

УДК 611.018.1:57.086.16

Л. П. Зайцева¹, Э. А. Надыров², О. А. Разуменко¹, Н. Д. Савич¹

¹Учреждение

«Гомельский областной клинический онкологический диспансер»,

²Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

ВОЗМОЖНОСТИ ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫХ МЕТОДОВ ОКРАСКИ

Введение

Цитологическое исследование – признанный полноценный метод морфологической верификации в дифференциальной диагностике патологических и доброкачественных процессов. Цитологическое заключение о наличии злокачественного новообразования в целом основано на анализе ядерного хроматина в окрашенных клетках. Степень ядерной атипии наряду с цитоплазматической морфологией являются признаками, с помощью которых можно цитологически определить потенциал злокачественности клеток. Эти диагностические принципы сформировались благодаря кропотливым, последовательным исследованиям в изучении оптимальной рецептуры химических красителей, влияющих на качество препаратов посредством индивидуальной фиксации и окрашивания клеток [1].

Цель

Определить возможности цитологического исследования с применением дополнительных методов окраски цитологических препаратов.

Материал и методы исследования

В Республике Беларусь основным традиционным способом окраски цитологических препаратов является окраска азур-эозином (по Романовскому – Гимзе), которая не требует предварительной фиксации мазков. В основе метода лежит обнаруженный в 1890–1891 гг. Д. Л. Романовским эффект изменения свойств смеси эозина с водным раствором метиленового синего при длительном контакте с воздухом [2].

Стандартным методом окраски цитологических препаратов в зарубежных странах является метод Папаниколау. Американский исследователь Дж. Папаниколау – основатель современного этапа развития цитологического метода исследования, первоначально предложил свой способ окраски мазков из шейки матки для определения гормонального статуса женщины. В последующем эта окраска стала использоваться также при цитологическом скрининге рака шейки матки (ПАП-тест) [3]. Основное внимание уделяется корректной влажной фиксации препаратов, целью которой является сохранение цитоморфологических характеристик и диагностически значимых элементов клетки, что приводит к огрубению клеточных структур и делает рисунок ядерного хроматина и его детали более четким [1].

В У «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» в централизованной цитологической лаборатории применяется ряд других методов окраски цитологических препаратов.

Окрашивание цитологических препаратов нитратом серебра применяют для выявления ядрышковых организаторов (ЯО). Ядрышковые организаторы (англ. *nucleolus*

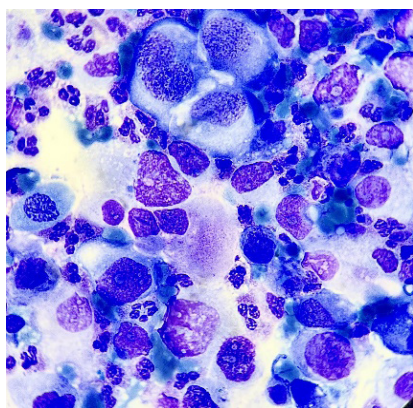
organizer regions, NOR) – участки хромосом, образующие внутри ядра клетки ядрышко. У человека ЯО представлены участками, расположенными на коротких плечах акроцентрических хромосом 13, 14, 15, 21, 22 и содержащими гены 45S рРНК – предшественника 5.8S, 18S, 28S рРНК [4].

Для выявления гликогена в нормальных и патологически измененных тканях используют ШИК-реакцию (Шифф-йодная кислота). Йодная кислота окисляет и разрывает связи в соединениях, содержащих две смежные гликолевые группы, образуя диальдегид, который с серосодержащим фуксином из реактива Шиффа формирует нерастворимое окрашенное соединение, сходное с основным фуксином [5].

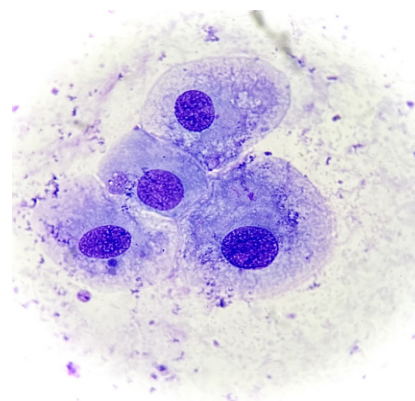
Иммуноцитохимия – это один из методов окраски биологических объектов, изучаемых под микроскопом на цитологических препаратах. Он основан на высокоспецифической реакции «антиген – антитело» с целью идентификации и установления локализации в клетках разнообразных молекулярных структур и соединений: иммуноглобулинов, гормонов, ферментов, рецепторов поверхностных мембран, белков промежуточных филаментов.

