

ЦИТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Крысалова Т.И.^{1,2}, Калаев В.Н.², Калаева Е.А.², Игнатова И.В.²

ВЛИЯНИЕ СПОСОБА ОКРАШИВАНИЯ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЭПИТЕЛИЯ ШЕЙКИ МАТКИ

¹ БУЗ ВО «Воронежская городская клиническая поликлиника № 18» Минздрава РФ, 394074, Воронеж, Россия;

² ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Министерства науки и высшего образования РФ, 394018, Воронеж, Россия

Целью работы явилось исследование влияния окрашивания азур-эозином по Романовскому или гематоксилин-эозином препаратов многослойного плоского неороговевающего и цилиндрического эпителия шейки матки на выявляемость aberrаций и точность результатов. Обследованы 20 женщин 20-35 лет с воспалением шейки матки и эрозией, одними родами, отсутствием медицинских абортов и выкидышей в анамнезе, проживающих в районе г. Воронежа, прикрепленном к БУЗ ВО «ВГКП № 18». Цитологический материал от каждой обследуемой распределяли на 2 стекла, одно окрашивали азур-эозином, второе – гематоксилин-эозином и микроскопировали. Регистрировали клетки с одним или несколькими микроядрами, протрузиями, двумя или несколькими ядрами, ядрами атипичной формы, конденсированным хроматином и вакуолизацией ядра, апоптозными тельцами, липидными гранулами и гранулами гликогена, одной или несколькими насечками (перетяжками), перинуклеарными вакуолями, конденсированным хроматином, кариорексисом, кариопикнозом, кариолизисом и суммарную долю клеток с нарушениями. Вычисляли частоту встречаемости клеток с определенными аномалиями (%). Для многослойного плоского неороговевающего эпителия, окрашенного гематоксилин-эозином или азур-эозином, были получены сходные результаты встречаемости большинства типов аномалий кроме апоптозных телец, которые чаще обнаруживали при использовании азур-эозина, и липидных гранул и гранул гликогена, которые чаще выявляли при окрашивании гематоксилин-эозином. Цилиндрический эпителий оказался более чувствительным к выбору красителя: при использовании азур-эозина ядра с насечками, атипичной формы, перинуклеарными вакуолями, конденсацией хроматина, вакуолизированные, с началом кариолизиса, клетки с гранулами липидов и гликогена выявляли чаще, чем при применении гематоксилин-эозина. Тип красителя не оказывал существенного влияния на точность результатов. В целом азур-эозин по Романовскому представляется более предпочтительным для окрашивания клеток эпителия шейки матки. Различия результатов анализа, связанные с использованием определенного типа красителя, необходимо учитывать при проведении скрининговых исследований и постановке диагноза.

Ключевые слова: многослойный плоский неороговевающий эпителий; цилиндрический эпителий; аномалии ядра; азур-эозин по Романовскому-Гимзе, гематоксилин-эозин.

Для цитирования: Крысалова Т.И., Калаева Е.А., Калаев В.Н., Игнатова И.В. Влияние способа окрашивания на результаты цитологического исследования эпителия шейки матки. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (4): 215-223. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-4-215-223>

Для корреспонденции: Калаева Елена Анатольевна, канд. биол. наук, доцент; e-mail: kalaevae@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 09.02.2023

Принята к печати 10.03.2023

Опубликовано 00.04.2023

Krysalova T.I.^{1,2}, Kalaeva E.A.¹, Kalaev V.N.¹, Ignatova I.V.¹

THE INFLUENCE OF THE METHOD OF STAINING ON THE RESULTS OF CYTOLOGICAL STUDY OF THE CERVICAL EPITHELIUM

¹ Voronezh City Clinical Polyclinic No. 18 Ministry of Health of the Russian Federation, 394074, Voronezh, Russia;

² Voronezh State University Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, 394018, Voronezh, Russia

The aim of the work was to study the effect of staining with azure-eosin according to Romanovsky or hematoxylin-eosin of preparations of stratified squamous nonkeratinizing and cylindrical epithelium of the cervix on the detection of aberrations and the accuracy of the results. We examined 20 women aged 20-35 years with cervical inflammation and erosion, one childbirth, no medical abortions and miscarriages in history, living in the area of Voronezh, attached to the polyclinic No. 18. Cytological material from each subject was distributed on two slides, one was stained with azure-eosin, the second – with hematoxylin-eosin. Cells with micronuclei, protrusions, nuclei, atypically shaped nuclei, condensed chromatin, nuclear vacuolization, apoptotic bodies, lipid and glycogen granules, notches, perinuclear vacuoles, condensed chromatin, karyorrhexis, karyopyknosis, karyolysis and the total proportion of cells with disorders were registered. The frequency of occurrence of cells with certain anomalies (%) was calculated. For stratified squamous nonkeratinized epithelium stained with hematoxylin-eosin or azure-eosin, similar results were obtained, except for apoptotic bodies, which were more often when using azure-eosin, and lipid and glycogen granules, which were more often with hematoxylin-eosin. Cylindrical epithelium turned out to be more sensitive to the choice of dye: when using azure-eosin, nuclei with notches, atypical shape, perinuclear vacuoles, chromatin condensation, vacuolated, karyolysis, lipid and glycogen granules were detected more often than when using hematoxylin-eosin. The type of dye did not significantly affect the results accuracy. In general, azure-eosin seems to be more preferable for staining cervical

epithelial cells. Differences in the results of the analysis must be taken into account when conducting screening studies and making a diagnosis.

