانتقالي - وإن لم يكن دائماً - أكبر حجماً، وأكثر تبايناً شكلياً (pleomorphic) ومفرطة أكثر في التصبغ النووي (hyperchromatic) من الخلايا المتوسطة. ومع ذلك، قد تكون أصغر حجماً وأكثر تجانساً من الخلايا المتوسطة المحيطة بها. وأكثر ما يميزها عن الخلايا المتوسطة السليمة هو ميلها لتشكيل تجمعات خلوية. غير أنّ بعض السرطانات تطرح خلاياها بشكل غير متماسك على هيئة خلايا مفردة. وفي مثل هذه الحالات، يُستفاد من حجم الخلية، وارتفاع نسبة النوى إلى الهيولى، وعدم انتظام محيط النواة، ووجود نويات بارزة، أو كروماتين خشن البنية للتمييز بينها وبين الخلايا المتوسطة.

تعطي السرطانات الغدية غالباً خلاياها على شكل كرات كبيرة، أو خلايا مفردة، أو كليهما. وكثيراً ما تُشاهد الفجوات الهيولية، لكنها ليست نوعية للسرطانات الغدية، إذ يمكن أن تُرى أيضاً في بعض حالات الميزوثيليوما وأورام أخرى. وتوجد بعض العلامات المورفولوجية التي قد تُشير إلى موقع الورم الأولي للسرطانة الغدية:

✓ كرات جوفاء غزيرة ("كرات المدفع" - cannonballs): نمط شائع في السرطانة الغدية الانتقالية من الثدي.

✓ خلايا خبيثة على شكل "فص الخاتم" (Signet ring cells): تُشير عادةً إلى سرطان المعدة، مع إمكانية أن يكون الثدي مصدراً أيضاً.

✓ سرطانات القولون والمستقيم: تتألف غالباً من خلايا متطاولة ذات نوى مفرطة التصبغ، مرتبة بشكل عُدي (acinar formations)، ويُعدّ التتخّر الخلوي الفردي علامة شائعة.

✓ الخلايا الكبيرة ذات النويات البارزة والهيولى الغزيرة المفرّعة بفجوات دقيقة (lacy, vacuolated cytoplasm): نمط نموذجي في السرطان رائق الخلايا (clear cell carcinomas) في الكلية والجهاز التناسلي الأنثوي.

✓ سرطانات البروستات الانتقالية: غالباً ما تُطرح على شكل خلايا منفردة أو مجموعات خلوية غير متماسكة، مع نويات بارزة. بعض الحالات عالية الدرجة قد تُشبه السرطان صغير الخلايا.⁵¹

✓ الأجسام الرملية (Psammoma bodies): تُصادف في الانصبابات الناتجة عن أورام مولر (Mullerian neoplasm)، السرطانات الحليمية للغدة الدرقية، السرطانات الغدية للرئة، والميزوثيليوما. كما أنها تُشاهد أيضاً في بعض الحالات الارتكاسية السليمة للميزوثيليوم، خصوصاً في البريتوان،⁵² وكذلك في التامور.⁵³ ولذلك، فإن وجودها بحد ذاته لا ينبغي اعتباره دليلاً قاطعاً على وجود الخباثة.

عندما تنتشر بعض السرطانات المخاطية، وخصوصاً تلك التي تنشأ في الزائدة الدودية، لتصيب الأسطح البريتوانية، فإنها تُحدث تراكمًا بطيئاً لكنه متواصل للمخاط خارج الخلايا، مما يؤدي في النهاية إلى تمدد جوف البريتوان. يكون سائل البريتوان عند هؤلاء المرضى هلامياً ويتألف بشكل رئيسي من المخاط، الذي يُصبغ بالأزرق-الأخضر أو

الأرجواني بصبغة بابانيكولا. وغالباً ما يكون هذا السائل قليل الخلايا ويحتوي بشكل رئيسي على بلاعم مفرغة تدعى "بالعات المخاط muciphages". أما الخلايا الورمية المنتشرة في البريتوان والمسؤولة عن إنتاج المخاط، فإنها غالباً ما تشكل جزءاً صغيراً جداً من محتوى العينة وقد لا تكون موجودة في الشرائح المفحوصة.⁵⁴ وعندما لا تُشاهد خلايا خبيثة مؤكدة (ويُشاهد فقط المخاط وبالعات المخاط)، لا يمكن إعطاء أكثر من تشخيص اشتباه بالخباثة (suspicious for malignancy).

التمييز بين السرطانة الغدية الانتقالية والخلايا المتوسطة الارتكاسية:

عادةً ما يكون التفريق سهلاً، إذ تُشاهد الخلايا الخبيثة في مقاطع الرسابة الخلوية CB على شكل تجمعات كبيرة أو ضمن فراغات/جوبات (lacunae) (انظر الشكل ٤.٩). ومع ذلك، قد لا يكون التعرف عليها سهلاً دائماً، حيث:

- قد لا يظهر "تجمع ثانٍ واضح" (مجموعة خلوية متميزة مورفولوجياً).
- قد تُشبه الخلايا الورمية الخلايا المتوسطة.
- قد يكون عدد الخلايا الورمية قليلاً أو تثبيتها سيء.

بالتالي في الحالات المشكوك بها:

- يمكن اللجوء إلى التلوينات الخاصة بالمخاط.
- أو إلى الفحوصات المناعية (IHC) حيث تكون الخلايا المتوسطة الارتكاسية: سلبية لواسمات السرطان، بينما إيجابية في السرطانات الغدية.

عادةً ما يكون مخططاً مناعياً من ٤-٥ واسمات كافياً في معظم الحالات، ويمكن اختياره بناءً على القصة السريرية (يمكن الرجوع إلى الجدول ٣ لهذا الغرض). وغالباً ما يتضمن بالإضافة إلى الواسمات السرطانية،

واسمين للخلايا المتوسطة مثل: Calretinin و WT-1.⁵⁶

جدول ٢: الواسمات الكيميائية الخاصة والمناعية النسيجية للسرطانة الغدية الانتقالية والميزوتيليوما
الواسمات الكيميائية الخاصة والمناعية النسيجية للسرطانة الغدية الانتقالية والميزوتيليوما

التلوين	السرطانة الغدية	الميزوتيليوما
PAS-D	+	-
Mucicarmine	+	-
Claudin-4	+	-
CEA	+	-
MOC-31	+	-
Ber-EP4	+	-
Leu M-1 (CD15)	+	-
B72.3	+	-
TTF-1	+ (نووي) ^a	-
Calretinin	-	+ (نووي و غشائي)
WT1	-	+ (نووي) ^b
D2-40	-	+ (غشائي) ^b

CEA: المستضد السرطاني الجنيني (Carcinoembryonic antigen)

PAS-D: حمض شيف الدوري مع الدياستاز (Periodic acid-Schiff and diastase)

TTF-1: عامل نسخ الغدة الدرقية-١ (Thyroid transcription factor-1)

WT1: بروتين ورم ويلمز ١ (Wilms tumor 1 protein)

a: إيجابي في السرطانات الغدية للرئة والدرق، وكذلك في السرطانات العصبية الصماوية صغيرة الخلايا.

b: إيجابي أيضاً في السرطانات المصلية للمبيض

جدول ٣: التلوينات المناعية النسيجية الموصى بها بناءً على التشخيص التفريقي

مخطط التلوينات المناعية النسيجية الموصى بها بناءً على التشخيص التفريقي

التشخيص التفريقي	المخطط
ميزوثيليوما الجنب بالمقارنة مع الكارسينوما الغدية للرئة	• واسمات الميزوثيليوما: calretinin, WT1, D2-40 • واسمات الكارسينوما: claudin-4, MOC-31, CEA, Ber-EP4, B72.3, TTF-1
الميزوثيليوما بالمقارنة مع السرطان شائك الخلايا (SCC)	• واسمات الميزوثيليوما: calretinin, WT1, D2-40 • واسمات السرطان الشائك: p40, MOC-31
الميزوثيليوما بالمقارنة مع سرطان رائق الخلايا (CCC)	• واسمات الميزوثيليوما: calretinin, WT1, D2-40 • واسمات سرطان الكلية: LeuM1 (CD15), RCC, PAX8

٥.٢. السرطان شائك الخلايا (Squamous Cell Carcinoma)

نادرًا ما تنتقل السرطانات شائكة الخلايا إلى الجنب. وفي الحالات التي يحدث فيها ذلك، تكون غالبًا ناجمة عن سرطانات الرئة أو الحنجرة أو الجهاز التناسلي الأنثوي.⁵⁷ ويكون الورم الأولي معروفًا في معظم الحالات تقريبًا قبل تطور الانصباب.

تُشاهد خلايا الورم شائك الخلايا إما في عناقيد كبيرة أو كخلايا مفردة. ويختلف المظهر الخلوي باختلاف درجة التقرن في الورم. عادةً ما تكون الهيولى كثيفة وأحياناً برتقالية اللون (orangeophilic). الخلايا ذات الشكل الشرغوفي (tadpole-shaped) أو المغزلية نادرة.

تكون النوى متضخمة، مفردة التصبغ وذات حبيبات خشنة؛ أما النويات فعادةً غير بارزة. يُشاهد التكثف النووي (pyknosis) والانحلال النووي (karyorrhexis) في بعض الحالات.

قد تكون هناك خلايا شائكة عديمة النوى (anucleated squames). أحياناً يُلاحظ فجوات في الهيولى (cytoplasmic vacuolization)، ولا يجب تفسيره كدليل على تمايز غدي.⁵⁸

يمكن أن تكون التلوينات المناعية والتي تتضمن p40, MOC-31 وواسمات الخلايا المتوسطة (calretinin و WT-1) مفيدةً لتمييز الورم شائك الخلايا عن الخلايا المتوسطة الارتكاسية والميزوثيليوما (انظر الجدول ٢).

٥.٣. السرطان صغير الخلايا (Small Cell Carcinoma)

على الرغم من ميل ورم الرئة صغير الخلايا لإعطاء النقائل بشكل واسع، فإنها تُسبب انصباباً جنبياً في أقل من ٣٪ من المرضى.⁵⁹

تظهر الخلايا مبعثرة كخلايا مفردة أو مرتبة في عناقيد وسلاسل. وهي صغيرة الحجم، بقطر يقارب ضعفين إلى ثلاثة أضعاف قطر الخلية اللمفاوية الصغيرة. الهيولى شحيجة. النوى داكنة وتتميز بكروماتين حبيبي ناعم، والنويات غير واضحة. الانحلال النووي شائع. عند تجمعها، تأخذ الخلايا شكلاً هلالياً وزوايا حادة أثناء التقافها حول بعضها البعض.

يشمل التشخيص التفريقي اللمفوما. وتمتاز خلايا السرطان صغير الخلايا بميلها لتشكل عناقيد. وعلى الرغم من أن نوى خلايا اللمفوما قد تكون غير منتظمة الشكل، إلا أنها نادراً ما تكون حادة الزوايا مثل خلايا السرطان صغير الخلايا. معظم سرطانات الرئة صغيرة الخلايا، بخلاف اللمفوما، تكون إيجابية مناعياً لـ TTF-1، ولكن النتيجة السلبية لا تستبعد التشخيص.

يشمل التشخيص التفريقي أيضًا خباثات صغيرة الخلايا أخرى مثل:

- السرطان صغير الخلايا للبروستات⁵¹

- ورم خلايا ميركل (Merkel cell carcinoma)

في معظم الحالات، ترشد القصة السريرية إلى التشخيص الصحيح. قد تكون التلوينات المناعية مفيدة عند الحاجة:

- السرطانات صغيرة الخلايا إيجابية لـ CK7 وسلبية لـ CK20

- على العكس من ذلك، ورم ميركل يكون إيجابيًا لـ CK20 وسلبياً لـ CK7

٥.٤. الميلانوما (Melanoma)

معظم الميلانومات الخبيثة تنشأ في الجلد، لكن يمكن أن تحدث أورام خارج جلدية مثل الميلانوما العينية. وفي حوالي ٥٪ من الحالات، يراجعون المرضى بنقائل دون وجود ورم أولي معروف أو مع قصة قديمة لآفة جلدية صباغية. ويزداد تعقيد التشخيص لأن الميلانوما قد تكون خفية في الانصبابات.

الخلايا الخبيثة قد تشبه الخلايا المتوسطة: غالبًا ما تكون خلايا مدورة مفردة ذات نويات بارزة. في بعض الحالات، تُظهر الخلايا صباغًا بنيًا ناعمًا في الهيولى، أو اندخالات كاذبة داخل النواة (intranuclear pseudo inclusions)، أو كلاهما. العناقيد الخلوية غير شائعة، والرسابة الخلوية CB نادرًا ما تُظهر فجوات محيطية (pericellular lacunae).

يصعب التمييز عن الخلايا المتوسطة الارتكاسية في الحالات التي لا تُظهر سوى تباين خفيف في أشكال النوى

وفُطرت التصبغ، ودون وجود صباغ هيولي⁶⁰.

تكون التلوينات المناعية مفيدة:

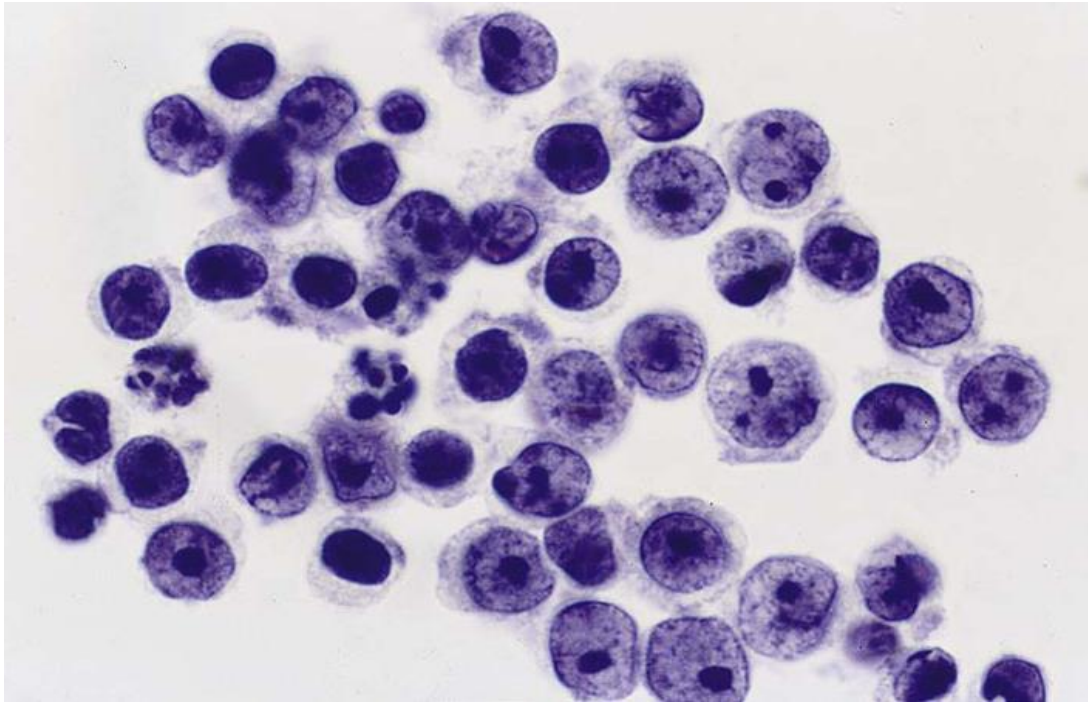
- الميلانوما إيجابية لـ S-100، HMB-45، SOX10 وغالبًا ما تكون سلبية لبروتينات الكيراتين.

على الرغم من أن ذلك ليس نوعيًا تمامًا، إلا أن الميلانوما تُظهر تلوّنًا هيوليًا بـ WT1⁶¹.

٥.٥. لمفوما لا هودجكن Non-Hodgkin Lymphoma

يُعَدُّ الانصباب الخبيث مسار المرض لدى العديد من المرضى المصابين بـ لمفوما لا هودجكن. في الواقع، يُعزى ١٠٪ إلى ١٥٪ من الانصبابات الخبيثة إلى اللفوما؛ وتكون النسبة أعلى بشكل ملحوظ عند الأطفال.⁶² معظم هذه الحالات تُمثّل انتقالاً ثانوياً للسطوح المصلية، في حين أن عدداً قليلاً منها فقط يُصنّف كلفوما انصبابية أولية. بعض الأنماط الفرعية تُظهر ميلاً أكبر لإصابة السطوح المصلية (مثل: اللفوما الأرومية - Lymphoblastic Lymphoma).

اللطاخات الخلوية تكون شديدة الخلوية وغالباً ما تتكون من خلايا لمفاوية متناثرة. لا تُشاهد الفراغات الفجوية (Lacunar Spaces) في مقاطع الرسابة الخلوية الخاصة باللفوما. في كثير من الحالات، تكون الخلايا المتوسطة غائبة بشكل لافت.



الشكل ٩: لمفوما بائية كبيرة الخلايا المنتشرة Diffuse Large B-Cell Lymphoma. تتميز خلايا اللفوما بوجود أنوية مستديرة مع نويات بارزة. لاحظ وجود تكثف نووي (Karyopyknosis) وانحلال نووي (Karyorrhexis)، وهي سمات مميزة لمعظم حالات اللفوما. (صبغة بابانيكولا)

تُعد خلايا اللمفوما البائية كبيرة الخلايا المنتشرة DLBCL الأسهل للتعرف عليها، لأنها تكون أكبر حجماً من الخلايا الناسجة (Histiocytes)، كما أن النويات فيها غالباً بارزة (الشكل ٧).

تكون النوى إما مستديرة أو شديدة التعرّج، ويكون الكروماتين خشناً في قوامه. غالباً ما تكون الهيولى وفيرة، شاحبة وذات فجوات.