Результаты исследования и их обсуждение

Окраска азур-эозином (по Романовскому – Гимзе) является простым, быстрым и недорогим методом, которым окрашивают цитологические препараты различных локализаций, в том числе и биологические жидкости. При этом смесь эозина с водным раствором метиленового синего окрашивает цитоплазму клетки в синий цвет, а ядра – в красный, тогда как при раздельном применении красителей эозин окрашивает цитоплазму в розовый цвет, а метиленовый синий окрашивает ядра в синий. Результат окраски по Романовскому – Гимзе представлен на рисунках 1А, 1Б.



А



Б

Рисунок 1 – Цитологические препараты: А – осадок мочи. Уротелиальная карцинома высокой степени злокачественности; Б – цитологический препарат, мазок из шейки матки. Клетки плоского эпителия промежуточного слоя. Окраска по Романовскому – Гимзе, объектив 100×

Окраска по Папаниколау применяется в Республике Беларусь при проведении ПАП-теста в рамках диспансеризации женского населения (дополнительный метод диагностики при наблюдении женщин с ВПЧ-позитивным статусом). При этом методе окраски ядра эпителиальных клеток окрашиваются гематоксилином в синий цвет, цитоплазма зрелых клеток многослойного плоского эпителия окрашивается в розовый или оранжевый цвет, незрелые клетки и клетки железистого эпителия – в зеленый цвет (рисунки 2А, 2Б, 2В).

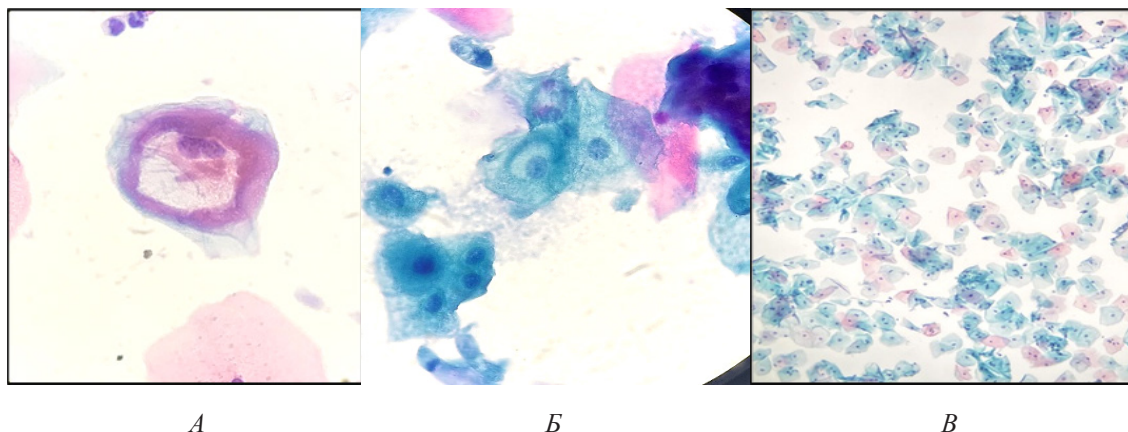


Рисунок 2 – Цитологические гинекологические препараты: А, Б – цитологический гинекологический препарат, приготовленный методом жидкостной цитологии, койлоциты (цитопатический эффект вируса папилломы человека на клетки плоского эпителия). Окраска по Папаниколау, объектив 100×; В – цитологический гинекологический препарат, приготовленный методом жидкостной цитологии, клетки плоского эпителия поверхностного слоя. Окраска по Папаниколау, объектив 10×

Окраска нитратом серебра применяется в дифференциальной диагностике реактивных изменений и патологических процессов. Известно, что при трансформации нормальных клеток в опухолевые уровень ЯО в них меняется в сторону повышения, появляется и специфическая морфологическая картина в самих ЯО, и в ядрышках в целом. Данные изменения отражают пролиферативную активность опухолевых клеток и служат объективным маркером злокачественности [4]. В результате реакции серебрения в ядре определяются ЯО в виде зерен коричнево-черного цвета различного размера и формы – место контакта серебра в клетке с соответствующими кислотными белками транскрипции и трансформации рРНК (рисунки 3А, 3Б).