Key words: *stratified squamous nonkeratinized epithelium; cylindrical epithelium; nucleus anomalies; azure-eosin according to Romanovsky-Giemsa, hematoxylin-eosin.*

For citation: Krysalova T.I., Kalaeva E.A., Kalaev V.N., Ignatova I.V. The influence of the method of staining on the results of cytological study of the cervical epithelium. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (4): (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-4->

For correspondence: *Kalaeva Elena Anatolyevna*, Ph.D. Biol. Sci., Associate Professor; e-mail: kalaevae@gmail.com

Information about authors:

Krysalova T.I., <https://orcid.org/0000-0002-6360-5088>;
Kalaeva E.A., <https://orcid.org/0000-0002-3668-0816>;
Kalaev V.N., <https://orcid.org/0000-0002-4247-4509>;
Ignatova I.V., <https://orcid.org/0000-0003-3504-0304>.

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 09.02.2023

Accepted 10.03.2023

Published 00.04.2023

Введение. Молекулярные методы диагностики постепенно вытесняют цитологические из протоколов скрининга, однако цитологическое исследование относится к основным методам диагностики состояния шейки матки [1-4]. Цитологический анализ не только является основой ранней диагностики злокачественных новообразований и предопухолевых трансформаций, но и позволяет обнаружить косвенные признаки HPV-инфекции, HSV-инфекцию, *Cytomegalovirus* и другую фоновую патологию шейки матки [5-6]. В последние десятилетия ведется интенсивная разработка методов раннего выявления и диагностики диспластических состояний, рака шейки матки [7-11] и атипии железистого эпителия [12-14], активно дорабатывается классификация Bethesda для цервикальной жидкостной цитологии [15-17]. Разные авторы и лаборатории проводят исследования с использованием различных ядерных красителей, что может отразиться на результатах выявляемости отдельных патологий [18-20]. Влияние красителей на частоту встречаемости клеток с нарушениями было описано рядом авторов. Так, Т.С. Колмаковой и соавт. [21] было изучено влияние клеточных красителей на частоту встречаемости аберрантных клеток, микроядер, феномена «разбитого яйца», кариопикноза, кариорексиса, двуядерных клеток, амитоza, лизиса. В.Н. Калаев и соавт. [22, 23] показали, что оптимальным красителем для выявления ядерных аномалий в клетках буккального эпителия человека является азур-эозин по Романовскому – Гимзе. И.В. Юрасова и соавт. [24] отмечали неодинаковое качество окрашивания ядерного и стромального компонентов при использовании разных красителей. Однако, В.И. Новик [25] указывал, что при проведении плоидометрических измерений на препаратах эпителия шейки матки, окрашенных гематоксилин-эозином и переокрашенных по Фельгену, результаты совпадают. В России во многих цитологических лабораториях основным способом окрашивания микропрепаратов является азур-эозин по Романовскому и гематоксилин-эозин. Преимущества окрашивания азур-эозином по Романовскому описаны в работах некоторых авторов [7, 26, 27]. В рабо-

те И.П. Шабаловой [5] отмечено, что у окрашивания азур-эозином по Романовскому и гематоксилин-эозином есть как свои преимущества, так и недостатки. Рекомендации по окрашиванию цитологических препаратов в РФ отражены в ГОСТ Р 57005-2016 и ГОСТ Р 1.0-2012. Однако в проанализированной нами литературе не обнаружено данных о влиянии окрашивания азур-эозином по Романовскому и гематоксилин-эозином на частоту выявления клеток с аномалиями и на точность полученных результатов.

В связи с этим целью нашей работы был сравнительный анализ встречаемости аберрантных клеток в многослойном плоском неороговевающем эпителии и цилиндрическом эпителии шейки матки при окрашивании азур-эозином по Романовскому и гематоксилин-эозином. Решение этой задачи позволит выбрать оптимальный способ окрашивания для выявления клеточных и ядерных аномалий в эпителиальных клетках.

Материал и методы. Сбор и анализ материала для исследования проводили на базе БУЗ ВО «ВГКП № 18». Были обследованы 20 женщин 1988-1997 года рождения. Критериями включения в группу были: возраст 20-35 лет, наличие воспаления шейки матки и эрозии, в анамнезе одни роды, отсутствие абортов, выкидышей, проживание в районе г. Воронежа, территориально прикрепленном к БУЗ ВО «ВГКП № 18». Забор материала производили в середине менструального цикла. От всех пациенток было получено добровольное, информированное согласие на обследование.

Перед получением материала шейку матки обнажали в зеркалах, никаких манипуляций не производили: шейку ничем не смазывали, слизь не удаляли или, если слизи много, удаляли ее частично тампоном, не надавливая на шейку. Щетку вводили в наружный зев шейки матки, осторожно направляя центральную часть щетки по оси цервикального канала. Затем щетку-наконечник поворачивали на 360° по часовой стрелке от 3-х до 5-ти раз, для получения достаточного количества клеток с эктоцервикса, эндоцервикса и зоны трансформации. Щетки выводили и распределяли материал тонким слоем по предметному стеклу. Параметры стандартного нанесения мазка:

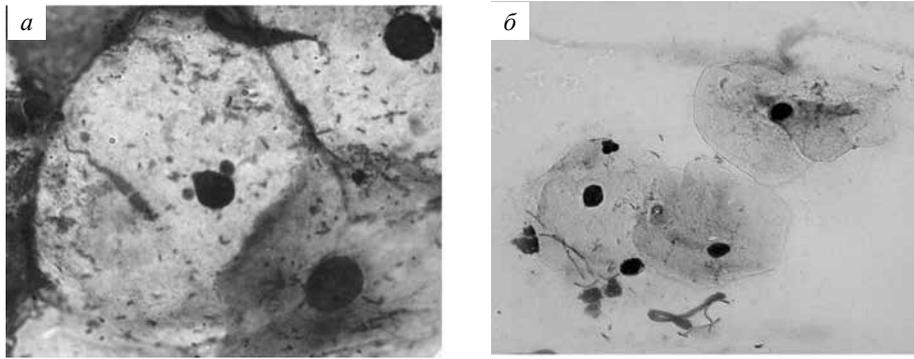


Рис. 1. Поверхностные клетки многослойного плоского неороговевающего эпителия. Окрашивание азур-эозином по Романовскому. *а* – Ув. $\times 1000$, масляная иммерсия; *б* – Ув. $\times 400$.