في اللمفوما صغيرة الخلايا (Small Cell Lymphoma) تكون الخلايا أكبر بقليل فقط من الخلايا اللمفاوية الطبيعية. أما خلايا اللمفوما الجريبية (Follicular Lymphoma) فتمتاز بأنويتها غير المنتظمة وذات مهماز (Cleaved Nuclei) مع هيولى ضئيلة. في المقابل، اللمفوما الأرومية (Lymphoblastic Lymphoma) تتألف أيضاً من خلايا صغيرة نسبياً، ذات أنوية مستديرة أو غير منتظمة الشكل، مع كروماتين متناثر بدقة وكمية قليلة إلى متوسطة من الهيولى (الشكل ٨). أما لمفوما بوركيت واللمفوما شبيهة بوركيت (Burkitt and Burkitt-like Lymphoma) فهي أورام خبيثة عالية الدرجة، تتألف من خلايا لمفاوية متوسطة الحجم ذات أنوية مستديرة، نويات بارزة، وكروماتين خشن القوام، مع وجود عدد كبير من الانقسامات الخلوية (Mitoses).

نادراً ما تصيب لمفوما صغيرة الخلايا (Small Lymphocytic Lymphoma "SLL") الأجواف المصلية.

يُعد الانحلال النووي سمة واضحة في العديد من أنواع اللمفوما (الشكل ٧). ويُشاهد سواء عند المرضى المعالجين أو غير المعالجين، وهو من الموجودات غير الشائعة في الانصبابات السليمة أو في الانصبابات الخبيثة الناتجة عن أورام أخرى.

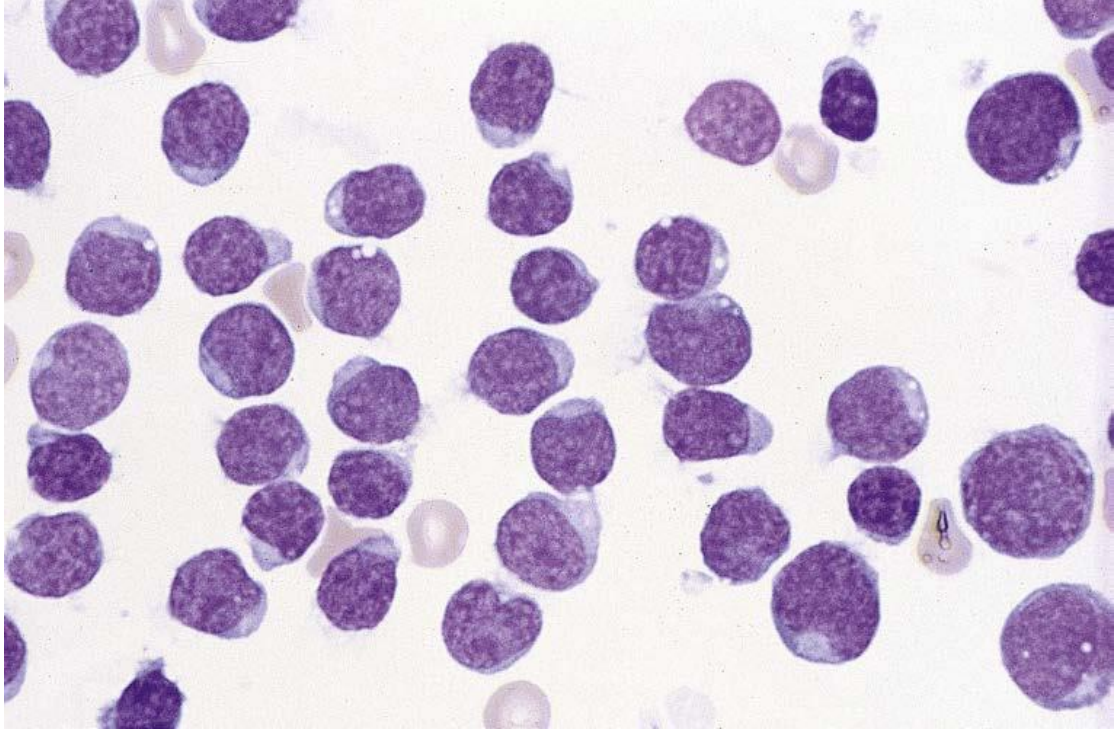
إن التصنيف الدقيق للمفومات اعتماداً على مظهرها المورفولوجي نادراً ما يكون ضرورياً في الانصبابات، وذلك لأن معظم المرضى يكون لديهم تشخيص مثبت بخزعة قبل تطور الانصباب. ومع ذلك، يمكن عادةً إجراء درجة معينة من التصنيف الفرعي اعتماداً على:

١. حجم الخلايا

٢. درجة عدم انتظام الغشاء النووي (مهمز cleaved أو غير مهمز noncleaved)

٣. وما إذا كانت الخلايا تشبه الخلايا اللمفاوية الأرومية أو خلايا بوركيت.

تُقدَّر هذه المظاهر بشكل خاص على التحضيرات الملونة بصبغة رومانوسكي والمجففة بالهواء (انظر الشكل ٨).



الشكل ١٠: لمفوما الخلايا الأرومية (Lymphoblastic Lymphoma). بما أن خلايا اللمفوما الأرومية أكبر قليلاً فقط من الخلايا اللمفاوية الطبيعية، فإنها قد تُشخَّص بسهولة بشكل خاطئ. ويتم تمييزها من خلال كروماتينها المتناثر بدقة، والذي يُقدر بشكل أوضح في التحضيرات المجففة بالهواء والمصبوغة بصبغة رومانوسكي (Romanowsky stain).

الانتقال الثانوي للمفوما لا هودجكن كبيرة الخلايا (مثل Diffuse large B-cell lymphoma – DLBL أو Anaplastic large cell lymphoma – ALCL) لا يمكن تمييزه شكلياً عن لمفوما الانصباب الأولية (PEL). غياب ورم أولي موثق أو أي كتلة ورمية أو ضخامات عقدية أو حشوية يجب أن يثير احتمال كون الحالة PEL، والذي يمكن تأكيده بوجود فيروس الهربس البشري HHV-8. أما في حال كان الانتشار الثانوي مكوّناً بشكل رئيسي من خلايا صغيرة (مثل اللمفوما الأرومية) فإن التشخيص التفريقي يشمل الانصباب اللمفاوي الحميد. ويجب التفكير بتشخيص السل إذا كانت هناك موجودات سريرية نموذجية وكان السائل يتألف بشكل أساسي من خلايا لمفاوية صغيرة ناضجة. أما في حال وجود لمفوما الخلية التائية (T-cell lymphoma) وهي أقل شيوعاً،

فيمكن إثبات نمط ظاهري تائي مع وجود علامات شاذة باستخدام المناعة الخلوية أو التدفق الخلوي flow cytometry، مما يؤكد التشخيص الخبيث.¹⁷

نادرًا ما تُشخص اللمفومات بالخطأ كأنواع أخرى من الأورام الخبيثة، لأن الأورام الأخرى تميل عادةً إلى تشكيل "تجمعات خلوية (cell clusters)" في السوائل المصلية. في بعض التحضيرات قد يُظهر تراكم خلايا اللمفوما مظهرًا مشابهًا لتلك التجمعات الخلوية، لكن غالبًا ما يكون هذا مجرد أثر مصطنع (Artifact) يمكن التعرف عليه. وعلى العكس، فإن بعض السرطانات (carcinomas) والأورام المتوسطة (mesotheliomas) والميلانومات (melanomas) قد تطرح خلاياها في السائل بنمط غير متماسك (noncohesive pattern) مما قد يجعلها تشبه خلايا اللمفوما كبيرة الخلايا (large-cell lymphoma).

في حال وجود أي شك حول الطبيعة اللمفاوية لانصباب خبيث، يمكن أن يكون استخدام التلوينات المناعية مفيدًا، مثل: CD45 _ البروتينات الكيراتينية (keratin proteins) _ Calretinin _ WT1 _ TTF-1 _ S-100 _ HMB-45 _

وبالمثل، يمكن استبعاد أورام الخلايا الزرقاء المدورة الصغيرة (small round blue-cell tumors) مثل الورم الأرومي العصبي (neuroblastoma) وساركوما إيوينغ (Ewing sarcoma) باستخدام التلوينات المناعية المناسبة.

٥.٦. الساركوما Sarcoma

يمكن نظريًا لأي ساركوما أن تنتقل إلى الأسطح المصلية، إلا أن حدوث ذلك أقل شيوعًا بكثير مقارنةً مع الأورام الأخرى. وعندما يحدث، فإنه غالبًا ما يكون في المراحل المتأخرة من سير المرض.

تُظهر الساركوما في الانصبابات المصلية طيفًا واسعًا من الأشكال المورفولوجية، وتشمل:

- الساركوما المغزلية الخلايا (spindle cell sarcomas): مثل الساركوما العضلية الملساء (leiomyosarcoma)، وساركوما الغشاء الزليل (synovial sarcoma)، والأورام الخبيثة لغمد العصب (malignant nerve sheath tumors).
- الساركوما الظهارية الشكل (epithelioid sarcomas): مثل الساركوما الوعائية الظهارية (epithelioid angiosarcoma).
- ساركوما الخلايا المدورة (round-cell sarcomas): مثل ساركوما إيوينغ (Ewing sarcoma)، والورم الأرومي العصبي (neuroblastoma)، والورم العضلي المخطَّط الجنيني (embryonal rhabdomyosarcoma).⁶³

ليس من المستغرب أن تكون الخصائص الخلوية الشكلية للساركوما في الانصبابات المصلية شديدة التباين، وذلك تبعاً لنوع الساركوما المعني. فقد تكون الخلايا متماسكة (cohesive) أو غير متماسكة (noncohesive)، كما قد تكون صغيرة أو كبيرة الحجم. على سبيل المثال، ساركوما الخلية المدورة مثل الورم العضلي المخطَّط الجنيني (embryonal rhabdomyosarcoma) تطرح خلاياها غالباً بشكل متناثر، مما يحاكي النمط المشاهد في لمفوما لا هودجكن (non-Hodgkin lymphoma). في مثل هذه الحالات الملتبسة، يكون الفحص بالتلوينات المناعية أداة مساعدة مهمة في الوصول إلى التشخيص الصحيح.

٥.٧. أورام الخلية المنتشة Germ Cells Tumors

مثل الساركوما، نادراً ما تؤدي أورام الخلايا المنتشة إلى حدوث انصبابات خبيثة، وعندما يحدث ذلك يكون عادةً في المراحل المتأخرة من مرض منتشر على نطاق واسع.

الورم المنوي (Seminoma) في الخصية ونظيرتها ورم الخلايا المنتشة (Dysgerminoma) في المبيض تتألف من خلايا غير متماسكة (noncohesive) وموحدة، تشبه إلى حد ما الخلايا المتوسطة المتضخمة. إلا أن هذه الخلايا تحتوي على هيولى أقل ونوى ذات نويات بارزة بشكل أوضح. يمكن تمييز الديسجرمينوما/السمينوما عن السرطان الجنيني (Embryonal carcinoma) بفضل نمط التلوين الغشائي المميز لـ CD117.

أما أورام الخلايا المنتشة غير المنوية (Non-seminomatous germ cell tumors)، والتي تشمل:

- السرطان الجنيني (Embryonal carcinoma)
- ورم الكيس المحي (Endodermal sinus / Yolk sac tumor)
- السرطان المشيمي (Choriocarcinoma)
- التيراتوما الخبيثة (Malignant teratoma)

فهي تتكوّن من خلايا كبيرة، متعددة الأشكال (pleomorphic)، ذات كروماتين باهت وحُبيبات دقيقة، ونوى بارزة غالبًا ما تكون متعددة.

من السهل عادةً تشخيص هذه الأورام على أنها خبيثة من الناحية الخلوية، لكن التصنيف الدقيق والتمييز بينها وبين الأورام الظهارية سيئة التمايز يتطلب الاعتماد على الواسمات المصلية (serologic markers) والفحوص المناعية الخلوية. السرطان الجنيني، ورم الكيس المحي، والسرطان المشيمي تكون إيجابية للكيراتين، لكن يمكن تمييزها عن الأورام الظهارية بفضل تفاعلها المناعي مع PLAP و SALL4. كما أن السرطان الجنيني، مثل الديسجرمينوما، يُظهر إيجابية مناعية لـ Oct-3/4 و NANOG. مع ذلك، فإن الحاجة إلى المناعة النسيجية نادرة، لأن هذه الأورام نادرًا ما تظهر أولًا في صورة انصباب خبيث.

نادرًا ما تصل أورام الحبل الجنسي السدوية (Sex cord-stromal tumors) إلى الأسطح المصلية مسببةً انصبابًا، وقد يحدث ذلك أحيانًا بعد سنوات طويلة من علاج الورم الأصلي. في هذه الحالات، يُعتبر استخدام التلوين المناعي Inhibin (وهو واسم لكثير من أورام sex cord-stromal) مع مقارنة عينة الانصباب بعينات الورم الأولي أمرًا بالغ الأهمية للوصول إلى التفسير الصحيح.

٦. أهمية الرسابة الخلوية Importance of cell block

في تشخيص الخباثة في السائل الجنبى، تُعد الـ Cell Blocks (الرسابة الخلوية) أمرًا بالغ الأهمية لأنها تحفظ البنية النسيجية، مما يتيح إجراء تحليل نسيجي مفصل وتحديد الأنماط الفرعية بواسطة التلوينات المناعية، وهو أمر أساسي لتوجيه القرارات العلاجية. فهي توفر دقة تشخيصية أعلى مقارنة بالمسحات الخلوية التقليدية وحدها، خاصة في الحالات التي يُشتبه فيها بالخباثة.⁶⁴

١- الحفاظ على البنية النسيجية:

على عكس اللطاخات الخلوية، تسمح الرسابات الخلوية بدراسة البنية النسيجية، مما يمكّن الأطباء من تحديد أنماط مثل الغدد، والحليمات، والعناقيد الخلوية، وهي مؤشرات على الخباثة.⁶⁵

٢- زيادة الدقة:

إن الحفاظ على البنية النسيجية يؤمن تشخيصًا أدق، خصوصًا في التفريق بين الحالات الخبيثة والحميدة.⁶⁶

٣- التصنيف الفرعي للأورام:

تتيح الرسابة الخلوية إجراء التلوينات المناعية النسيجية (IHC) والدراسات الجزيئية، وهي ضرورية لتحديد النوع الدقيق للسرطان وتوجيه العلاجات الهدافية.

٤- تقليل الحاجة للإجراءات الغازية:

في بعض الحالات، يمكن أن تُغني المعلومات المستخلصة من الرسابة الخلوية عن اللجوء إلى إجراءات غازية أكثر مثل تنظير الصدر أو الخزعات الموجهة بالتصوير.

٥- تحسين العائد التشخيصي:

أظهرت الدراسات أن CB، خاصة عند دمجها مع الدراسة الخلوية التقليدية CS، يمكن أن تزيد بشكل ملحوظ من العائد التشخيصي للخباثة في الانصبابات الجنبية.

٦- الفعالية من حيث التكلفة:

تُعد الرسابات الخلوية طريقة بسيطة وفعالة من حيث التكلفة مقارنة بالطرق التشخيصية الأخرى، مما يجعلها متاحة حتى في البيئات محدودة الموارد.

٧- الدور التكميلي:

غالبًا ما تُستخدم الرسابات الخلوية بالاقتران مع الدراسة الخلوية التقليدية لتوفير صورة تشخيصية أكثر شمولاً.

الدراسة العملية

المواد و الطرائق Materials and Methods

• تصميم الدراسة Study design: دراسة حشدية تقدمية

• عينة الدراسة Study group:

تضمنت دراستنا جميع المرضى المراجعين لمشفي المواساة والوطني الجامعيين في دمشق والتابعين لوزارة التعليم العالي، المجرى لهم بزل سائل جنب Thoracentesis، وذلك خلال الفترة الممتدة من ٢٠٢٤/١١/١ حتى ٢٠٢٥/١١/١ حيث حصلنا على ١٣١ عينة.

• شملت مراحل الدراسة ما يلي:

✓ جمع عينات سائل الجنب لمرضى مشكوك بإصابتهم بانصباب جنب ورمي Malignant pleural

effusion، لمدة عام من تاريخ ٢٠٢٤/١١/١ حتى ٢٠٢٥/١١/١.

✓ تم تحضير لطاخات خلوية مباشرة من السائل، وتلوينها باستخدام صبغات روتينية مثل Hematoxylin & Eosin.

✓ تم تثقيب ما تبقى من السائل بسرعة ٦٠٠٠ دورة بالدقيقة، لمدة ٥ دقائق، ثم أزيل الجزء العلوي من السائل وتم تبريد الجزء الصلب المتبقي. بعد ذلك تم تثبيت الجزء الصلب بالفورمول ثم بالبارفين ليتم في النهاية الحصول على مقاطع نسيجية من الرسابة الخلوية وتلوينها بـ H&E.

✓ تم دراسة كل من السائل والرسابة على حدى ثم دراستهما معا والمقارنة بينهما، وتطبيق التلوينات المناعية IHCs الضرورية في بعض الحالات المشتبهة (وجود خلايا تبدي شذوذ atypia لكن غير كافية لتأكيد المنشأ الورمي) وذلك لتأكيد أو نفي الخباثة.

✓ تصوير حالات الدراسة.

✓ الدراسة الإحصائية.

• **عملية تحليل البيانات Data Processing and Analysis:**

استخدمنا برنامج Excel 2007 من أجل التحاليل الإحصائية واختبار McNemar's test من أجل حساب قيمة P Value، وكذلك لإجراء المخططات التوضيحية وحساب عدد الحالات ونسبتها.