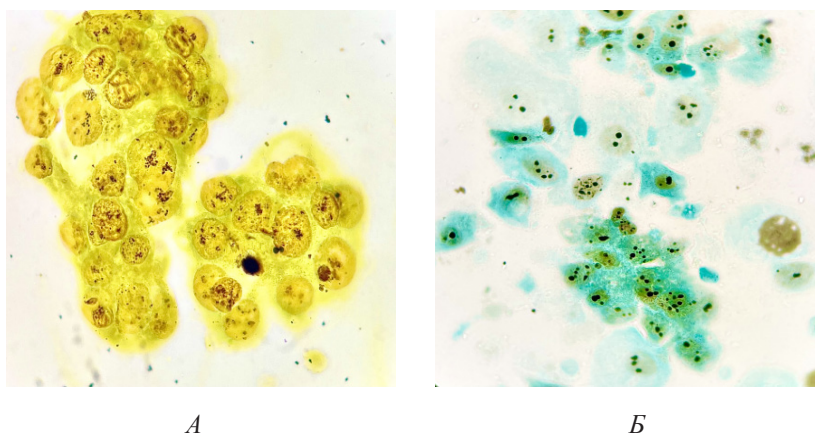


Рисунок 3 – Цитологические препараты: А – цитологический препарат, асцитическая жидкость. Специфический выпот с наличием комплексов аденокарциномы. Окраска нитратом серебра, объектив 100×; Б – цитологический препарат, осадок мочи. Уротелиальная карцинома высокой степени злокачественности. Окраска нитратом серебра, окраска фона Fastgreen, объектив 40×

Вместе с тем ШИК-реакция используется при изучении ряда опухолевых заболеваний, при которых происходит накопление муцина, например, в дифференциальной цитологической диагностике перстневидно-клеточного рака, в результате гликоген окрашивается в препаратах в красные цвета (рисунки 4А, 4Б).

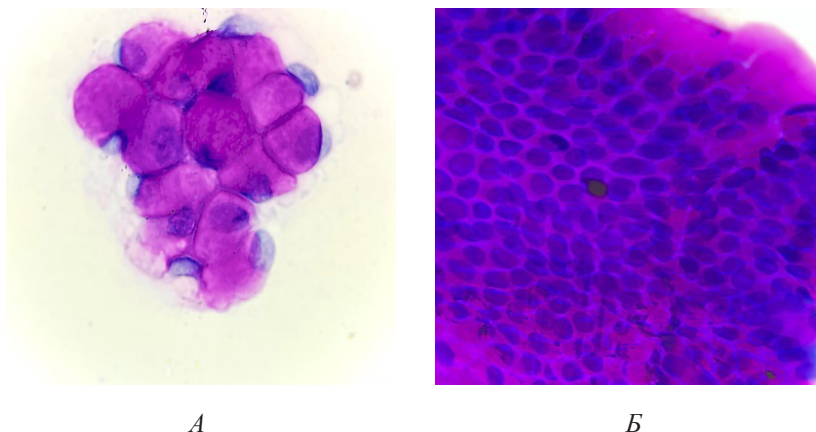


Рисунок 4 – Цитологические препараты: А – цитологический препарат, отпечаток слизистой оболочки желудка. Комплекс аденкарциномы (перстневидно-клеточный рак);
Б – цитологический препарат, мазок-отпечаток слизистой оболочки желудка. Группы клеток железистого эпителия с признаками энтеролизаии, ШИК-реакция, объектив 100×

В качестве альтернативы методу ИГХ, когда нет возможности получить гистологический материал, может быть предложен метод определения экспрессии молекулярных маркеров на цитопрепаратах – иммуноцитохимический метод (рисунки 5А, 5Б).

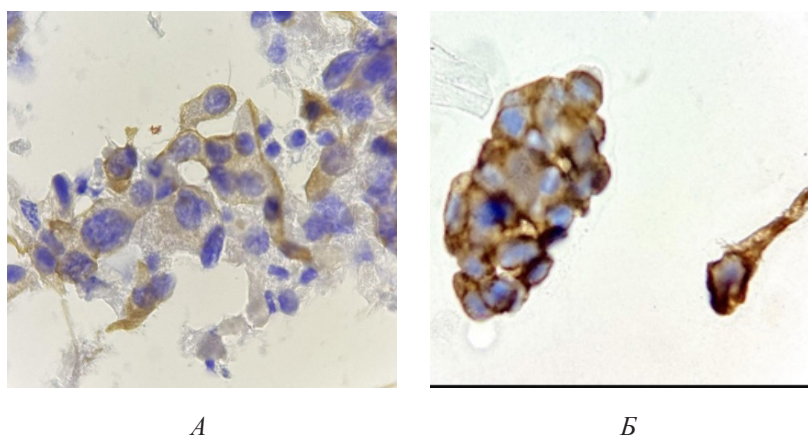


Рисунок 5 – Цитологические препараты: А, Б – цитологический препарат, осадок мочи. Уротелиальная карцинома высокой степени злокачественности, СК 20+, окраска гематоксилином, объектив 100×