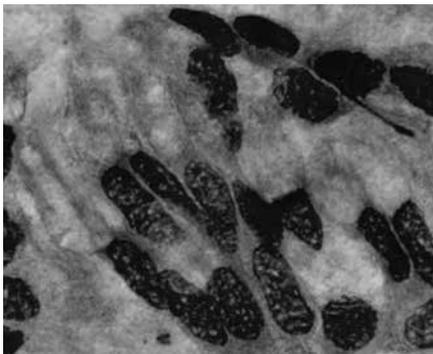


Рис. 2. Клетки цилиндрического эпителия. Окрашивание азур-эозином по Романовскому. Ув. $\times 1000$ (масляная иммерсия).

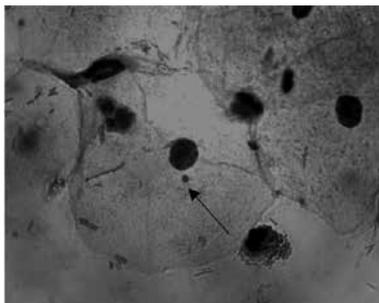


Рис. 3. Поверхностная клетка многослойного плоского неороговевающего эпителия с микроядром (отмечено стрелкой). Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. $\times 1000$ (масляная иммерсия).

начало мазка на расстоянии 1–1,5 см от узкого края предметного стекла, конец – на расстоянии 2–2,5 см от противоположного края. У каждой женщины брали анализ на два стекла. После нанесения клеточный материал высушивали на воздухе (сухая фиксация) и затем окрашивали: одно стекло по Романовскому (азур-эозиновой смесью) [28], а второе – гематоксилин-эозином [28, 29]. Анализ препаратов осуществляли на микроскопе Микмед-6 (ЛОМО, Россия). Фотографии делали при помощи цифровой камеры Leica DFC 295 (Leica Microsystems AG, Германия). На каждом препарате анализировали не менее 1000 клеток многослойного плоского неороговевающего эпителия и 500 клеток цилиндрического эпителия. Всего было проанализировано 40 микропрепаратов (40 000 клеток многослойного плоского неорогове-

вающего эпителия и 20 000 клеток цилиндрического эпителия). Для каждого микропрепарата вычисляли частоту встречаемости клеток с аномалиями ядра в многослойном плоском неороговевающем эпителии и цилиндрическом эпителии как отношение числа клеток с той или иной аберрацией к общему числу проанализированных клеток (%).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Stadia 7.0 Professional (InCo, Россия). Группировку данных и их обработку осуществляли согласно рекомендациям [30]. Вычисляли среднее, медиану, ошибку среднего, определяли 95-% доверительный интервал среднего. Сравнение выборок проводили с использованием непараметрического критерия Ван-дер-Вардена, так как распределение частот встречаемости аберрантных клеток не подчинялось нормальному закону. Сравнение разбросов значений выборок осуществляли с использованием критерия Ансари-Бредли. Сравнение частот встречаемости отдельных типов аномалий в спектре нарушений осуществляли с использованием Z -аппроксимации для критерия равенства частот. Нулевую гипотезу отвергали при $p < 0,05$.

Результаты. Препараты лучшего качества получали при применении азур-эозина по Романовскому – Гимзе: окрашивание было однородным, насыщенным и глубоким; клетки имели четкие края; просматривалась структура хроматина, детали строения ядра и цитоплазмы; в цитоплазме клеток были отчетливо видны секреторные гранулы, микроядра; слизь окрашивалась в розовый цвет (рис. 1, *а*, *б*, рис. 2); при наличии идентифицировалась бактериальная флора и простейшие.

В препаратах многослойного плоского неороговевающего эпителия при окрашивании азур-эозином по Романовскому и гематоксилин-эозином были обнаружены следующие клеточные формы: клетка с нормальным ядром, клетка с микроядром (рис. 3), клетка с несколькими микроядрами (рис. 4), ядро с протрузией, ядро с несколькими протрузиями, клетка с микроядрами и протрузиями, двуядерная клетка, ядро с насечкой (перетяжкой), ядро с несколькими насечками (перетяжками), ядро атипичной формы, ядро с перинуклеарными вакуолями, ядро с конденсированным хроматином, клетка с конденсированным хроматином и вакуолизированным ядром, кариорексис, ка-

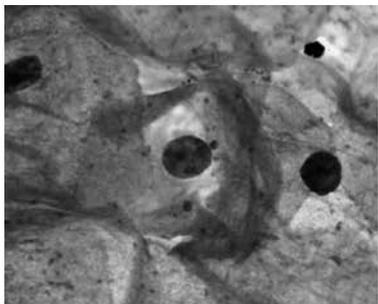


Рис. 4. Клетка многослойного плоского неороговевающего эпителия с несколькими микроядрами. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. x1000 (масляная иммерсия).

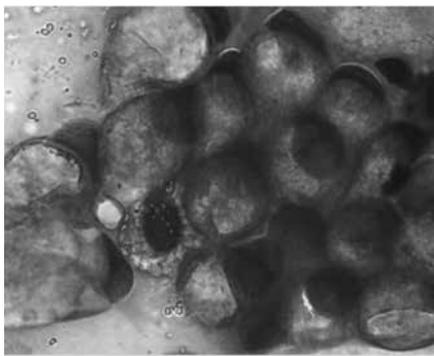


Рис. 5. Клетка цилиндрического эпителия с нормальным ядром. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. x1000 (масляная иммерсия).

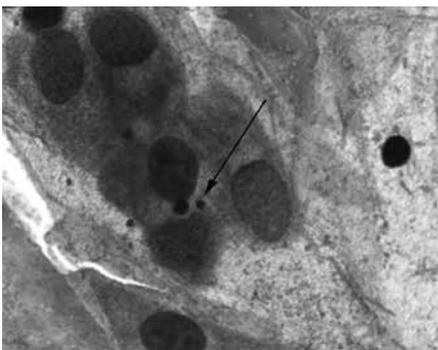


Рис. 6. Микроядро (отмечено стрелкой) в клетке цилиндрического эпителия. Окрашивание гематоксилин-эозином. Ув. x1000 (масляная иммерсия).

риопикноз, начало кариолизиса, ядро с апоптозными тельцами, клетка с липидными гранулами и гранулами гликогена в цитоплазме.

Частота встречаемости клеток с ядерными аномалиями в многослойном плоском неороговевающем эпителии шейки матки представлена в табл. 1. При окрашивании азур-эозином по Романовскому в микропрепаратах чаще выявляли клетки с апоптозными тельцами ($p < 0,01$), а при окрашивании гематоксилин-эозином – клетки с липидными гранулами и гранулами гликогена ($p < 0,001$). Различий между частотой встречаемости остальных типов аберраций в образцах, окрашенных азур-эозином и гематоксилин-эозином, не было выявлено.

Коэффициенты вариации частоты встречаемости клеток с микроядрами и протрузиями при окрашивании гематоксилин-эозином и азур-эозином по Романовскому достоверно различались ($p < 0,05$). Для остальных видов клеточных аномалий различий коэффициентов вариации выявлено не было (табл. 1).

Спектры ядерных аберраций в клетках многослойного плоского неороговевающего эпителия шейки матки при различных способах окрашивания представлены в табл. 2. Наиболее распространенным нарушением, обнаруживаемым при окрашивании как азур-эозином, так и гематоксилин-эозином, были ядра с кариопикнозом (32,41 и 30,19 %, соответственно, различия достоверны, $p < 0,001$). Следующими по частоте встречаемости нарушениями были: конденсация хроматина, апоптозные тельца, конденсация хроматина и вакуолизированное ядро, липидные гранулы и гранулы гликогена в цитоплазме.

В цилиндрическом эпителии шейки матки при окрашивании азур-эозином по Романовскому и гематоксилин-эозином были выявлены следующие клеточные формы: клетки с нормальными ядрами (рис. 5), клетка с микроядром (рис. 6), ядро с протрузиями, многоядерная клетка, ядро с насечками (перетяжками), ядро атипичной формы, ядро с перинуклеарными вакуолями, ядро с краевой конденсацией хроматина, ядро с конденсированным хроматином, клетка с конденсированным хроматином и вакуолизированным ядром, начало кариолизиса, кариопикноз, клетка с гранулами секрета в цитоплазме.

Частота встречаемости клеток с ядерными аномалиями в цилиндрическом эпителии шейки матки представлена в табл. 3. При окрашивании азур-эозином по Романовскому чаще, чем при окрашивании гематоксилин-эозином выявляли клетки с ядром атипичной формы ($p < 0,05$); ядром с насечками ($p < 0,05$); конденсированным хроматином и вакуолизацией ядра ($p < 0,05$); началом кариолизиса ($p < 0,05$); гранулами секрета ($p < 0,05$). Суммарно доля клеток с нарушениями была также выше при окрашивании азур-эозином по Романовскому ($p < 0,001$).

Различия коэффициентов вариации при использовании разных способов окрашивания были выявлены для следующих показателей: ядра с протрузиями, многоядерные клетки, ядра с насечками (см. табл. 3).

Спектры аномалий ядра в клетках цилиндрического эпителия шейки матки, выявляемых при окрашивании азур-эозином и гематоксилин-эозином, представлены в табл. 4. При окрашивании по Романовскому-Гимза в спектре преобладали клетки с конденсированным хроматином и вакуолизацией ядра, с конденсированным хроматином, с гранулами секрета в цитоплазме. При окрашивании препаратов цилиндрического эпителия шейки матки гематоксилин-эозином в спектре нарушений преобладали клетки с ядром с конденсированным хроматином, с конденсированным хроматином и вакуолизацией ядра, с ядром атипичной формы.

Различия в спектрах встречаемости нарушений в клетках цилиндрического эпителия шейки матки при различных способах окрашивания отмечены

Таблица 1

Частота встречаемости клеток с аномалиями в многослойном плоском неороговевающем эпителии шейки матки при различных способах окрашивания

Типы клеточных нарушений	Окраска азур-эозином по Романовскому-Гимзе (n=20)		Окраска гематоксилин-эозином (n=20)	
	X±m, %, Me, 95% CI	CV, %	X±m, %, Me, 95% CI	CV, %
Клетка с микроядром	5,00 ± 1,21 2,50 2,49 – 7,51	108,40	5,50 ± 0,98 4,00 3,47 – 7,53	79,64
Клетка с несколькими микроядрами	0,80 ± 0,34 0 0,09 – 1,51	192,50	0,75 ± 0,38 0 0 – 1,54	228,00
Ядро с протрузией	8,35 ± 1,13 9,00 6,02 – 10,68	60,48	7,65 ± 1,18 7,50 5,22 – 10,08	68,76
Ядро с несколькими протрузиями	1,75 ± 0,78 0,50 0,14 – 3,36	199,43	1,75 ± 0,73 0 0,24 – 3,26	186,28
Клетка с микроядрами и протрузиями	0,65 ± 0,38 0 0 – 1,43	260,00	0,70 ± 0,37 0 0 – 1,47	237,14*
Двуядерная клетка	0,90 ± 0,27 0 0,34 – 1,46	134,44	0,60 ± 0,27 0 0,03 – 1,17	205,00
Ядро с насечкой (перетяжкой)	0,85 ± 0,30 0 0,23 – 1,47	158,82	0,60 ± 0,22 0 0,14 – 1,06	165,00
Ядро с несколькими насечками (перетяжками)	0,10 ± 0,07 0 0 – 0,24	310,00	не обнаружено	–
Ядро атипичной формы	5,40 ± 1,61 3,00 2,07 – 8,73	133,33	4,50 ± 1,38 1,00 1,65 – 6,15	136,89
Ядро с перинуклеарными вакуолями	2,40 ± 1,01 0 0,29 – 4,51	190,00	2,05 ± 0,65 0,50 0,70 – 3,40	141,95
Ядро с конденсированным хроматином	103,70 ± 14,38 87,00 77,56 – 137,04	59,93	105,20 ± 21,97 92,50 59,76 – 150,64	93,40
Клетка с конденсированным хроматином и вакуолизацией ядра	37,90 ± 6,10 25,00 25,29 – 50,51	71,93	40,90 ± 9,78 25,00 20,67 – 61,13	106,94
Кариорексис	4,65 ± 3,16 0 0 – 11,18	303,44	5,05 ± 3,26 0 0 – 11,80	288,91
Кариопикноз	140,40 ± 30,05 92,00 78,25 – 202,55	95,73	115,30 ± 22,27 79,00 69,25 – 161,35	86,36
Начало кариолизиса	28,20 ± 7,60 15,00 12,48 – 43,92	120,53	26,40 ± 5,86 15,50 14,29 – 38,51	99,24
Апоптозные тельца	85,35 ± 25,67 56,00** 32,25 – 138,45	134,50	59,45 ± 18,24 28,00 21,73 – 97,71	137,21
Клетка с липидными гранулами и гранулами гликогена	3,15 ± 1,54 0*** 0 – 6,33	218,41	5,35 ± 2,13 0,50 0,95 – 9,75	177,76
Доля клеток с нарушениями	376,30 ± 30,66 353,50 312,90 – 439,70	36,43	381,70 ± 33,54 371,00 312,34 – 451,06	39,30

Примечание. Здесь и в табл. 2 – 4: n – число проанализированных микропрепаратов; различия между способами окрашивания достоверны: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Таблица 2

Спектры ядерных аберраций в многослойном плоском неороговевающем эпителии шейки матки, выявляемых при различных способах окрашивания

Типы ядерных аномалий, %	Окраска азур-эозином по Романовскому-Гимзе (n=20)	Окраска гематоксилин-эозином (n=20)
Клетка с микроядром	1,15	1,44
Клетка с несколькими микроядрами	0,18	0,20
Ядро с протрузией	1,93	2,00
Ядро с несколькими протрузиями	0,40	0,46
Клетка с микроядрами и протрузиями	0,15	0,18
Двухъядерная клетка	0,21	0,16
Ядро с насечкой (перетяжкой)	0,20	0,16
Ядро с несколькими насечками (перетяжками)	0,02	–
Ядро атипичной формы	1,25	1,18
Ядро с перинуклеарными вакуолями	0,55	0,54
Ядро с конденсированным хроматином	24,77	27,56***
Клетка с конденсированным хроматином и вакуолизацией ядра	8,75	10,71***
Кариорексис	1,07	1,32
Кариопикноз	32,41	30,19***
Начало кариолизиса	6,51	6,92
Апоптозные тельца	19,71	15,57***
Клетка с липидными гранулами и гранулами гликогена	0,73	1,40***
Всего клеток с нарушениями	8661	7634

Таблица 3

Частота встречаемости клеток с аномалиями в цилиндрическом эпителии шейки матки при различных способах окрашивания

Типы клеточных нарушений	Окрашивание азур-эозином по Романовскому-Гимзе (n=20)		Окраска гематоксилин-эозином (n=20)	
	X±m, %, Ме, (95% CI)	CV, %	X±m, %, Ме, (95% CI)	CV, %
Микроядро	1,60 ± 0,47	131,87	1,40 ± 0,48	154,28
	0		0	
	0,62 – 2,58		0,40 – 2,40	
Ядро с протрузиями	32,70 ± 3,23	44,13	32,10 ± 2,10	29,25*
	34,00		32,00	
	26,03 – 39,37		27,76 – 36,44	
Многоядерная клетка	0,90 ± 0,45	222,22	0,40 ± 0,23	262,50***
	0		0	
	0 – 1,82		0 – 0,88	
Ядро с насечками (перетяжками)	29,20 ± 2,32	36,06	23,70 ± 1,56	29,41**
	28,00*		25,00	
	24,33 – 34,07		20,48 – 26,92	
Ядро атипичной формы	51,80 ± 9,74	84,15	41,00 ± 10,87	118,51
	40,00*		25,00	
	31,64 – 71,96		18,53 – 63,47	
Ядро с перинуклеарными вакуолями	14,40 ± 2,85	88,61	9,70 ± 1,31	60,31
	10,00		10,00	
	8,50 – 20,30		6,99 – 12,41	
Ядро с краевой конденсацией хроматина	7,80 ± 2,21	126,67	6,50 ± 2,80	196,46
	5,00		4,00	
	3,23 – 12,37		0,71 – 12,29	
Ядро с конденсированным хроматином	221,00 ± 44,97	90,99	220,00 ± 47,32	96,18
	135,00		105,00	
	127,99 – 314,01		122,13 – 317,87	

Продолжение табл. 3 см. 221.

Типы клеточных нарушений	Окрашивание азур-эозином по Романовскому-Гимзе (n=20)		Окраска гематоксилин-эозином (n=20)	
	X±m, %, Me, (95% CI)	CV, %	X±m, %, Me, (95% CI)	CV, %
Клетка с конденсированным хроматином и вакуолизацией ядра	290,50 ± 35,09 290,00* 217,93 – 363,07	54,01	219,00 ± 35,58 200,00 145,40 – 292,60	72,65
Начало кариолизиса	17,80 ± 0,90 17,00* 15,93 – 19,67	22,75	12,90 ± 0,77 13,00 11,30 – 14,50	26,82
Кариопикноз	5,10 ± 0,49 6,00 4,08 – 6,12	43,14	5,40 ± 0,33 6,00 4,72 – 6,08	27,04
Клетка с гранулами секрета	79,80 ± 10,45 68,00* 58,18 – 101,42	58,58	16,70 ± 2,04 15,00 12,47 – 20,93	54,73
Доля клеток с нарушениями	752,60 ± 61,31 707,00*** 625,80 – 879,40	36,43	588,80 ± 58,34 562,00 468,10 – 709,50	44,31

Таблица 4

Спектры клеточных нарушений в цилиндрическом эпителии шейки матки, выявляемых при различных способах окрашивания

Виды ядерных патологий, %	Окрашивание азур-эозином по Романовскому (n=20)	Окрашивание гематоксилин-эозином (n=20)
Клетка с микроядром	0,21	0,24
Ядро с протрузиями	4,34	5,45**
Многоядерная клетка	0,12	0,07
Ядро с насечками (перетяжками)	3,88	4,02
Ядро атипичной формы	6,88	6,96
Ядро с перинуклеарными вакуолями	1,91	1,65
Ядро с краевой конденсацией хроматина	1,04	1,10
Ядро с конденсированным хроматином	29,36	37,36***
Клетка с конденсированным хроматином и вакуолизацией ядра	38,60	37,19
Начало кариолизиса	2,36	2,19
Кариопикноз	0,68	0,92
Клетка с гранулами секрета	10,60	2,84***
Всего клеток с нарушениями	7526	5888

по следующим типам аномалий: ядро с протрузиями ($p < 0,01$), ядро с конденсированным хроматином ($p < 0,001$), клетки с гранулами секрета ($p < 0,01$).

Обсуждение. При окрашивании многослойного плоского неороговевающего эпителия шейки матки гематоксилин-эозином и азур-эозином по Романовскому – Гимзе были получены сходные значения встречаемости большинства типов аномалий. Исключение составили клетки с апоптозными тельцами, которые чаще обнаруживали при использовании азур-эозина по Романовскому, и клетки с липидными гранулами и гранулами гликогена, которые чаще выявляли при окрашивании гематоксилин-эозином. Разброс результатов определения частоты встречаемости клеток с микроядрами и протрузиями в многослойном плоском неороговевающем эпителии был немного ниже при использовании гематоксилин-эозина; для остальных аномалий различий в разбросах не было выявлено. При окрашивании клеток цилиндрического эпителия азур-эозином по Романовскому было обнаруже-

но большее количество нарушений: чаще выявляли клетки с ядром с насечками (перетяжками), ядрами атипичной формы, перинуклеарными вакуолями, началом кариолизиса, гранулами секрета в цитоплазме. Точность определения частот встречаемости ядерных протрузий и ядер с насечками была выше при использовании гематоксилин-эозина. Таким образом, цилиндрический эпителий оказался более чувствительным к выбору красителя, чем многослойный плоский неороговевающий эпителий, так как при использовании азур-эозина ряд клеточных патологий выявлялся чаще, чем при применении гематоксилин-эозина. При этом тип красителя не оказывал существенного влияния на точность результатов. В целом, по нашему мнению, окраска азур-эозином по Романовскому более предпочтительна для окрашивания клеток многослойного плоского неороговевающего и цилиндрического эпителия шейки матки. Этот краситель позволяет получить более четко и контрастно окрашенные микропрепараты, выявить большее количество нару-

шений и более полно раскрыть их спектр. Различия результатов микроядерного анализа, связанные с использованием того или иного способа окрашивания, необходимо учитывать при проведении скрининговых исследований и при постановке диагноза.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 7, 9, 10, 12-16, 29
см. REFERENCES)

1. Короленкова Л. И., Завольская Ж. А., Лешкина Г. В. Новые возможности молекулярного тестирования в цервикальном скрининге и ранней диагностике предрака и рака шейки матки (по материалам клинических рекомендаций «Цервикальная интраэпителиальная неоплазия, эрозия и эктропион шейки матки» Минздрава России от 2020 года). *Медицинский оппонент*. 2020; 3 (11): 12–8.
2. Максимова Д.Ж., Гаппар Г., Зайдин Г., Куандык А., Кулжабеков А., Мыктыбек А. и др. Организация и система скрининговых мероприятий рака шейки матки (обзор литературы). *Medicus*. 2021; 3(39): 15-24.
3. Кiek М.А. К вопросу о ранней диагностике дисплазии и рака шейки матки. *Universum: медицина и фармакология*. 2021; 3-4(76): 4-7. DOI: 10.32743/UniMed.2021.76.3-4.4-7.
4. Игонина С.В., Горшкова А.В., Юминова О.В., Степанова Э.Г., Караваева А.Б., Шишкина В.А. и др. Цитологическое исследование в диагностике предраковых заболеваний шейки матки с позиции доказательной медицины. *Здоровье, демография, экология финно-угорских народов*. 2022; 1: 55-7.
5. Шабалова И.П., Ледина А.В., Созаева Л.Г., Шипулина. О.Ю., Космачёва Н.В., Серегина П.Е. и др. Рак шейки матки в XXI веке: гинеколог, клинический цитолог, специалист по молекулярным исследованиям. *Новости клинической цитологии России*. 2018; 22(3–4): 31-6.
6. Байрамова Г.Р., Баранов И.И., Ежова Л.С., Трофимов Д.Ю., Припутневич Т.В., Амирханян А.С. Плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки: возможности ранней диагностики и тактики ведения пациенток. *Доктор.Ру*. 2019; 11(166): 61-7. DOI: 10.31550/1727-2378-2019-166-11-61-67.
8. Новик В.И. Скрининг и дифференциальная цитоморфологическая диагностика рака шейки матки. СПб: Ладога; 2012.
11. Цитология жидкостная и традиционная при заболеваниях шейки матки. Цитологический атлас. Шабалова И.П., Касоян К.Т., ред. М.-Тверь: Триада; 2016.
17. Кирьянов Н.А., Суханов С.А. Цитологическая диагностика болезней шейки матки. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020; 10(3): 95.
18. Толибова Г.Х., Петросян М.А., Полякова В.О., Кветной И. М. Сравнительная оценка эффективности применения традиционной цитологии и автоматизированной жидкостной цитологической технологии NOVAPREP при диагностике предопухольных состояний шейки матки. *Новости клинической цитологии России*. 2012; 16(3-4): 14-7.
19. Рахматулина М.Р., Семенов А.В. Сравнительный анализ методов диагностики и терапии клинических проявлений папилломавирусной инфекции. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2015; 1: 46-53.
20. Кононова И.Н., Башмакова Н.В., Вайнберг Э.И., Ребрикова Л.Н., Борисевич Г.А., Мартемьянова В.В. и др. Оценка дискордантных результатов цитологического исследования цервикального эпителия, обработанного традиционным методом и методом жидкостной цитологии. *Акушерство и гинекология*. 2020; S1: 86-92. DOI: 10.18565/aig.2020.1suppl.86-92.
21. Колмакова Т.С., Белик С.Н., Моргуль Е.В., Севрюков А.В. Использование микроядерного теста для оценки эффективности лечения аллергии у детей. Ростов на-Дону : Ростовский государственный медицинский университет; 2013.
22. Калаев В.Н., Артюхов В.Г., Нечаева М.С. Частота встречаемости клеток с морфологически аномальными ядрами в буккальном эпителии человека при разных способах окрашивания. *Цитология*. 2012; 54(1): 78-84.
23. Калаев В. Н., Артюхов В. Г., Нечаева М.С. Микроядерный тест буккального эпителия ротовой полости человека: проблемы, достижения, перспективы. *Цитология и генетика*. 2014; 48(6): 398-414.
24. Юрасова И.В., Соколова Н.В., Нажимов В.П. Проблемы повышения эффективности цитологического исследования аспиратов эндометрия. *Новости клинической цитологии России*. 2015; 19(1-2): 3-7.
25. Новик В.И. Использование анализа микроизображений как метода уточняющей цитологической диагностики цервикальной интраэпителиальной неоплазии шейки матки. *Новости клинической цитологии России*. 2019; 23(2): 12-6.
26. Новик В.И. О методах окраски цитологических препаратов. *Новости клинической цитологии России*. 2017; 21(1-2): 9-10.
27. Полонская Н.Ю., Юрасова И.В. Цитологическое исследование цервикальных мазков – Пап-тест. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016.
28. Гилл Г.У. Клиническая цитология. Теория и практика цитологии. Пер. с англ. Безруков А.В., Касоян К.Т., ред. М.: Практическая медицина; 2015.
30. Кулаичев А.П. Методы и средства комплексного анализа данных. М.: ФОРУМ: ИНФРА-М; 2006.

REFERENCES

1. Korolenkova L. I., Zavol'skaya Zh. A., Leshkina G. V. New opportunities for molecular testing in cervical screening and early diagnosis of precancer and cervical cancer (based on the clinical guidelines "Cervical intraepithelial neoplasia, erosion and ectropion of the cervix" of the Ministry of Health of Russia of 2020). *Meditsinskiy opponent*. 2020; 3 (11): 12–8. (in Russian)
2. Maksutova D.Zh., Gappar G., Zaydin G., Kuandyk A., Kulzhabekov A., Myktybek A. et al. Organization and system of screening measures for cervical cancer (review). *Medicus*. 2021; 3(39): 15-24. (in Russian)
3. Kiek M. A. On the issue of early diagnosis of dysplasia and cervical cancer. *Universum: meditsina i farmakologiya*. 2021; 3-4(76): 4-7. DOI 10.32743/UniMed.2021.76.3-4.4-7. (in Russian)
4. Igonina S.V., Gorshkova A.V., Yuminova O.V., Stepanova Ye.G., Karavaeva A.B., Shishkina V.A. et al. Cytological study in the diagnosis of precancerous diseases of the cervix from the standpoint of evidence-based medicine. *Zdorov'e, demografiya, ekologiya finno-ugorskikh narodov*. 2022; 1: 55-7. (in Russian)
5. Shabalova I.P., Ledina A.V., Sozaeva L.G., Shipulina. O.Yu., Kosmachyova N.V., Seregina P.E. et al. Cervical Cancer in the 21st Century: Gynecologist, Clinical Cytologist, Molecular Researcher. *Novosti klinicheskoy tsitologii Rossii*. 2018; 22(3–4):31-6. (in Russian)
6. Bayramova G.R., Baranov I.I., Ezhova L.S. Trofimov D.Yu., Priputnevich T.V., Amirkhanyan A.S. Squamous intraepithelial lesions of the cervix: the possibility of early diagnosis and management of patients. *Doktor.Ru*. 2019; 11(166): 61-7. DOI: 10.31550/1727-2378-2019-166-11-61-67. (in Russian)
7. Ince U., Aydin O., Peker O. Clinical importance of «low-grade squamous intraepithelial lesion, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL-H)» terminology for cervical smears 5-year analysis of the positive predictive value of LSIL-H compared with ASC-H, LSIL, and HSIL in the detection of high-grade cervical lesions with a review of the literature. *Gynecol. Oncol*. 2011; 121:152-6.
8. Novik V.I. Screening and differential cytomorphological diagnosis of cervical cancer [Skrining i differentsial'naya tsitomorfoloicheskaya diagnostika raka sheyki matki]. St. Petersburg: Ladoga; 2012. (in Russian)
9. Schiffman M., Solomon D. Cervical-cancer screening with human papillomavirus and cytologic contesting. *N. Engl. J. Med*. 2013; 369:2324-31.
10. Cormier K., Schaaf M., Hamilton S., Tickman R.J., Perez-Reyes N., Sturgis C.D. NILM Pap slides from women 30 years of age and older with positive high-risk HPV DNA. Focused rescreening prior to report issuance, an enhancer quality control measure. *Am. J. Clin. Pathol*. 2014; 141: 494-500.

11. Cytology liquid and traditional in diseases of the cervix. Cytological atlas [Tsitologiya zhidkostnaya i traditsionnaya pri zabolevaniyakh sheyki matki. Tsitologicheskiy atlas]. Shabalova I.P., Kasoyan K.T., eds. Moscow- Tver': Triada; 2016. (in Russian)
12. Mulhen E., Amin M., Copeland J., Sharma J., Hunter S. Type-specific human papillomavirus DNA detected in atypical glandular cell Pap tests. *Acta Cytol.* 2012; 56: 155-9.
13. Namugenyi S.B., Balsan J.M., Glick S.N., Jordan J.A. Prevalence and genotype distribution of human papillomavirus in cytology specimens containing atypical glandular cells: a casecontrol study. *J. Clin. Virol.* 2013; 58: 432-6.
14. Mody D.R., ed. Glandular cell abnormalities. In: *Diagnostic pathology cytopathology*. Salt Lake City (Utah): Amirsys Publishing Inc.; 2014.
15. Layfield L.J., Pitman M.B., DeMay R.M., Shidham V.B. Pancreaticobiliary tract cytology: journey toward «Bethesda» style guidelines from the Papanicolaou Society of Cytopathology. *CytoJournal.* 2014; 11: 18.
16. Nayar R., Wilbur D.C. The Bethesda system for reporting cervical cytology. In: *Comprehensive cytopathology*. Bibbo M., Wilbur D.C., eds. London: Elsevier; 2015.
17. Kir'yanov N.A., Sukhanov S.A. Cytological diagnosis of diseases of the cervix. *Krymskiy zhurnal eksperimental'noy i klinicheskoy meditsiny.* 2020; 10(3): 95. (in Russian)
18. Tolibova G.H., Petrosyan M.A., Polyakova V.O., Kvetnoy I. M. Comparative evaluation of the effectiveness of traditional cytology and NOVAPREP automated liquid cytology technology in the diagnosis of precancerous conditions of the cervix. *Novosti klinicheskoy tsitologii Rossii.* 2012; 16(3-4): 14-7. (in Russian)
19. Rakhmatulina M.R., Semenenko A.V. Comparative analysis of methods for diagnosing and treating clinical manifestations of papillomavirus infection. *Vestnik dermatologii i venerologii.* 2015; 1: 46-53. (in Russian)
20. Kononova I.N., Bashmakova N.V., Vaynberg Ye.I., Rebrikova L.N., Borisevich G.A., Martem'yanova V.V. et al. Evaluation of discordant results of cytological examination of the cervical epithelium, processed by the traditional method and the method of liquid cytology. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2020; S1: 86-92. DOI: 10.18565/aig.2020.1suppl.86-92. (in Russian)
21. Kolmakova T.S., Belik S.N., Morgul' E.V., Sevryukov A.V. The use of the micronucleus test to evaluate the effectiveness of allergy treatment in children [Ispol'zovanie mikroyadernogo testa dlya otsenki effektivnosti lecheniya allergii u detey]. Rostov-na-Donu: Rostovskiy gosmeduniversitet; 2013. (in Russian)
22. Kalaev V.N., Artyukhov V.G., Nechaeva M.S. The frequency of occurrence of cells with morphologically abnormal nuclei in human buccal epithelium with different staining methods. *Tsitologiya.* 2012; 54(1): 78-84. (in Russian)
23. Kalaev V. N., Artyukhov V. G., Nechaeva M.S. Micronucleus test of the buccal epithelium of the human oral cavity: problems, achievements, prospects. *Tsitologiya i genetika.* 2014; 48(6): 398 – 414. (in Russian)
24. Yurasova I.V., Sokolova N.V., Nazhimov V.P. Problems of increasing the efficiency of cytological examination of endometrial aspirates. *Novosti klinicheskoy tsitologii Rossii.* 2015; 19(1-2): 3-7. (in Russian)
25. Novik V.I. The use of microimage analysis as a method for clarifying cytological diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia of the cervix. *Novosti klinicheskoy tsitologii Rossii.* 2019; 23(2): 12-6. (in Russian)
26. Novik V.I. About staining methods for cytological preparations. *Novosti klinicheskoy tsitologii Rossii.* 2017; 21(1-2): 9-10. (in Russian)
27. Polonskaya N.Yu., Yurasova I.V. Cytological examination of cervical smears – Pap test [Tsitologicheskoe issledovanie tservikal'nykh mazkov – Pap-test]. Moscow: GEOTAR-Media; 2016. (in Russian)
28. Gill G.W. Cytopreparation: Principles & Practice. Trans. from Engl. Bezrukov A.V., Kasoyan K.T., eds. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2015. (in Russian)
29. Gill G.W. Gill hematoxylin: first person account. *Biotechnic & histochemistry : official publication of the Biological Stain Commission.* 2010; 85(1): 7–18. DOI: 10.3109/10520290903048376.
30. Kulaichev A.P. Methods and tools for complex data analysis [Metody i sredstva kompleksnogo analiza dannykh]. Moscow: FORUM; INFRA–M; 2006. (in Russian)