النتائج Results:

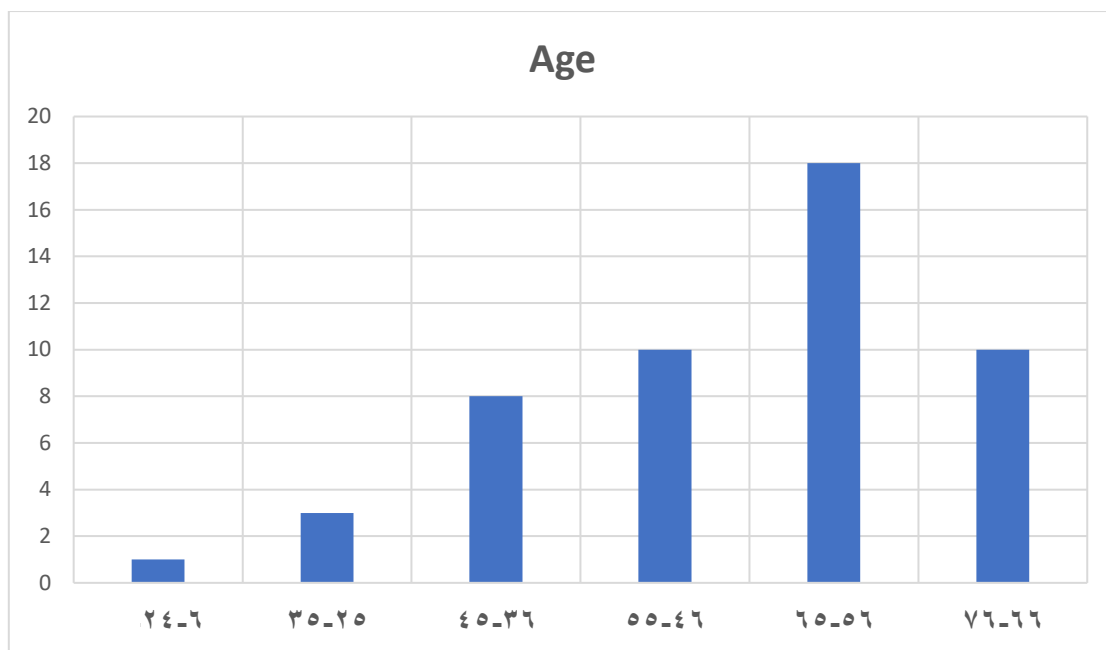
تم جمع ١٣١ عينة لسائل جنب من مريض مشكوك بإصابة ورمية.

بعد استبعاد العينات غير الكافية لإجراء الرسابة الخلوية أو للتشخيص وعينات المرضى المصابين بآفات سليمة (مثل السل، والتهاب الجنب التليفي..الخ)، تم جمع ٥٠ عينة.

✓ تراوحت أعمار المرضى المشاركين في الدراسة بين ٦ و ٧٦ سنة (متوسط الأعمار ٥٨ سنة)

جدول ٤: توزيع أعمار المرضى المشاركين في الدراسة

توزيع أعمار المرضى المشاركين في الدراسة	
عمر المريض عند التشخيص	عدد المرضى
٠ - ٢٤	١
٢٥ - ٣٥	٣
٣٦ - ٤٥	٨
٤٦ - ٥٥	١٠
٥٦ - ٦٥	١٨
٦٦ - ٧٦	١٠

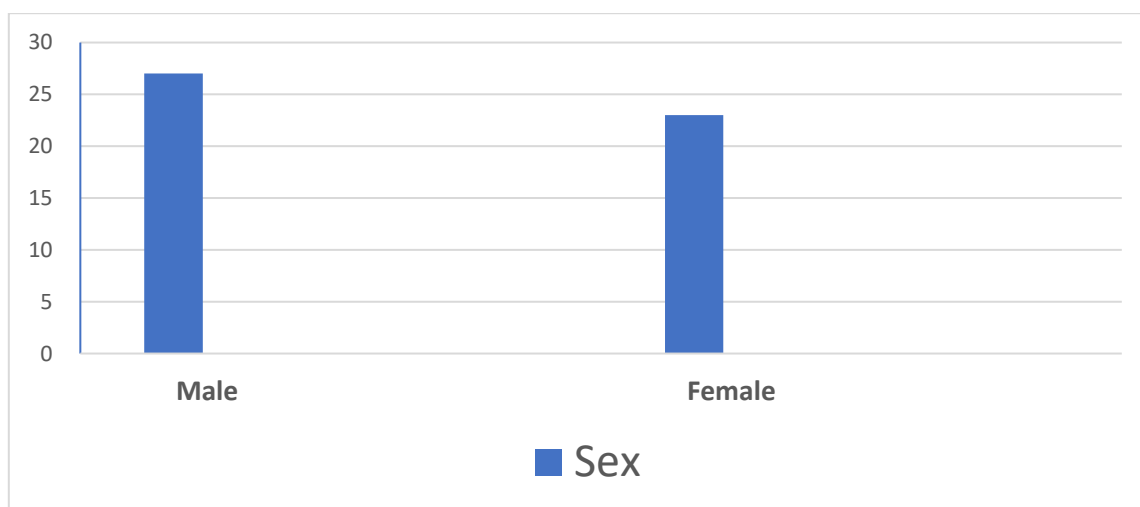


مخطط ١: أعمار المرضى المشاركين في الدراسة

✓ توزعت حالات المرضى بين ٢٧ مريض ذكر و ٢٣ مريضة أنثى.

جدول ٥: توزيع جنس المرضى المشاركين في الدراسة

عدد المرضى الإناث	عدد المرضى الذكور	عدد المرضى الكلي
٢٣	٢٧	٥٠

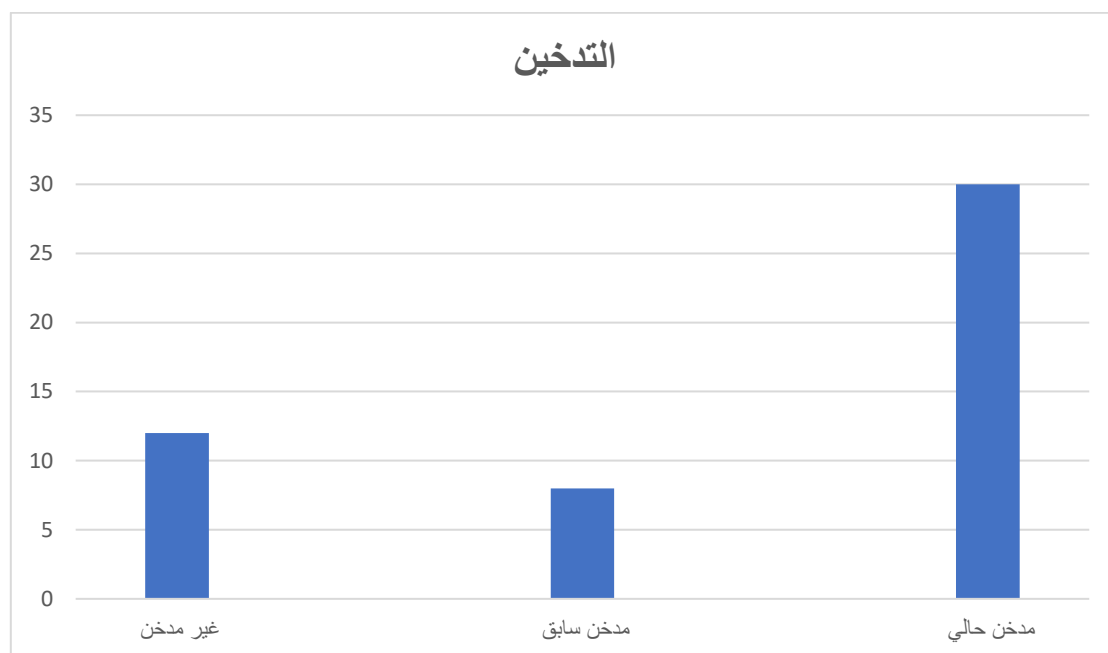


مخطط ٢: جنس المرضى المشاركين في الدراسة

✓ من بين ٥٠ مريض مشارك في الدراسة، كان أعداد المرضى المدخنين الحاليين ٣٠ مريض، بالإضافة لـ ٨ مرضى مدخنين سابقين، و ١٢ مريض غير مدخن.

جدول ٦: توزيع المرضى حسب العلاقة بالتدخين

عدد المرضى المدخنين	عدد المرضى الغير مدخنين	عدد المرضى المدخنين السابقين
٣٠	١٢	٨

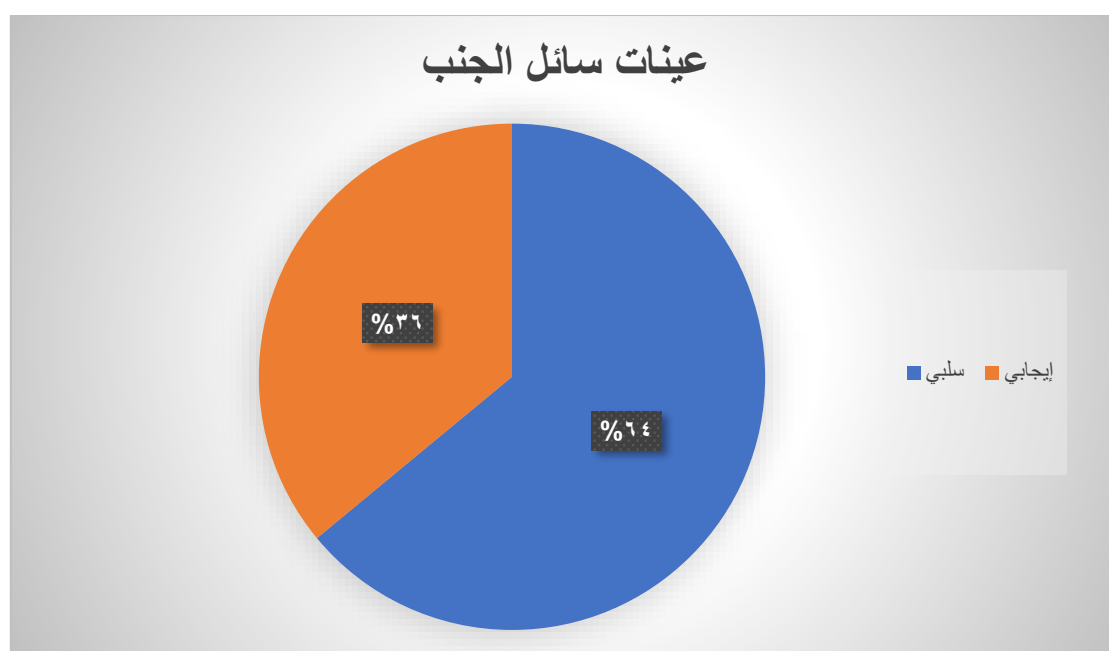


مخطط ٣: نسبة المرضى المدخنين

✓ من أصل ٥٠ عينة سائل جنب تم تشخيص ورم خبيث لدى ١٨ مريض عند الدراسة الخلوية للسائل فقط CS، بنسبة حساسية بلغت ٣٦٪.

جدول ٧: نتائج الدراسة الخلوية CS فقط

CS سلبية	CS إيجابية	
٣٢ (٦٤٪)	١٨ (٣٦٪)	عدد المرضى

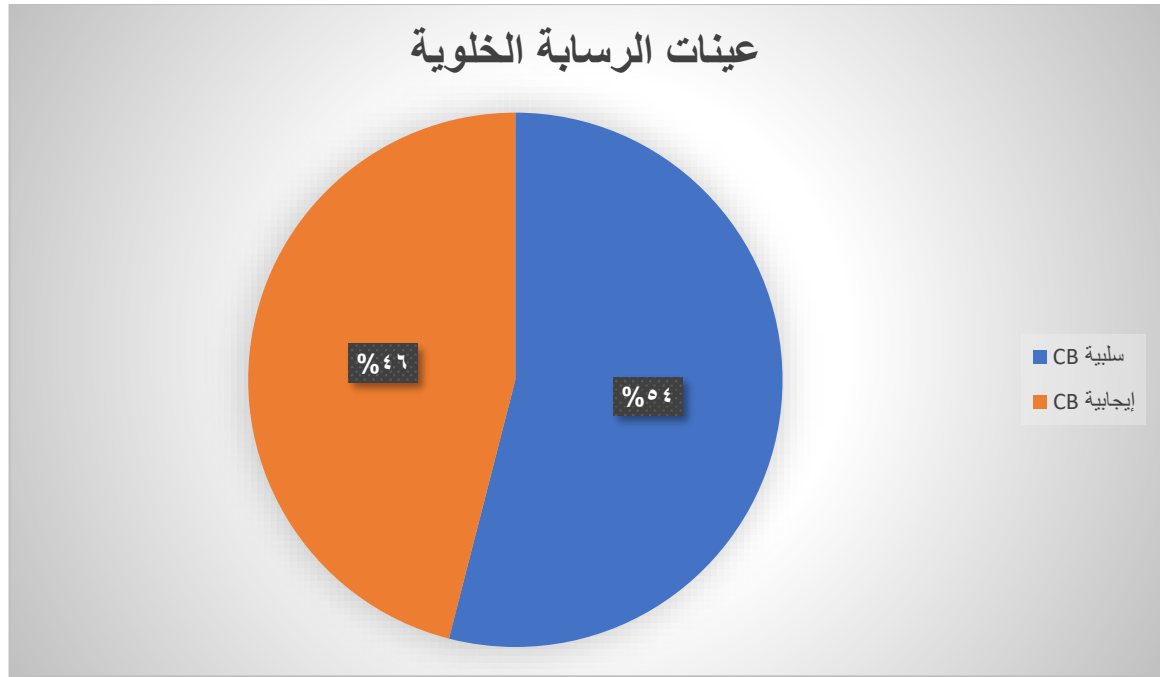


مخطط ٤: يظهر نسبة إيجابية وسلبية عينات سائل الجنب CS

✓ في حين تم تشخيص ورم خبيث لدى ٢٣ مريض عند دراسة الرسابة الخلوية فقط CB، بنسبة حساسية بلغت ٤٦٪.

جدول ٨: نتائج دراسة الرسابة الخلوية CB فقط

CB سلبية	CB إيجابية	
٢٧ (٥٤٪)	٢٣ (٤٦٪)	عدد المرضى



مخطط ٥: نسبة إيجابية عينات الرسابة الخلوية CB

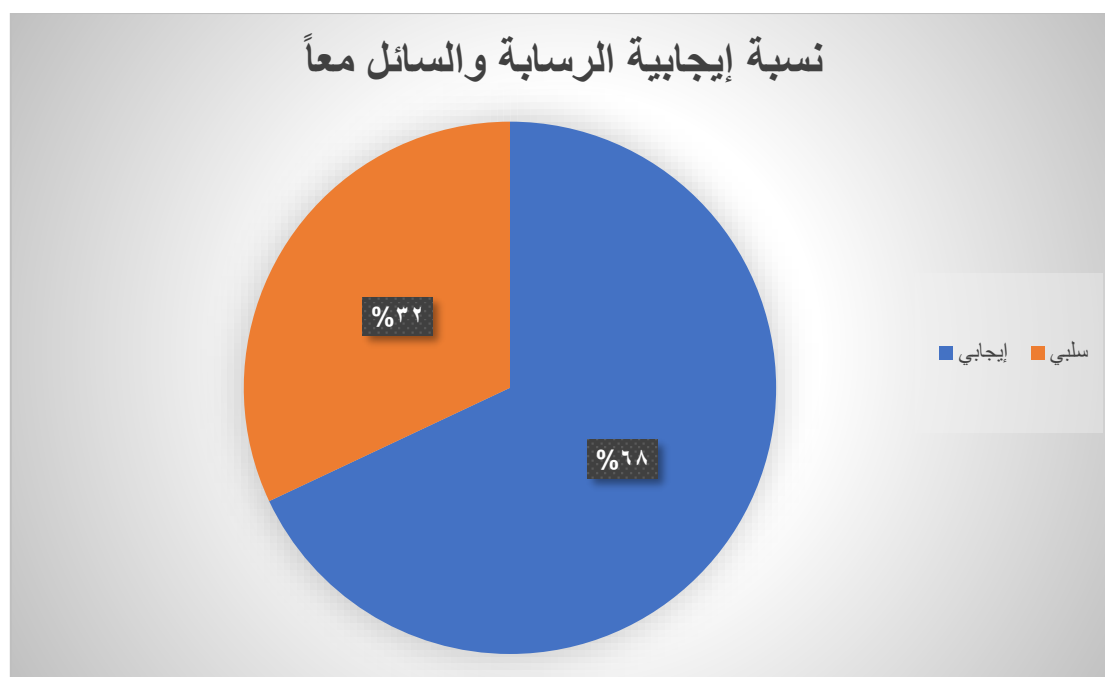
✓ دراسة الـ CB لوحدها أبدت إيجابية أعلى بقليل من دراسة CS لوحدها، لكن هذا الفرق كان غير هام

إحصائياً عند تطبيق McNemar's test : $P \text{ Value} = 0.07 > 0.05$

✓ بينما دراسة السائل والرسابة معاً رفع نسبة تشخيص الخبثة لـ ٣٤ مريض. بنسبة حساسية بلغت ٦٨%.

جدول ٩: نتائج دراسة كل من اللطاخة الخلوية CS والرسابة الخلوية CB معا

CS + CB سلبية	CS + CB إيجابية	عدد المرضى
١٦ (٣٢%)	٣٤ (٦٨%)	



مخطط ٦: إيجابية العينات عند دراسة السائل والرسابة معاً

✓ إيجابية الخبثة عند دراسة CS + CB معا كانت أعلى من دراسة كل منهما على حدى، وهذا الفرق هام

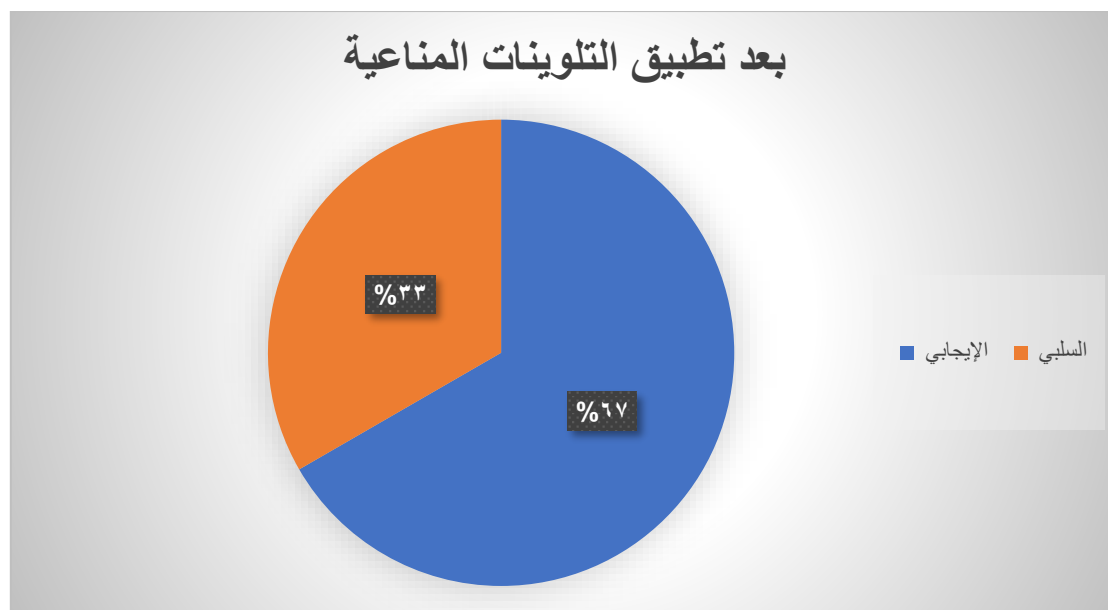
إحصائياً بتطبيق اختبار McNemar's test : $P \text{ Value} = 0.0009 < 0.05$

✓ تم تطبيق التلوينات المناعية اللازمة لـ ١٥ عينة متبقية مشكوك بخبثاتها ولا يمكن حسم التشخيص بـ CS

وCB معاً، حيث تم تأكيد الإصابة الورمية عند ١٠ مرضى ونفيها عند ٥ مرضى آخرين.

جدول ١٠: نتائج العينات المشكوك بخبثاتها بعد تطبيق التلوينات المناعية

عدد العينات الكلي	إيجابية CS + CB + IHCs	سلبية CS + CB + IHCs
١٥	١٠ (٦٧%)	٥ (٣٣%)

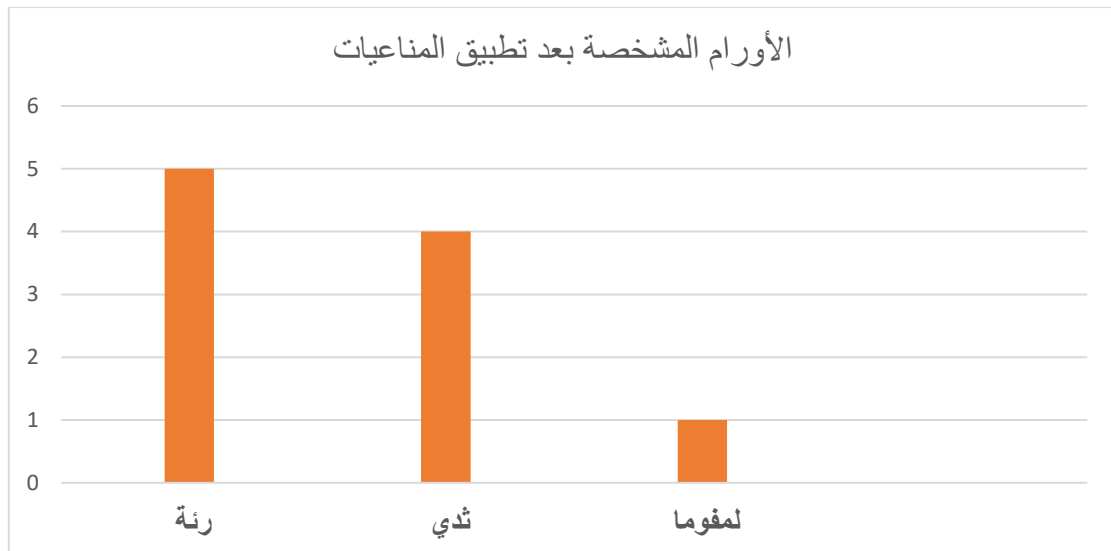


مخطط ٧: يوضح نسبة العينات الإيجابية بعد تطبيق التلوينات المناعية

✓ وتم التوجه حسب القصة السريرية وسوابق المريض أو المريضة والفحوصات الشعاعية حيث تم استخدام كل من (TTF1, Er, LCA, CD20, CD3, CD10, Ki67)، وكان التشخيص النهائي لهذه الحالات متوزعاً على الشكل التالي: ٥ حالات لورم رئي منتقل للجنب و ٤ حالات لنقائل ثدي وحيدة لمفوما انتقالية.

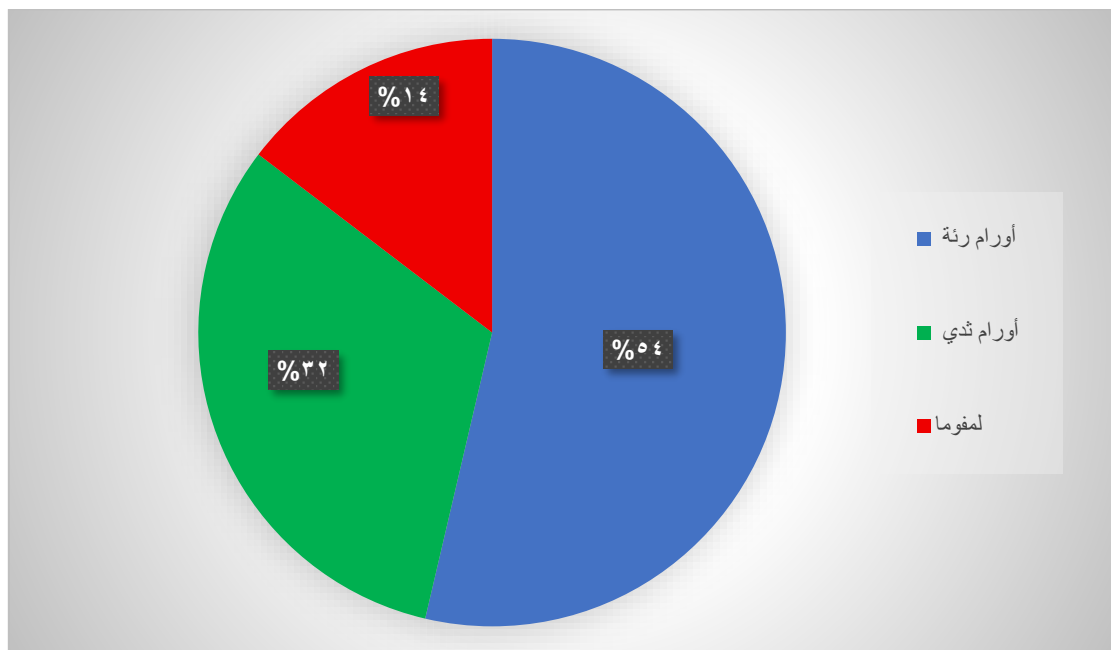
جدول ١١: الأورام المشخصة بعد تطبيق التلوينات المناعية

نوع الورم	عدد العينات
الرئة	٥
الثدي	٤
لمفوما	١



مخطط ٨: الأورام المشخصة بعد تطبيق المناعيات على ١٥ حالة مشتبهة ولا يمكن حسم التشخيص بالـ CS و CB.

✓ نتيجة العينات الإجمالية واضحة بالمخطط أدناه:



مخطط ٩: يوضح نتيجة العينات الإجمالية ونسبة كل ورم

جدول ١٢ : نسبة الحساسية حسب نوع العينة المدروسة

إيجابية CS+CB+IHCs	إيجابية CS+CB	إيجابية CB	إيجابية CS	عدد العينات الكلية ٤٥ عينة
٤٥	٣٤	٢٣	١٨	
%١٠٠	%٦٨	%٥١.١٢	%٤٠	نسبة التشخيص

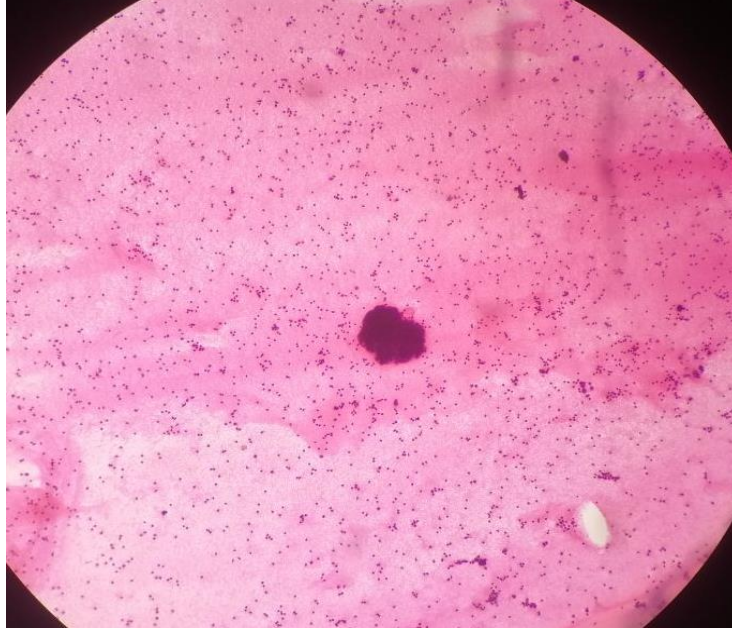
مقارنة نتائج دراستنا بالدراسات السابقة:

جدول ١٣: مقارنة نتائج دراستنا بالدراسات العالمية				
دراستنا الحالية	الدراسة الباكستانية	الدراسة اليابانية	الدراسة التايلندية	عدد العينات الإجمالي
٥٠	٢٧	٣٥	٢٨٧	
١٨ (%٤٠)	١٥ (%١٩.٢٣)	١٩ (%٥٤.٣)	١٧٠ (%٦١.٢)	CS
٢٣ (%٥١.١٢)	٢١ (%٢٩.٩٢)	٢٥ (%٧١.٤)	١٧٢ (%٦١.٩)	CB
٣٤ (% ٦٨)			١٩٨ (%٧١.٢)	CS + CB
٤٥ (%١٠٠)	٢٧ (%١٠٠)		٢٧٥ (%٩٥.٨)	CS + CB + IHCs
		٣٥ (%١٠٠)		CB + Pleural biopsy

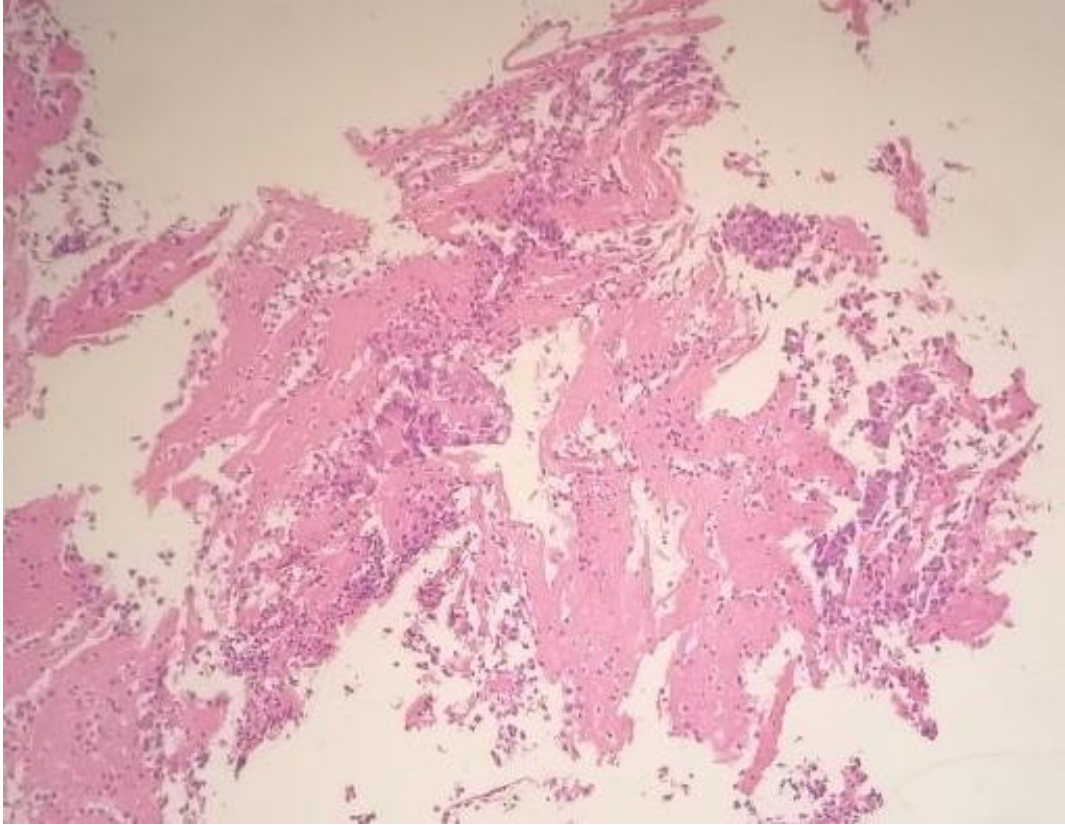
أمثلة عن بعض الحالات المدروسة

الحالة الأولى: عينة من سائل الجنب والرسابة الخلوية تبدي خلايا خبيثة تتماشى مع كارسينوما غدية

Adenocarcinoma عند مريض ٥٤ سنة ومدخن.

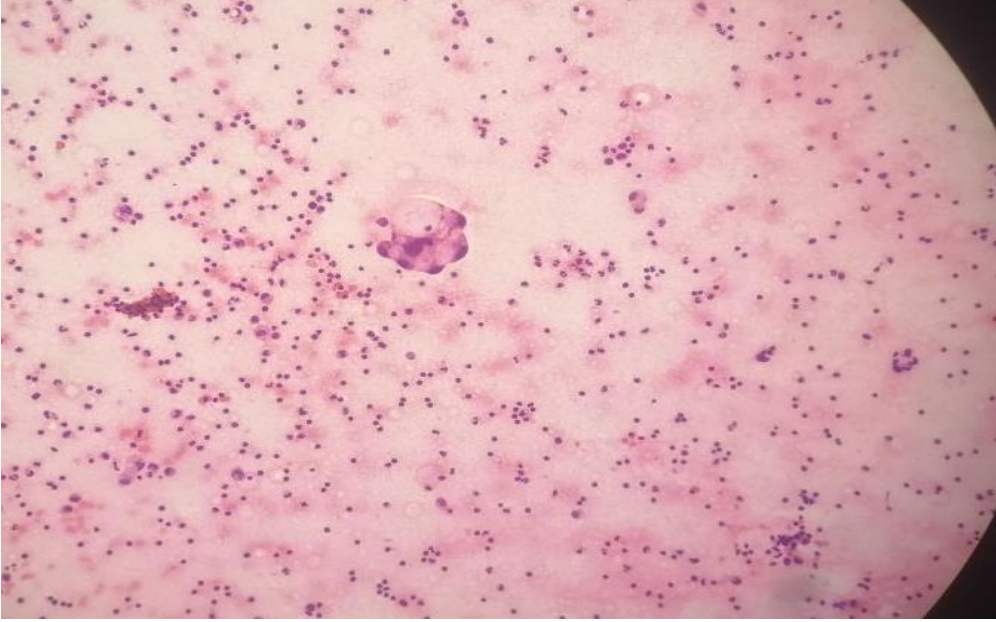


الشكل ١١: سائل جنب يدي خلايا خبيثة تتماشى مع Adenocarcinoma

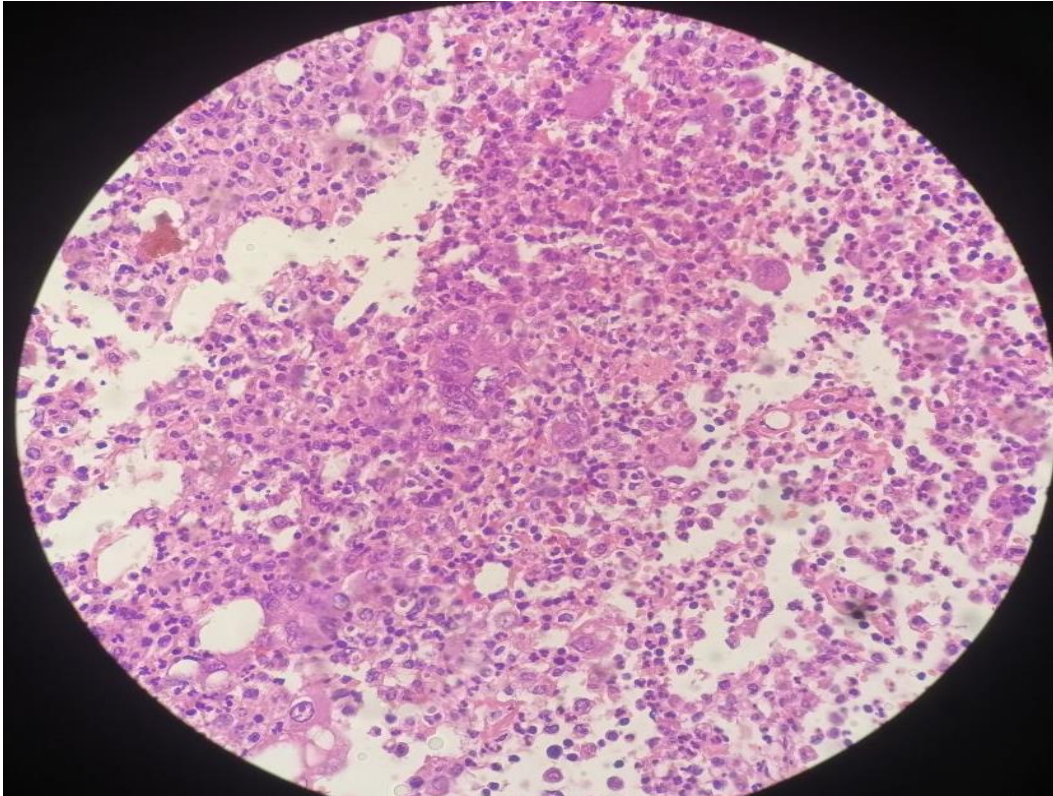


الشكل ١٢: رسابة خلوية تبدي خلايا خبيثة تتماشى مع adenocarcinoma

الحالة الثانية: عينة من سائل جنب ورسابته الخلوية تتماشى مع كارسينوما غدية عند مريض ٦٤ سنة مدخن لمدة ٣٠ سنة ومقلع عن التدخين من ٤ سنوات.



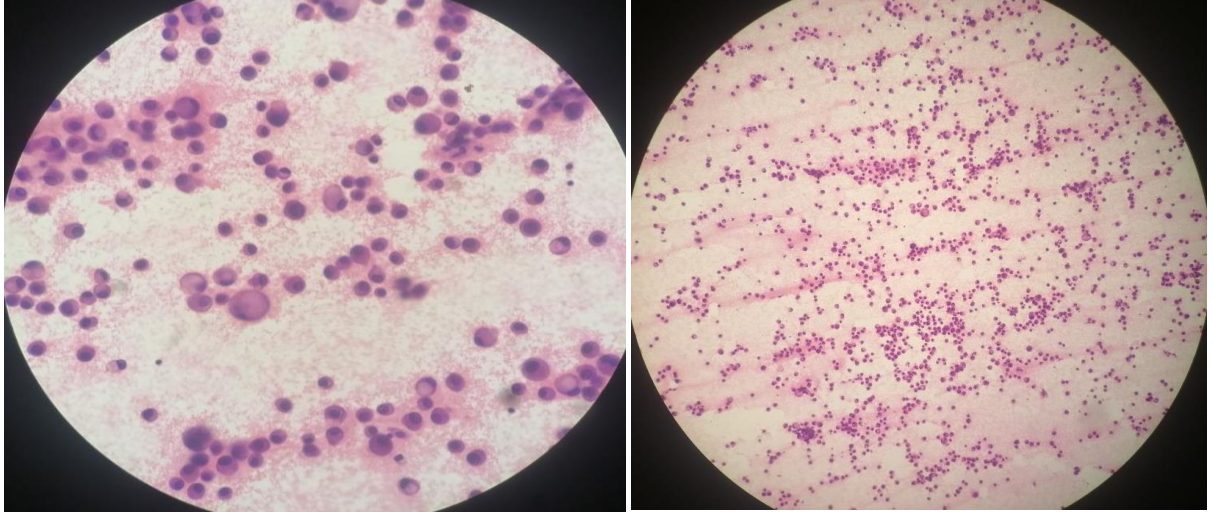
الشكل ١٣: عينة من سائل جنب تبدي ارتشاحاً بخلايا خبيثة تتماشى مع كارسينوما غدية.



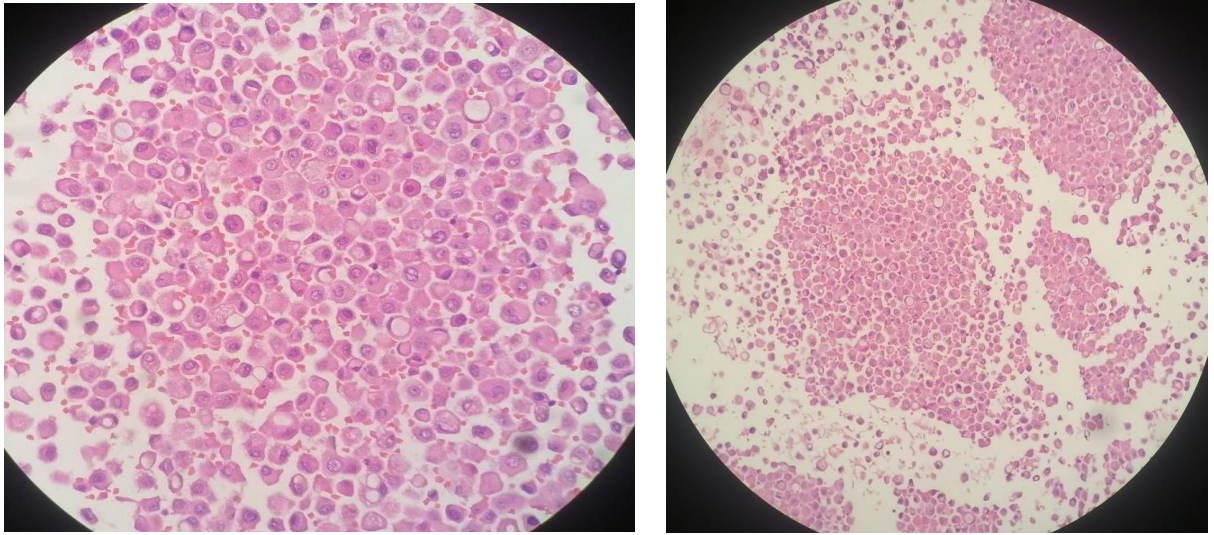
الشكل ١٤: عينة من الرسابة الخلوية تبدي ارتشاحاً بخلايا خبيثة تتماشى مع كارسينوما غدية.

الحالة الثالثة

مريضة ٥٨ عام لديها سوابق سرطان الثدي راجعت المشفى بقصة انصباب جنب. تبين وجود خلايا خبيثة في كل من السائل والا CB. تم تطبيق التلوينات المناعية على الرسابة الخلوية وتأكيد الثدي كمصدر للنقائل حيث كانت النتائج تبدي إيجابية ER, وسلبية TTF-1.



الشكل ١٥: عينة من سائل جنب لمريضة بقصة سرطان الثدي سابق. نشاهد ارتشاح السائل بخلايا خبيثة تتماشى مع نقائل من الثدي.

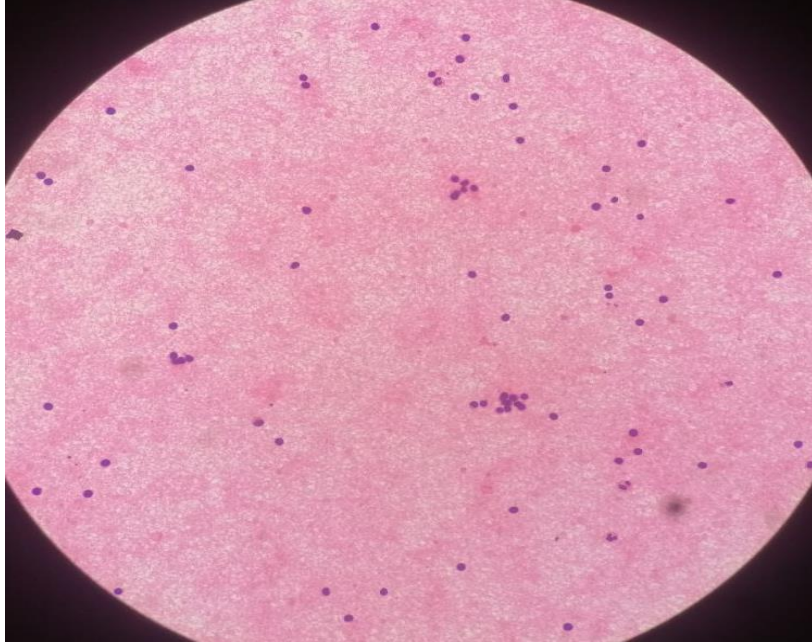


الشكل ١٦: CB لنفس المريضة السابقة يبدي ارتشاحاً بخلايا خبيثة تتماشى مع نقائل من الثدي.



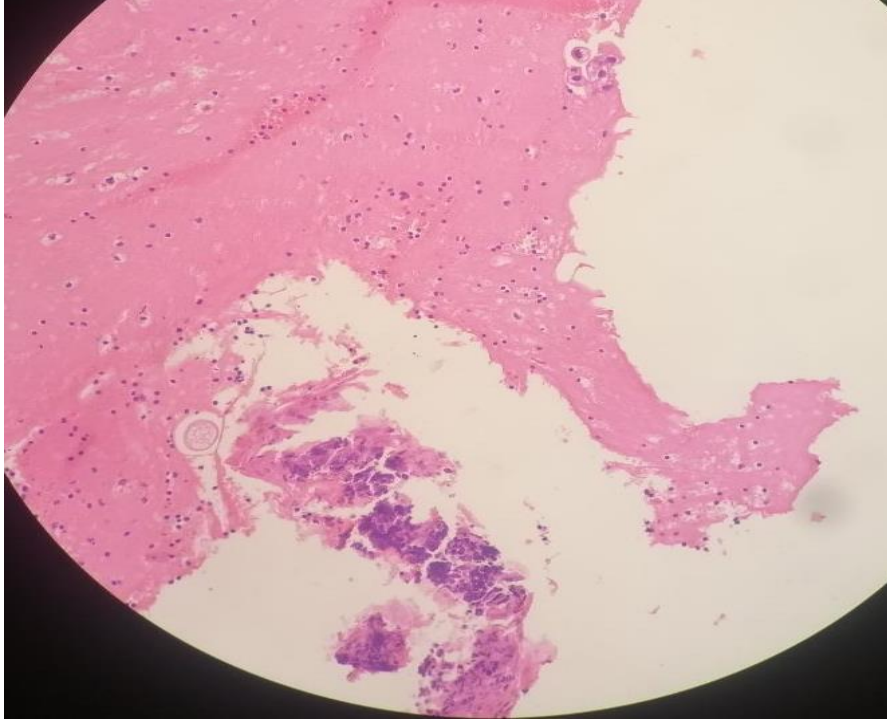
الشكل ١٧: إيجابية ER على الـ CB تؤكد المصدر الثديي للنقائل.

الحالة الرابعة: مريضة ٤٥ عام مدخنة. أخذت عينة من سائل الانصباب الجنبي وأرسلت لمخبر التشريح المرضي في مشفى المواساة الجامعي. بدراسة السائل كان سلبياً للخلايا الشاذة .Negative for Malignancy.



الشكل ١٨: تبدي سائل جنب سلبي الخلايا الشاذة.

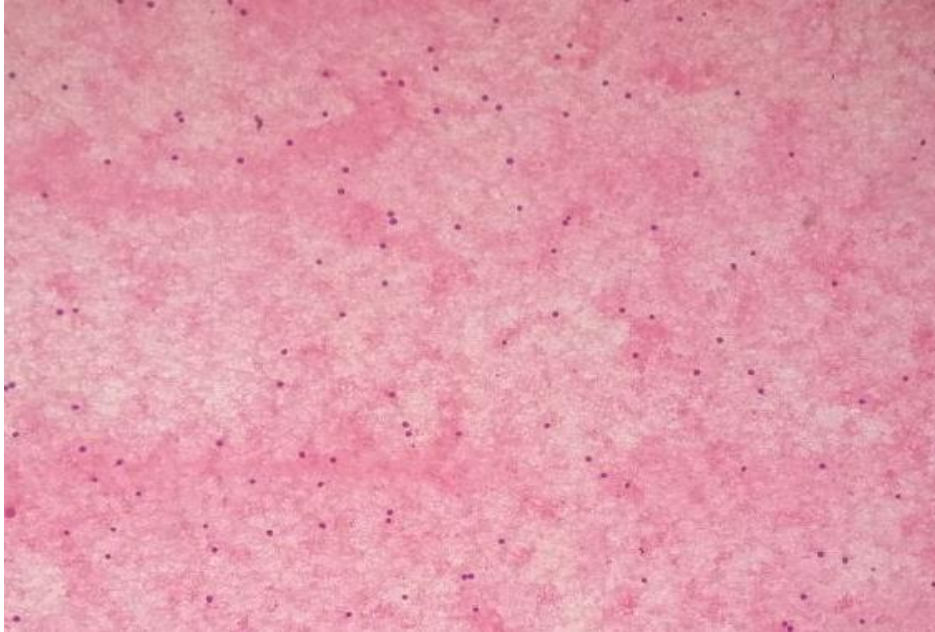
أما عند دراسة الـ CB فتبين وجود بعض الخلايا الشاذة رغم قلة عددها.



الشكل ١٩: CB إيجابي الخلايا الشاذة رغم سلبية السائل.

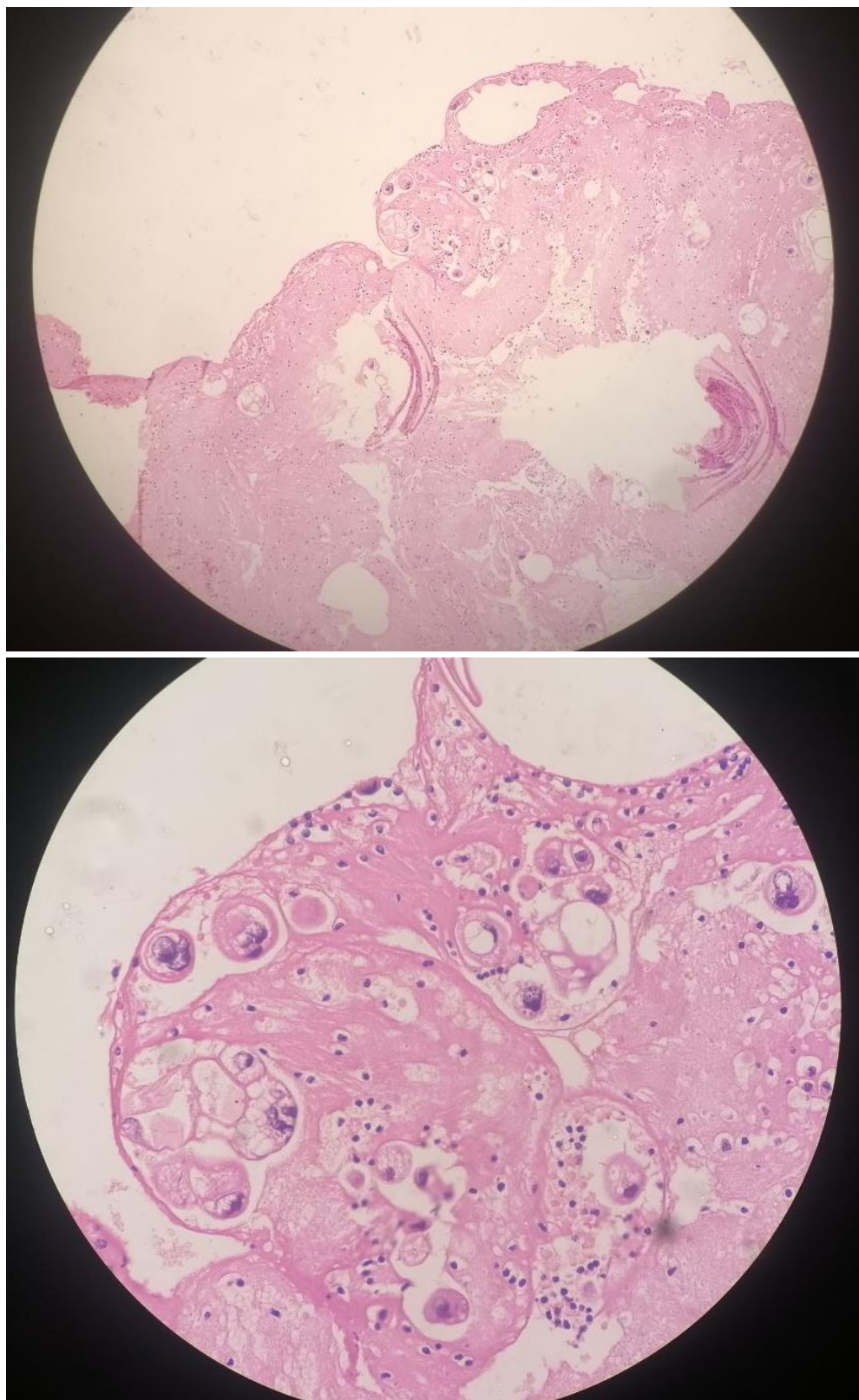
الحالة الخامسة: مريض ٣٨ عام غير مدخن راجع المشفى الوطني الجامعي بقصة سعال وزلة تنفسية مع

انصباب جنب. دراسة السائل أبدت سلبية للخلايا الخبيثة.



الشكل ٢٠: الدراسة الخلوية للسائل أبدت سلبية الخلايا الخبيثة.

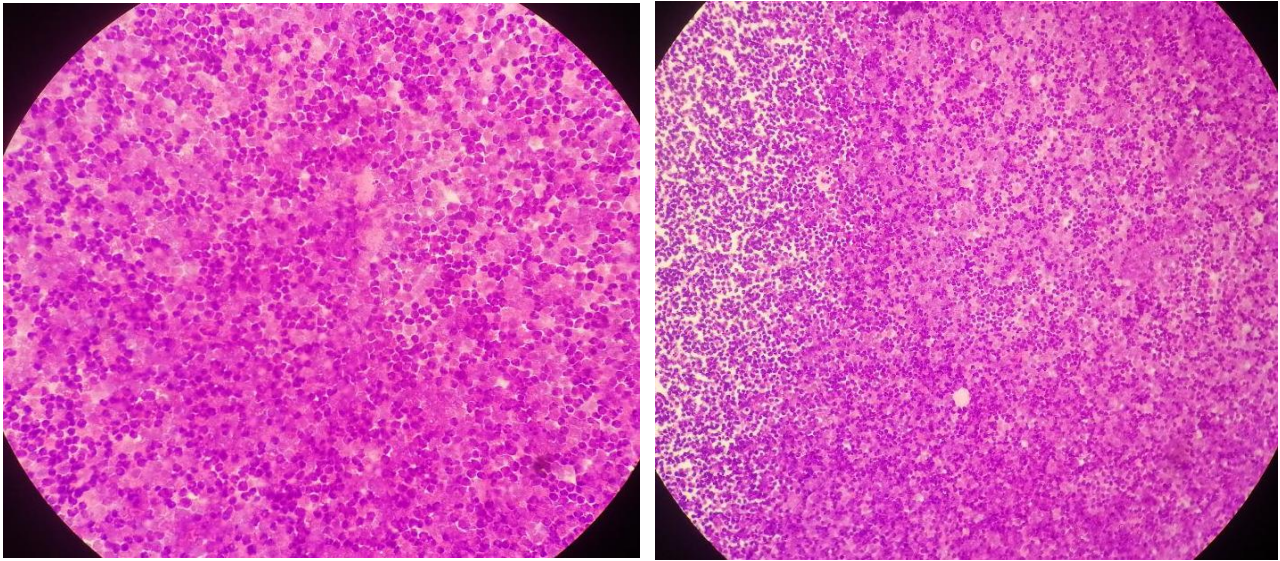
بينما عند دراسة الرسابة الخلوية تبين وجود خلايا خبيثة تتماشى مع Adenocarcinoma.



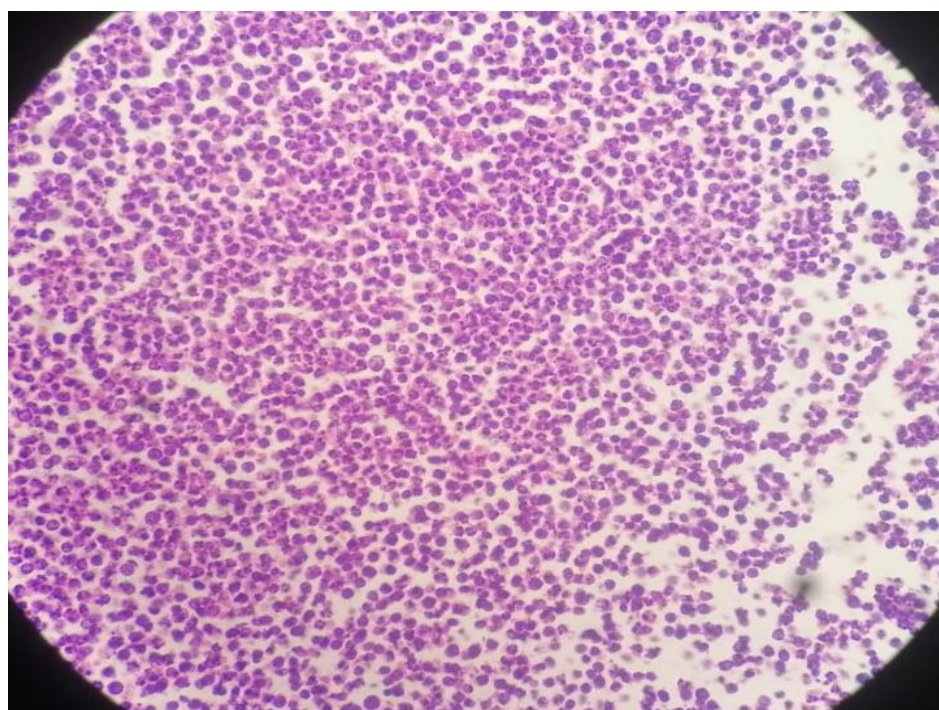
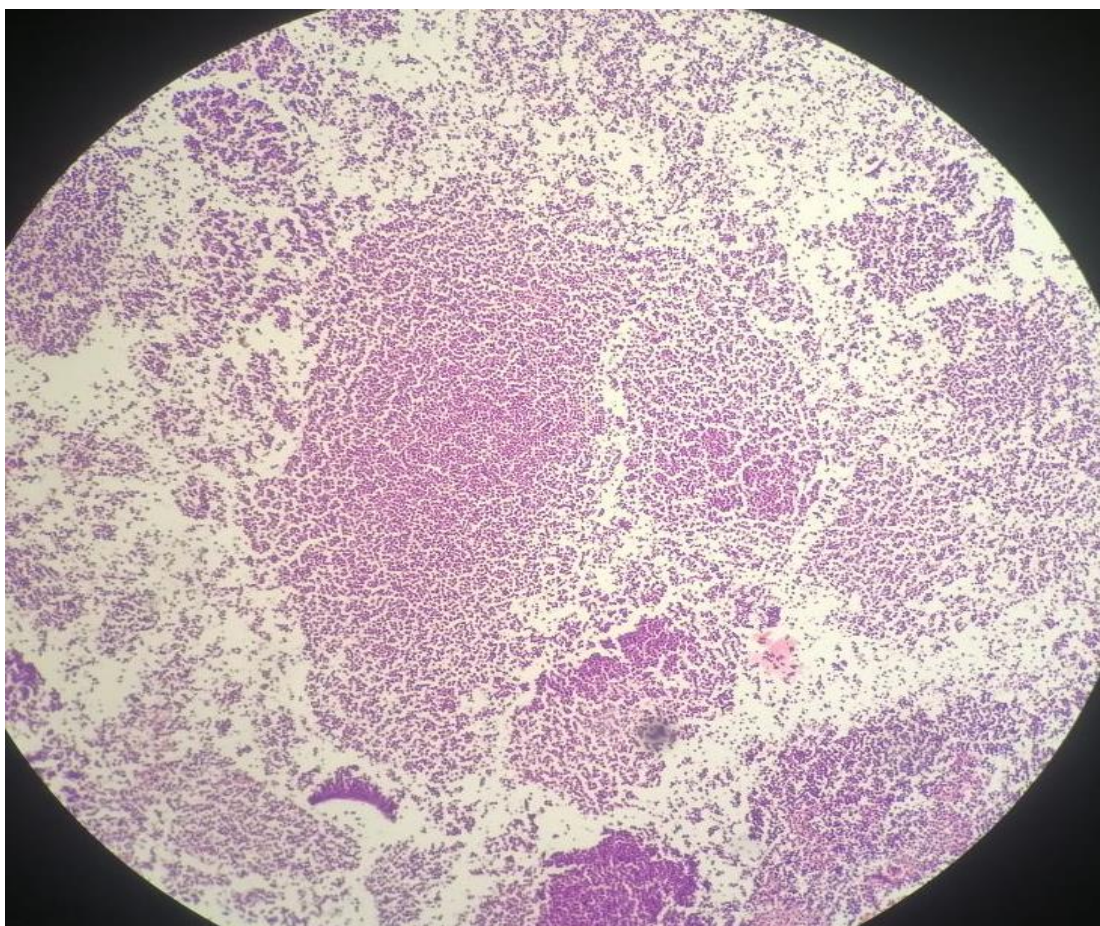
الشكل ٢١: دراسة الرسابة الخلوية أظهرت إيجابية للخلايا الخبيثة.

الحالة السادسة:

مريض بعمر ٧ سنوات. راجع المشفى بقصة ضخامة حشوية متروكية منذ ٣ اسابيع مع انصباب جنب غزير. دراسة السائل والرسابة أظهرت وجود أعداد كبيرة من الخلايا اللمفاوية (خلوية مفرطة) وحيدة الشكل مع وجود أنوية مدورة وبعض النويات، إضافة للخلفية المتسخة dirty background وخلايا بالعة Scattered tingible body macrophages. لذلك تم التوجه لوجود لمفوما. بعد إجراء التلوينات المناعية تم تشخيص الحالة لمفوما بوركيت.

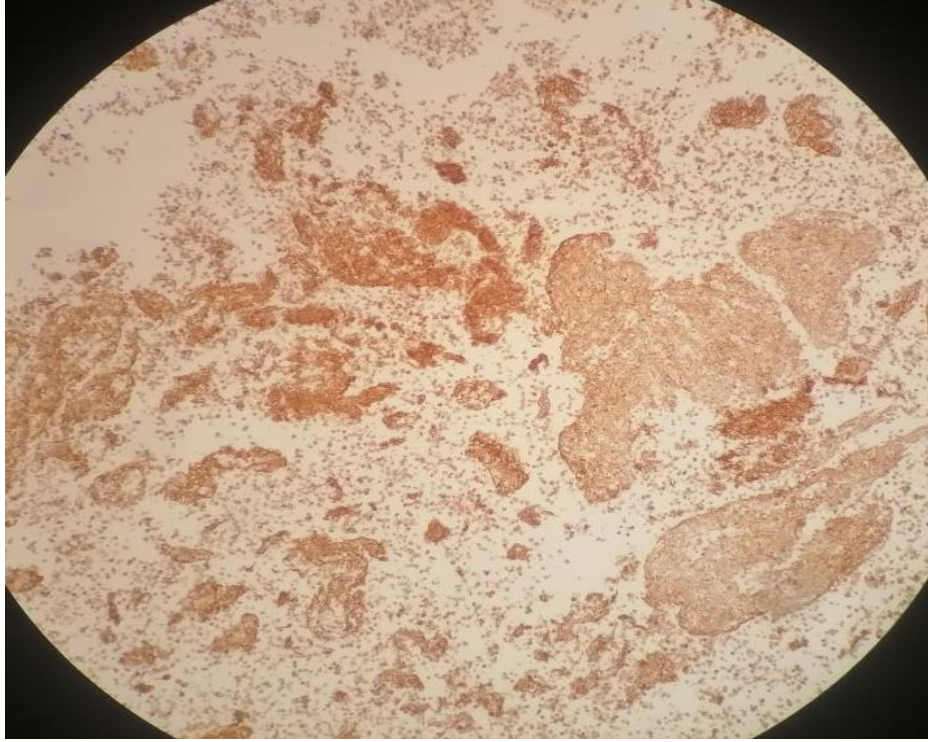


الشكل ٢٢: عينة من سائل جنب لمريض ٧ سنوات تبدي خلوية مفرطة وارتشاحاً بخلايا لمفاوية وحيدة الشكل .monotonous

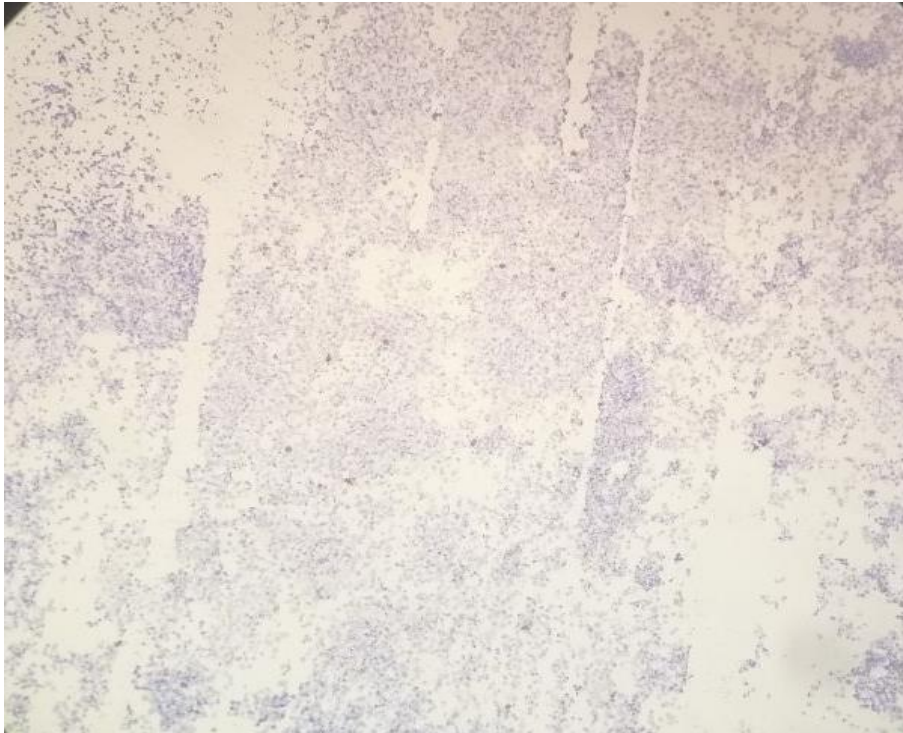


الشكل ٢٣: مقاطع الرسابة الخلوية تبدي ارتشاحا بخلايا لمفاوية وحيدة الشكل مع scattered tingible body macrophages.

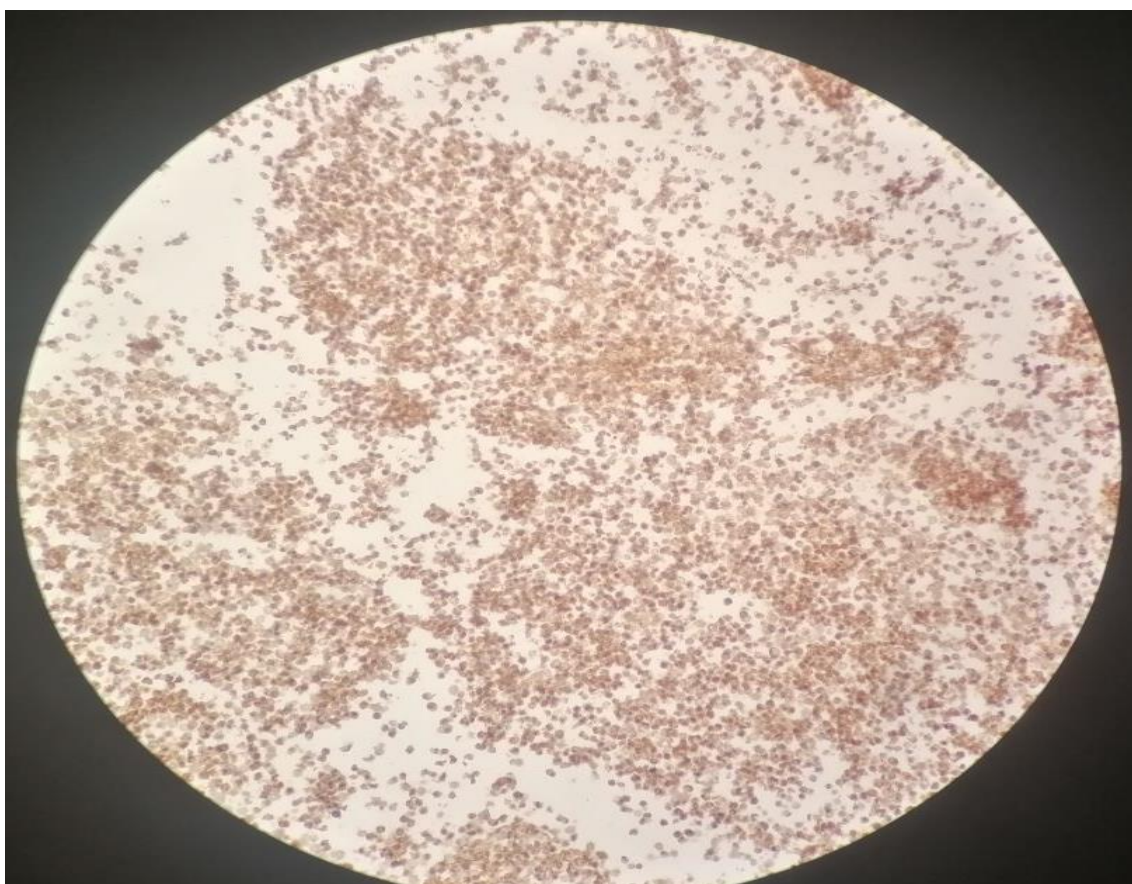
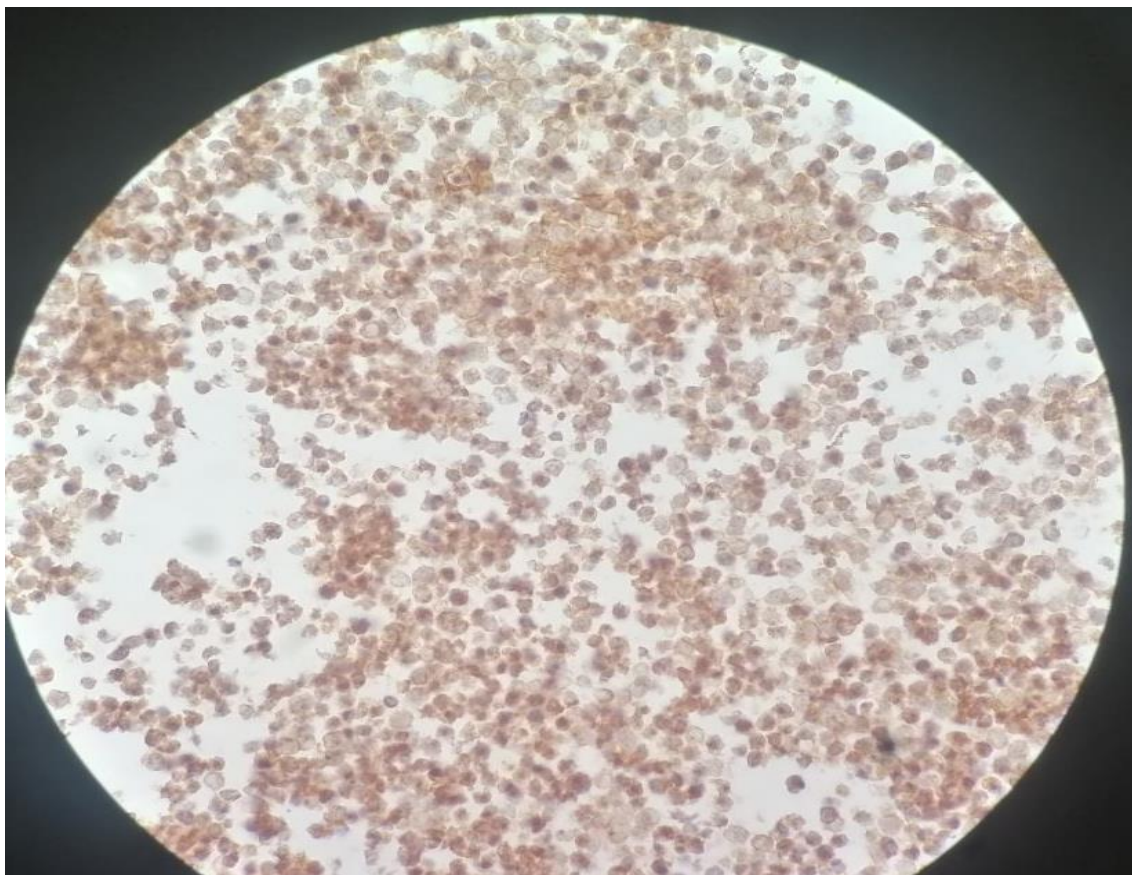
تم تأكيد التشخيص عن طريق التلوينات المناعية حيث أبدت إيجابية لكل من CD20 و CD10، بينما CD3 أظهر إيجابية في عدد قليل من الخلايا فقط. أما Ki64 فقد أبدى إيجابية بلغت ٩٤٪ وهو ما يؤكد الإصابة بلمفوما بوركت.



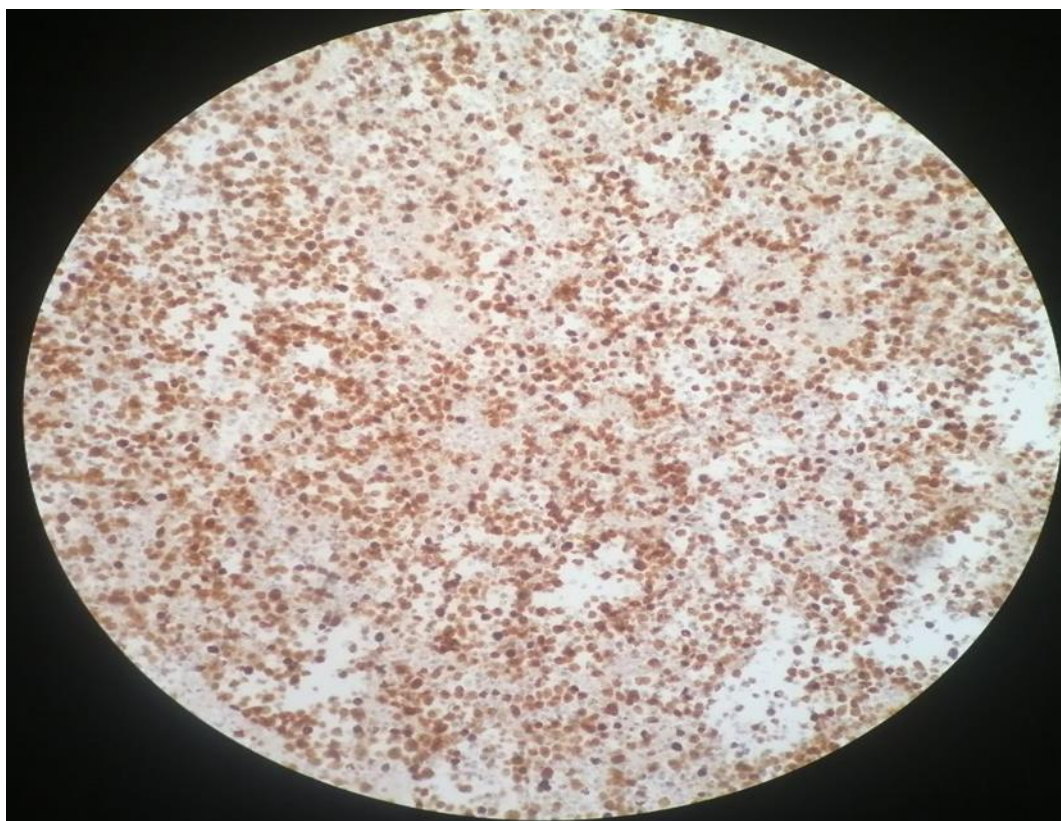
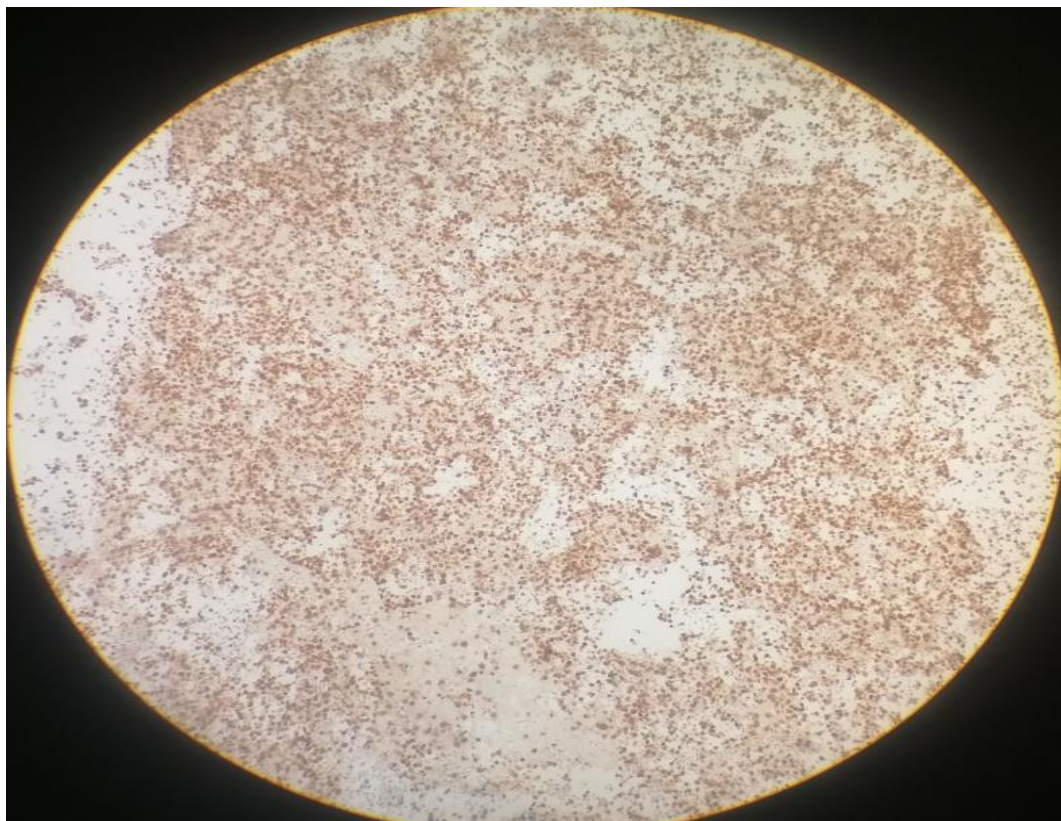
الشكل ٢٤ : CD20 Positive.



الشكل ٢٥ : CD3 : positive for scattered T-Cell.



الشكل ٢٦ : CD10 positive.



الشكل ٢٧ : Ki67- positivity 94%

المناقشة Discussion

- في هذه الدراسة تم دراسة عينات من سائل جنب مشتبه ومن الرسابة الخلوية المأخوذة من السائل ومقارنة حساسية كل منهما في كشف الخباثات سواء بدئية أو انتقالية.
- شملت الدراسة ٥٠ مريضاً توزعوا بين ٢٧ مريض ذكر و ٢٣ مريضة أنثى بمتوسط أعمار بلغ ٥٨ سنة.
- عند إجراء الدراسة الخلوية للسائل فقط كان عدد العينات إيجابية الخبثة ١٨ عينة من أصل ٥٠ عينة، في حين دراسة الرسابة الخلوية فقط أظهرت إيجابية في ٢٣ عينة.
- أما دراسة السائل والرسابة معاً رفعت نسبة تشخيص الإصابة الورمية لـ ٣١ عينة، و بلغ عدد العينات الإيجابية ٤٥ عينة من أصل ٥٠ عينة عند إضافة التلوينات المناعية الضرورية مع السائل والرسابة سوية.
- تظهر الدراسات العالمية ارتفاعاً واضحاً في حساسية التشخيص عند الدراسة الخلوية للسائل والرسابة معاً مقارنة بدراسة كل منهما على حدى، حيث أظهرت إحدى الدراسات (التايلندية) حساسية بلغت ٦١.٢% عند الدراسة الخلوية فقط و ٦١.٩% عند دراسة الرسابة فقط في حين بلغت الحساسية ٧١.٢% عند دمج الدراستين معاً. أما إضافة التلوينات المناعية فرفع نسبة التشخيص بشكل ملحوظ حيث بلغت حساسية الفحص الثلاثي (سائل ورسابة وتلوينات مناعية) ٩٥.٨%.^{67,66}
- أما في الدراسة الباكستانية فقد بلغت حساسية الدراسة الخلوية للسائل فقط ١٩.٢٣%، بينما دراسة الرسابة أعطت حساسية قدرها ٢٦.٩٢%، في حين ارتفعت هذه النسبة لـ ١٠٠% عند دراسة السائل والرسابة مع إضافة التلوينات المناعية المناسبة للحالات المشتبهة غير المحسومة بالسائل والرسابة.⁶⁸
- وفي الدراسة اليابانية ورغم اعتمادها على الخزعة كتشخيص مرجعي، فقد جاءت نتائج الدراسة الخلوية للسائل والرسابة متقاربة مع الدراسات الأخرى، حيث بلغت حساسية الدراسة الخلوية للسائل ٥٤.٣%، أما عند دراسة الرسابة بلغت الحساسية ٧١.٤%.⁶⁹

■ في دراستنا الحالية، كانت النتائج متوافقة مع الدراسات العالمية، حيث بلغت حساسية التشخيص عند الدراسة الخلوية للسائل ٤٠٪، وحساسية التشخيص عند دراسة الرسابة فقط ٥١.١٢٪، أما دراستهما معا فرفعت حساسية التشخيص لـ ٦٨.٨٩٪.

تعد تقنية الرسابة الخلوية (Cell Block – CB) إحدى الطرائق التقليدية المستخدمة في تقييم سائل الانصباب الخلوية. تتطلب هذه التقنية استخدام الفورمالين المُعزَّز بنسبة ١٠٪ كمتبَت، الأمر الذي يزيد من المردود التشخيصي من خلال تحقيق حفظ أفضل للعينة وإظهار تفاصيل خلوية ومورفولوجية أوضح. كما تُسهم طريقة الرسابة الخلوية في رفع حساسية التشخيص في سائل الانصباب. ويمكن الاستفادة منها في مستويات متعددة من الفحوص، بما في ذلك التلوينات الخاصة والتلوينات المناعية النسيجية (IHC). وتُعدّ هذه التلوينات الأكثر شيوعاً وتوافراً، إذ يمكن تطبيقها على المقاطع المثبتة بالفورمالين والمغلقة بالبارافين.⁷⁰

أيضاً تعتبر دراسة الرسابة الخلوية خياراً تشخيصياً فعالاً، حيث تمتاز بسهولة جمع العينات، وقدرتها على الحفاظ على المعالم المورفولوجية والبنوية للخلايا، مثل تشكل الغُدَد (acini)، والبنى الحليمية (papillary structures)، وتجمّعات الخلايا كُروية الشكل (cell ball formation)، والتي تعد دليلاً مثبتاً على وجود الخباثة، كما تساعد في تحديد الموقع الأصلي للأورام.^{71,72}

في تشخيص الانصباب الجنبي الخبيث (Malignant Pleural Effusion, MPE) تمتلك تقنية الرسابة الخلوية (Cell Block, CB) بعض المزايا على المسحات الخلوية التقليدية (Cytology Smear, CS). إذ إنّ تقنيات التحضير غير السليمة في CS مثل المسح أو التثبيت أو التلوين قد تؤدي إلى تراكم أو تزامخ الخلايا، وفقدانها، وظهور (Artifacts)، وتصبغ خلفي ضعيف، بينما تقلّ هذه المشكلات في تقنية CB.

تُظهر العينات في CB خلوية أعلى مقارنةً بـ CS، إذ تتركز الخلايا في منطقة صغيرة يمكن تقييمها بسرعة، مع تموضع جميع الخلايا في المستوى البؤري نفسه للمجهر. بالإضافة إلى ذلك، تؤمّن CB تفاصيل مورفولوجية خلوية

أوضح، مثل حفظ أفضل للنواة والهيولى، سلامة الغشاء الخلوي، ووضوح الكروماتين، مع تقليل صعوبات الفحص المجهرى حتى في حال وجود دم زائد في الخلفية.

من ناحية البنية النسيجية (Tissue architecture)، قد لا تُظهر خلايا السرطان الغدي، وخصوصاً المنتقل من الرئة والثدي والجهاز الهضمي، السمات الخلوية الواضحة للخبثاء؛ وهنا تصبح التفاصيل المورفولوجية الدقيقة ونمط البنية النسيجية ضرورية للتشخيص. وللأسف، يفقر CS إلى هذا المكوّن البنيوي، حيث تُشاهد الخلايا المتفرقة منفردة بشكل رئيسي، بينما تُظهر CB أنماطاً بنيوية مثل الغدد، والصفائح الخلوية، والتكتلات ثلاثية الأبعاد، والكرات الخلوية، مما يؤدي إلى زيادة حساسية التشخيص في الانصباب الجنبي الخبيث عند استخدام CB.

ويُعدّ التمييز بين الخلايا المتوسطة الارتكاسية والخلايا الخبيثة تحدياً في CS، إذ قد تُظهر الخلايا المتوسطة الارتكاسية نويات كبيرة غير منتظمة، وكروماتين خشن، ونوى متضخمة تحاكي المظهر الخبيث. في المقابل، تُظهر CB نويات أقل بروزاً، مع إمكانية تمييز البنى الغدية الكاذبة (Pseudo-acinar) أو الغدية الحقيقية (Acinar structure) بشكل أفضل.

وأخيراً، تتيح عينات CB حفظها لفترات طويلة وإجراء مقاطع متعددة عليها باستخدام التلوين الروتيني، أو التلوينات الخاصة، أو التلوين المناعي النسيجي (IHC)، وكذلك الفحوص الجزيئية، بينما يبقى تخزين عينات CS تحدياً عملياً. غير أنّ CB تحمل خطر فقدان المادة أثناء التحضير، خصوصاً في تقنية التثبيت، مما قد يُفسر بعض الحالات التي تكون نتائج CB فيها سلبية بينما تظهر إيجابية في CS. وقد أظهرت دراسات سابقة نتائج مماثلة لنتائجنا، حيث أضافت تقنية CB معدل تشخيص إضافياً إلى CS بنسبة تقارب ١٠-١٥٪ في حالات MPE.

الاستنتاجات Conclusion:

- ١- إنّ الدراسة الخلوية لسوائل الانصباب مع دراسة الرسابة CB، ترفع المردود التشخيصي وتزيد من إمكانية كشف الأورام الخبيثة عند عدم معرفة الموقع الأولي.
- ٢- كما تُظهر الرسابة الخلوية CB تفاصيل بنيوية وخلوية أوضح مقارنةً بالمسحات الخلوية التقليدية. ويُسهّم استخدام هاتين الطريقتين معاً في تعزيز حساسية التشخيص في الانصبابات الخلوية.
- ٣- وبناءً على ذلك، يُعدّ الجمع بين CB و CS أكثر فائدة من الاعتماد على المسحات الخلوية وحدها في تشخيص سوائل الانصباب.
- ٤- توفر الرسابة الخلوية إمكانية استخدام التلوينات المناعية النسيجية IHCs، مما يساهم في زيادة حساسية التشخيص في الحالات المشتبهة، ويجنب المريض القيام بإجراءات غازية مثل الخزعة وما ينتج عنها من اختلاطات وصعوبات.

التوصيات والمقترحات: Recommendations and Suggestions

على الرغم من أنَّ تقنية الرسابة الخلوية (Cell Block, CB) قد وُصفت منذ ما يقارب القرن، وتُعدّ معروفة جيّدًا بين اختصاصيي التشريح المرضي الخلوي (Cytopathologists)، إلّا أنّها ما تزال قليلة الوصف من قبل الأطباء السريريين. كما أنّ معظم الدراسات المنشورة أُجريت من قبل اختصاصيي التشريح المرضي، وكانت عينات السائل الجنبي (Pleural Fluid, PF) المختارة للدراسة قد أُرسلت مسبقًا إلى المختبر، وهي ظروف لا تعكس الممارسة السريرية اليومية. وبناءً على ذلك، أجرينا هذه الدراسة بهدف استكشاف فوائد تقنية الرسابة الخلوية عند دمجها كجزء من فحص السائل الجنبي في الممارسة السريرية الروتينية وتوصلنا إلى الاقتراحات التالية:

- ١- يجب الاعتماد على دراسة الرسابة الخلوية CB لكل سائل جنب بشكل روتيني بالإضافة للدراسة الخلوية CS لما توفره من تفاصيل خلوية قادرة على كشف الأورام بشكل أدق وتحديد المصدر الأولي للورم في حال كان انتقالي عن طريق المعلومات البنيوية والمورفولوجية للخلية.
- ٢- إمكانية تطبيق التلوينات المناعية وإجراء الدراسات الجزيئية والجينية على CB مما يساهم في كشف التشخيص والوصول إلى نتيجة نهائية عبر إجراء سهل وبسيط ومتوفر في أغلب المناطق حتى الريفية والفقيرة نسبيًا.
- ٣- الدراسة الخلوية للسائل يجب أن تُعتمد بشكل جدي وأساسي في الممارسة السريرية لا سيما في الحالات التي لا يمكن فيها إجراء خزعة للمريض، كما أن الخزعة بحد ذاتها قد تكون غير مشخصة بسبب قلة النسيج المأخوذ، وميل الخلية السرطانية للانتقال بشكل بُوري مما يجعل مكان أخذ الخزعة غير دقيق بشكل كبير.

Abstract

Aims: the aim of this study was to compare the accuracy and sensitivity of pleural fluid cytology and cell block preparations in the detection of primary and secondary malignancies.

Materials and Methods: a total of 45 samples were collected from patients attending Al-Mouwasat and National University Hospitals in Damascus during the period between 2024 and 2025.

Results: the study included 45 patients with a mean age of 58 years. Cytologic examination of pleural fluid alone was positive in 18 cases (40%), whereas the cell block study yielded positive results in 23 cases (51.1%). When both methods were combined, the sensitivity increased to 31 cases (68.9%). Moreover, the addition of immunohistochemical staining to both cytology and cell block raised the diagnostic rate to 45 out of 50 cases ($\approx 90\%$), which is consistent with most international studies that have demonstrated the superiority of combining CS, CB, and IHC over the use of each method separately.

Conclusions: this study concluded that incorporating cell block preparations alongside conventional cytology significantly improves the diagnostic yield and provides clearer cellular and structural details that aid in differentiating between reactive and malignant cells, as well as in identifying the primary source of metastatic tumors. Furthermore, the use of CB enables the application of immunohistochemistry and molecular tests,

thereby enhancing diagnostic accuracy and, in many cases, obviating the need for invasive procedures such as biopsy. Accordingly, the study recommends adopting the combined approach (CS + CB) as a routine practice in the evaluation of pleural effusions, with the addition of IHC when needed to increase sensitivity and achieve a reliable final diagnosis.

المراجع References

- 1- Feller-Kopman D, Light R. Pleural disease. N Engl J Med. 2018;378(8):740–751.
- 2- msen TW, DeLaPena J, Setnik GS. Videos in clinical medicine. Thoracentesis. N Engl J Med. 2006;355(15): e16.
- 3- Wu YJ, Parker LM, Binder NE, et al. The mesothelial keratins: a new family of cytoskeletal proteins identified in cultured mesothelial cells and nonkeratinizing epithelia. Cell 1982;31(3 Pt 2):693–703.
- 4- Moll R, Lowe A, Laufer J, et al. Cytokeratin 20 in human carcinomas. A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. Am J Pathol 1992;140:427–447.
- 5- Doglioni C, Tos AP, Laurino L, et al. Calretinin: a novel immunocytochemical marker for mesothelioma. Am J Surg Pathol 1996;20:1037–1046.
- 6- Nagel H, Hemmerlein B, Ruschenburg I, et al. The value of anti-calretinin antibody in the differential diagnosis of normal and reactive mesothelia versus metastatic tumors in effusion cytology. Pathol Res Pract 1998;194:759–764.
- 7- Oates J, Edwards C. HBME-1, MOC-31, WT1 and calretinin: an assessment of recently described markers for mesothelioma and adenocarcinoma. Histopathology 2000;36:341–347.
- 8- Ordonez NG. Value of calretinin immunostaining in diagnostic pathology: a review and update. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2014;22:401–415.

- 9– Chu PG, Weiss LM. Expression of cytokeratin 5/6 in epithelial neoplasms: an immunohistochemical study of 509 cases. *Mod Pathol* 2002;15:6–10.
- 10– Hecht JL, Lee BH, Pinkus JL, et al. The value of Wilms tumor susceptibility gene 1 in cytologic preparations as a marker for malignant mesothelioma. *Cancer* 2002;96:105–109.
- 11– Chu AY, Litzky LA, Pasha TL, et al. Utility of D2–40, a novel mesothelial marker, in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Mod Pathol* 2005;18:105–110.
- 12– Roffe BD, Wagner FH, Derewicz HJ, Gill GW. Heparinized bottles for the collection of body cavity fluids in cytopathology. *Am J Hosp Pharm.* 1979;36:211–214.
- 13– CLSI. Nongynecological Cytology Specimens: Preexamination, Examination, and Postexamination Processes; Approved Guideline Second Edition. CLSI Document GP23–A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
- 14–. Manosca F, Schinstine M, Fetsch PA, et al. Diagnostic effects of prolonged storage on fresh effusion samples. *Diagn Cytopathol.* 2007;35(1):6–11.
- 15– Ylagan LR, Zhai J. The value of ThinPrep and cytospin preparation in pleural effusion cytological diagnosis of mesothelioma and adenocarcinoma. *Diagn Cytopathol.* 2005;32(3):137–144.

- 16– Gabriel C, Achten R, Drijkoningen M. Use of liquid-based cytology in serous fluids: a comparison with conventional cytopreparatory techniques. *Acta Cytol.* 2004;48
- 17– Martin SE, Zhang HZ, Magyarosy E, Jaffe ES, Hsu SM, Chu EW. Immunologic methods in cytology: definitive diagnosis of non-Hodgkin's lymphomas using immunologic markers for T and B-cells. *Am J Clin Pathol.* 1984;82:666–673.
- 18– De Girolami E. Applications of plasma-thrombin cell block in diagnostic cytology. II: Digestive and respiratory tracts, breast and effusions. *Pathol Annu.* 1977;12(Part 2):91–110.
- 19– De Girolami E. Applications of plasma-thrombin cell block in diagnostic cytology. I: Female genital and urinary tracts. *Pathol Annu.* 1977;12(Part 1):251–275.
- 20– Bibbo M, Draganova-Tacheva R, Naylor B. Pleural, peritoneal, and pericardial effusions. In: Bibbo M, Wilbur DC, eds. *Comprehensive Cytopathology*. 4th ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2015:403–448.
- 21– Nigro K, Tynski Z, Wasman J, Abdul-Karim F, Wang N. Comparison of cell block preparation methods for nongynecologic ThinPrep specimens. *Diagn Cytopathol.* 2007;35(10):640–643.
- 22– La Fortune KA, Randolph ML, Wu HH, Cramer HM. Improvements in cell block processing: the Cell-Gel method. *Cancer Cytopathol.* 2017;125(4):267–276.

- 23– Wagner DG, Russell DK, Benson JM, Schneider AE, Hoda RS, Bonfiglio TA. Cellient automated cell block versus traditional cell block preparation: a comparison of morphologic features and immunohistochemical staining. *Diagn Cytopathol.* 2011;39(10):730–736.
- 24– Kruger AM, Stevens MW, Kerley KJ, Carter CD. Comparison of the Cellient automated cell block system and agar cell block method. *Cytopathology.* 2014;25(6):381–388.
- 25– Starr RL, Sherman ME. The value of multiple preparations in the diagnosis of malignant pleural effusions: a cost–benefit analysis. *Acta Cytol.* 1991;35
- 26– Fetsch PA, Simsir A, Brosky K, Abati A. Comparison of three commonly used cytologic preparations in effusion immunocytochemistry. *Diagn Cytopathol.* 2002;26(1):61
- 27– Nance KV, Shermer RW, Askin FB. Diagnostic efficacy of pleural biopsy as compared with that of pleural fluid examination. *Mod Pathol.* 1991;4:320–324.
- 28– Garcia LW, Ducatman BS, Wang HH. The value of multiple fluid specimens in the cytological diagnosis of malignancy. *Mod Pathol.* 1994;7:665–668.
- 29– Johnston WW. The malignant pleural effusion: a review of cytopathologic diagnoses of 584 specimens from 472 consecutive patients. *Cancer.* 1985;56:905–909.

- 30– ranados R, Cibas ES, Fletcher JA. Cytogenetic analysis of effusions for malignant mesothelioma: a diagnostic adjunct to cytology. *Acta Cytol.* 1994;38:711–717.
- 31– Illei PB, Ladanyi M, Rusch VW, Zakowski MF. The use of CDKN2A deletion as a diagnostic marker for malignant mesothelioma in body cavity effusions. *Cancer.* 2003;99(1):51–56.
- 32– Factor RE, Dal Cin P, Fletcher JA, Cibas ES. Cytogenetics and fluorescence in situ hybridization as adjuncts to cytology in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Cancer.* 2009;117(4):247–253.
- 33– Crothers BA, Tench WD, Schwartz MR, et al. Guidelines for the reporting of nongynecologic cytopathology specimens. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133(11):1743–1756.
- 34–Motherby H, Nadjari B, Friegel P, Kohaus J, Ramp U, Bocking A. Diagnostic accuracy of effusion cytology. *Diagn Cytopathol.* 1999;20:350–357.
- 35– Spriggs AI, Boddington MM. Atlas of serous fluid cytopathology: a guide to cells of pleural, pericardial, peritoneal and hydrocele fluids. In: Gresham GA, ed. *Current Histopathology Series*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1989:14.
- 36– Hallman JR, Geisinger KR. Cytology of fluids from pleural, peritoneal and pericardial cavities in children: a comprehensive survey. *Acta Cytol.* 1994;38:209–217.

- 37– Gushchin V, Demmy TL, Kane 3rd JM. Surgical management of metastatic peritoneal or pleural disease. *Semin Oncol.* 2007;34(3):215–225
- 38– Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2–positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open–label, randomised controlled trial. *Lancet.* 2010;376(9742):687–697
- 39– Covey AM. Management of malignant pleural effusions and ascites. *J Support Oncol.* 2005;3(2):169–173. 176.
- 40– Bhatnagar R, Keenan EK, Morley AJ, et al. Outpatient talc administration by indwelling pleural catheter for malignant effusion. *N Engl J Med.* 2018;378(14):1313–1322.
- 41– Price BA, Ehya H, Lee JH. Significance of pericellular lacunae in cell blocks of effusions. *Acta Cytol.* 1992;36:333–337.
- 42– Ehya H. The cytologic diagnosis of mesothelioma. *Semin Diagn Pathol.* 1986;3(3):196–203.
- 43– Travis W, Brambilla E, Burke A, Marx A, Nicholson AE. WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus, and Heart. 4th ed. Lyon: IARC; 2015.
- 44– Renshaw AA, Dean BR, Antman KH, Sugarbaker DJ, Cibas ES. The role of cytologic evaluation of pleural fluid in the diagnosis of malignant mesothelioma. *Chest.* 1997;111:106–109.

- 45– Kho–Duffin J, Tao LC, Cramer H, Catellier MJ, Irons D, Ng P. Cytologic diagnosis of malignant mesothelioma, with particular emphasis on the epithelial noncohesive cell type. *Diagn Cytopathol.* 1999;20(2):57–62.
- 46– Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised 4th ed. Lyon: IARC; 2017.
- 47– Brimo F, Michel RP, Khetani K, Auger M. Primary effusion lymphoma: a series of 4 cases and review of the literature with emphasis on cytomorphologic and immunocytochemical differential diagnosis. *Cancer.* 2007;111(4):224–233.
- 48– Wakely Jr PE, Menezes G, Nuovo GJ. Primary effusion lymphoma: cytopathologic diagnosis using in situ molecular genetic analysis for human herpesvirus 8. *Mod Pathol.* 2002;15(9):944– 950.
- 49– Ansari MQ, Dawson DB, Nador R, et al. Primary body cavity–based AIDS–related lymphomas. *Am J Clin Pathol.* 1996;105:221–229.
- 50– Feller–Kopman D. Therapeutic thoracentesis: the role of ultrasound and pleural manometry. *Curr Opin Pulm Med.* 2007;13(4):312–318.
- 51– Renshaw AA, Nappi D, Cibas ES. Cytology of metastatic adenocarcinoma of the prostate in pleural effusions. *Diagn Cytopathol.* 1996;15(2):103–107.
- 52– Parwani AV, Chan TY, Ali SZ. Significance of psammoma bodies in serous cavity fluid: a cytopathologic analysis. *Cancer.* 2004;102(2):87–91.
- 53– Zakowski M, Ianuela–Shanerman A. Cytology of pericardial effusions in AIDS patients. *Diagn Cytopathol.* 1993;9:266–269.

- 54– Onur I, Siddiqui MT, Wakely PE, Ali SZ. Pseudomyxoma peritonei: cytomorphologic findings and clinicopathologic correlates. *J Am Soc Cytopathol.* 2016;5:43–49.
- 55– Esteban JM, Yokota S, Husain S, Battifora H. Immunocytochemical profile of benign and carcinomatous effusions. *Am J Clin Pathol.* 1990;94:698–705.
- 56– Ordonez NG. What are the current best immunohistochemical markers for the diagnosis of epithelioid mesothelioma? A review and update. *Hum Pathol.* 2007;38(1):1–16.
- 57– Smith–Purslow MJ, Kini SR, Naylor B. Cells of squamous cell carcinoma in pleural, peritoneal, and pericardial fluids: origin and morphology. *Acta Cytol.* 1989;33:245–253.
- 58– Smith–Purslow MJ, Kini SR, Naylor B. Cells of squamous cell carcinoma in pleural, peritoneal, and pericardial fluids: origin and morphology. *Acta Cytol.* 1989;33:245–253.
- 59– Chhieng DC, Ko EC, Yee HT, Shultz JJ, Dorvault CC, Eltoum IA. Malignant pleural effusions due to small–cell lung carcinoma: a cytologic and immunocytochemical study. *Diagn Cytopathol.* 2001;25(6):356–360.
- 60– Walts AE. Malignant melanoma in effusions: a source of falsenegative cytodiagnoses. *Diagn Cytopathol.* 1986;2:150–153.
- 61– Conner JR, Cibas ES, Hornick JL, Qian X. Wilms tumor 1/ cytokeratin dual–color immunostaining reveals distinctive staining patterns in metastatic

melanoma, metastatic carcinoma, and mesothelial cells in pleural fluids: an effective first-line test for the workup of malignant effusions. *Cancer Cytopathol.* 2014;122(8):586–595.

62– . Das DK. Serous effusions in malignant lymphomas: a review. *Diagn Cytopathol.* 2006;34(5):335–347.

63– Sears D, Hajdu SI. The cytologic diagnosis of malignant neoplasms in pleural and peritoneal effusions. *Acta Cytol.* 1987;31:85–97

64–

65– Torous VF, Cuda JM, Manucha V, Randolph ML, Shi Q, VandenBussche CJ, et al. Cell blocks in cytology: Review of preparation methods, advantages, and limitations. *J Am Soc Cytopathol.* 2023;12:77–88. doi: 10.1016/j.jasc.2022.11.003.

66– Kung IT, Yuen RW, Chan JK. Technical notes. Optimal formalin fixation and processing schedule of cell blocks from the fine needle aspirates. *Pathology* 1989;21:143–145.

67– Sundling KE, Cibas ES: Ancillary studies in pleural, pericardial, and peritoneal effusion cytology . *Cancer Cytopathol.* 2018, 126:590–598

68– Mulkalwar M, Chandrakar J, Kujur P, Gahine R, Swarnakar S, Bhaskar LS: Diagnostic utility of cell block method versus cytopspin method in pleural and peritoneal fluid cytology. *J Med Sci Clin Res.* 2016, 4:13726– 13732.

- 69– Nussrat FL, Ali HH, Hussein HG, Al-Ukashi RJ: Immunohistochemical expression of ki-67 and p53 in colorectal adenomas: a clinicopathological study. *Oman Med J.* 2011, 26:229 234
- 70– Assawasaksakul T, Boonsarngsuk V, Incharoen P. A comparative study of conventional cytology and cell block method in the diagnosis of pleural effusion. *J Thorac Dis* 2017;9(9):3161–3167. doi: 10.21037/jtd.2017.08.52
- 71– Batool S, Sadaf S, Chughtai A S, et al. (February 14, 2023) Diagnostic Accuracy of Cell Block and Immunohistochemistry in Effusion Cytology. *Cureus* 15(2): e34958. DOI 10.7759/cureus.34958
- 72– Miyoshi S, Sasada S, Izumo T, Matsumoto Y, Tsuchida T (2016) Diagnostic Utility of Pleural Fluid Cell Block versus Pleural Biopsy Collected by Flex–Rigid Pleuroscopy for Malignant Pleural Disease: A Single Center Retrospective Analysis. *PLoS ONE* 11(11): e0167186. doi:10.1371/journal.pone.0167186
- 73– Sundling KE, Cibas ES: Ancillary studies in pleural, pericardial, and peritoneal effusion cytology . *Cancer Cytopathol.* 2018, 126:590–598.
- 74– Mulkalwar M, Chandrakar J, Kujur P, Gahine R, Swarnakar S, Bhaskar LS: Diagnostic utility of cell block method versus cytopsin method in pleural and peritoneal fluid cytology. *J Med Sci Clin Res.* 2016, 4:1372613732
- 75– Bista P: Comparison of the diagnostic accuracy of cell block with cytology smear in serous effusions . *J Pathol Nepal.* 2013, 3:482–486.

Syrian Arab Republic
Damascus University
Faculty of Medicine
Department of Pathology



**Study of Accuracy and Sensitivity of Cytological Pleural Cell
Block in Diagnosing Pleural Malignancies and Comparing it
with The Results of Cytological Study of The Fluid**

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of The Requirements
for The Master Degree in Pathology

Supervisor:

Prof. Dr. Lina Haffar

Professor of pathology
Damascus University

Chair:

Prof. Dr. Walid Al-Salih

Professor of pathology
Damascus University

2025