Заключение

Таким образом, применяя различные методы окраски препаратов, цитологическое исследование позволяет: уточнять гистогенез новообразований, степень дифференцировки опухолевого процесса, распространенность опухоли (выявление метастазов); выявлять микробиоту, определять цитопатический эффект вирусов на клетки; осуществлять динамическое наблюдение за изменениями эпителия у лиц группы «повышенного риска», что фактически невозможно с помощью других морфологических методов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гибкость протокола окраски традиционных цитологических препаратов по Папаниколау. К вопросу стандартизации / С. В Сметанина [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2024. – № 69 (1). – С. 24–29. doi: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-1-24-29>
2. Шабалова, И. П. Основы клинической цитологической диагностики : учеб. пособие / И. П. Шабалова, Н. Ю. Полонская. – М. : ГЭОТАР-Медиа. – 2010. – 144 с.

3. Новик, В. И. О методах окраски цитологических препаратов / В. И. Новик // Новости клинической цитологии России. – 2017. – № 1 (21). – С. 9.

4. Ильина, Т. Е. Прогностическая оценка уровня экспрессии микроРНК и количества областей нуклеолярных организаторов при фолликулярной опухоли щитовидной железы неопределенного злокачественного потенциала / Т. Е. Ильина, Е. Л. Казачков // Уральский медицинский журнал. – 2023. – № 22 (2). – С. 75–83. doi: 10.52420/2071-5943-2023-22-2-74-83.

5. Гуцин, Я. А. Применение дополнительных гистологических методов окраски в доклинических исследованиях / Я. А. Гуцин // Лабораторные животные для научных исследований. – 2019. – № 4. doi: <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-04-07>

УДК 616.155.294-091.818:616.5-002.525.2]-097-002-074

Ж. В. Зубкова, И. А. Новикова, К. С. Макеева, Г. Р. Ермолицкая

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

ВЗАИМОСВЯЗЬ ТРОМБОЦИТ-АССОЦИИРОВАННОГО НЕТОЗА С ЛАБОРАТОРНЫМИ МАРКЕРАМИ АУТОИММУНИЗАЦИИ И ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

Введение

Системная красная волчанка (СКВ) – системное аутоиммунное заболевание, характеризующееся выраженной гетерогенностью в отношении этиологии, предрасполагающих факторов, механизмов патогенеза и клинических проявлений [1]. Основу патогенеза СКВ составляет продукция антител к собственным тканям организма с образованием иммунных комплексов, которые повреждают эндотелий сосудов, что приводит к развитию системного воспаления [2]. Высвобождаемые поврежденными эндотелиальными клетками триггерные факторы могут опосредовать активацию тромбоцитов, индуцировать и поддерживать воспалительный процесс [3]. В частности, известно, что тромбоциты посредством прямых контактных взаимодействий и секреции биологически активных веществ способны стимулировать образование нейтрофилами внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps, NETs), участвующих в развитии аутоиммунного воспаления при СКВ [4]. В связи с этим изучение взаимосвязей ассоциированного с тромбоцитами нетоза с маркерами аутоиммунных и воспалительных процессов у пациентов с СКВ представляется актуальным.

Цель

Изучить показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза и их взаимосвязь с маркерами аутоиммунизации и воспаления у пациентов с системной красной волчанкой.

Материал и методы исследования

В исследование включены 29 пациентов с системной красной волчанкой (28 женщин и 1 мужчина) в возрасте от 23 до 53 лет. Диагноз был установлен на основании классификационных диагностических критериев (ACR, 1997). Длительность анамнеза варьировала от 3 мес. до 25 лет. Клиническая активность оценивалась в баллах по индексам SLEDAI2K (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index, 1992). Минимальная степень активности определена у 12 (41%), умеренная – у 10 (34%) и высокая – у 7 (25%) обследуемых. Все пациенты проходили лечение в ревматологическом отделении У «Гомельская областная клиническая больница» и были обследованы в день поступления в стационар. Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц.