

Selsky P. R. Изменения клеточного звена местного иммунитета шейки матки у больных с различными видами эндоцервикоза = Changes in cellular local immunity of the cervix in patients with different types of endocervicosis. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(8):448-456. ISSN 2391-8306. DOI [10.5281/zenodo.31459](https://doi.org/10.5281/zenodo.31459)  
<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.31459>  
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%288%29%3A448-456>  
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/634507>  
Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011–2014  
<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

Deklaracja.

Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.

Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).

© The Author (s) 2015;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 26.07.2015. Revised 05.08.2015. Accepted: 24.08.2015.

## ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ШЕЙКИ МАТКИ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ВИДАМИ ЭНДОЦЕРВИКОЗА CHANGES IN CELLULAR LOCAL IMMUNITY OF THE CERVIX IN PATIENTS WITH DIFFERENT TYPES OF ENDOCERVICOSIS

П. Р. Сельський  
P. R. Selskyy

Государственное высшее учебное заведение “Тернопольский государственный  
медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МОЗ Украины”, Тернополь,  
Украина

State higher education establishment “Ternopil State Medical University by I. Ya.  
Horbachevsky of Ministry of Public Health of Ukraine”

### Summary

Histological and immunomorphological investigation of 91 patients on endocervicosis is carried out. The analysis of cellular circuit of immunity was taken with the help of monoclonal antibodies to antigens lymphocytes CD3, CD4, CD8 and CD19. Majority of the patients with endocervicosis the infringement T-cellular of circuit immunity was observed. The dependence of immune changes from a degree of development of endocervicosis is revealed. On the basis of investigations we can make the conclusion about essential influence of the immunity factors in conjunction with the violation of the regeneration on endocervicosis progress.

**Keywords: endocervicosis, cellular immunity, cellular infiltration.**

### Резюме

Проведено гистологическое, морфометрическое и иммуноморфологическое исследование 91 больной с эндоцервикозом. Анализ клеточного звена иммунитета проводился с помощью моноклональных антител к антигенам лимфоцитов CD3, CD4, CD8 и CD19. У большинства пациенток с эндоцервикозом наблюдалось нарушение Т-клеточного звена иммунитета. Обнаружена зависимость иммунных нарушений от степени развития эндоцервикоза. На основе проведенных исследований можно сделать вывод о существенном влиянии местных иммунных факторов в сочетании с нарушением регенерации на прогрессирование данного заболевания.

**Ключевые слова: эндоцервикоз, клеточный иммунитет, клеточный инфильтрат.**

**Вступление.** Фоновые процессы шейки матки в структуре заболеваний женской половой сферы продолжают оставаться одной из наиболее актуальных медико-социальных проблем [1]. Указанные заболевания имеют склонность к затяжному течению и широко распространены, в частности эндоцервикоз диагностируется в 38,5% женщин [2, 3, 4]. Актуальность изучения данной патологии обусловлена не только высоким уровнем заболеваемости, но и возможностью развития на их фоне злокачественных процессов и, соответственно, необходимостью точной и своевременной диагностики [5, 6].

Дискуссионным остается вопрос о местных иммунных нарушениях при различных видах эндоцервикоза. Исследования, проведенные в этом направлении, обнаруживают изменения клеточного звена иммунитета при данном заболевании, а именно преобладание в клеточном инфильтрате лимфоцитов и плазмочитов, размещаемых в основном периваскулярно [7]. Однако остается невыясненным характер нарушений клеточного звена иммунитета при различных видах эндоцервикоза и их связь с регенераторными изменениями эпителия.

Поэтому *целью* нашей работы было установить проявления изменений видового состава и плотности размещения клеточного инфильтрата в строме шейки матки при разных видах эндоцервикоза в сочетании с нарушениями регенераторных процессов эпителия.

**Материалы и методы.** Проведено гистологическое, морфометрические и иммуноморфологические исследования биопсийного и операционного материала 91 больной эндоцервикозом возрастом ( $33,31 \pm 0,97$ ). В группе сравнения было 15 женщин. В эту группу вошел некропсийный материал ткани шейки матки женщин, у которых не выявлялось гинекологической патологии.

Больные находились на обследовании в кабинете шейки матки областного онкологического диспансера г. Тернополя. Патогистологический диагноз верифицирован с учетом классификации предраковых состояний и рака шейки матки (И. А. Яковлева, Б. Г. Кукутэ, 1977). Гистологическое исследование проводилось на кафедре патологической анатомии с секционным курсом и судебной медицины Тернопольского государственного медицинского университета имени И. Я. Горбачевского по общепринятым методикам [8].

С парафиновых блоков ткани готовили серии срезов (Б. И. Железнов, 1984) толщиной 5-6 мкм [9]. Гистологические срезы окрашивали гематоксилин-эозином и по ван Гизон с целью выявления общей структуры патологических изменений шейки матки. Изучение препаратов осуществляли с помощью микроскопа МБИ-15. Наиболее

демонстративные гистологические препараты фотографировали с помощью фотоустановки.

При морфометрическом исследовании определялись следующие показатели: видовой состав и распределение клеточного инфильтрата в строме шейки матки (плотность иммунокомпетентных клеток в глубоких и поверхностных слоях), ядерно-цитоплазматический индекс резервных клеток. Данные параметры исчислялись с использованием оптико-визуальных средств, которые были откалиброваны с помощью объект-микрометра с делениями 10 мкм для каждого примененного объектива микроскопа [10] и с помощью системы обработки изображений IBAS-2000 фирмы "OPTON". Иммуноморфологическое исследование проводилось непрямой методикой Кунса по методике Brosnan [11]. Иммунные клетки дифференцировали с помощью моноклональных антител к различным типам клеток производства Института иммунологии Минздрава России. Использовали антитела серии LT3 (CD3), LT4 (CD4), LT8 (CD8), LNK16 (CD16), 3F3 (CD19). Препараты изучали в люминесцентном микроскопе Микмед-2 с использованием светофильтров: ФС-1-2, СЗС-4, БС-8-2, УФС-6-3. Подсчет клеток проводился в 10 полях зрения микроскопа при увеличении – 400.

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета программ "Microsoft Excel" (Microsoft Office 2003).

**Результаты исследования.** При гистологическом исследовании препаратов женщин со стационарным эндоцервикозом, которые составляли 23,1 % обследованных пациенток, поверхность эктоцервикса была выстлана равным пластом цилиндрического эпителия. В таких случаях не выявлялся рост эпителия в глубокие слои эктоцервикса. Железистые структуры отсутствовали или были слабо выраженными. Ядра эпителиальных клеток в очагах эктопии имели округлую форму, размещались в основном базально и только в некоторых из них выявлялась тенденция к срединному размещению (рис. 1).

Ядерно-цитоплазматический индекс в резервных клетках составлял  $0,55 \pm 0,01$  и существенно не отличался от аналогичного показателя ( $0,49 \pm 0,01$ ) в контрольной группе ( $p > 0,05$ ), что свидетельствовало о стандартных взаимоотношениях ядра и цитоплазмы.

Результаты анализа клеточного состава инфильтрата ткани шейки матки показали, что он по своему составу был однотипным во всех случаях, представлял собой скопление лимфоцитов и плазмочитов с наличием редких макрофагов и нейтрофилов, размещался в слизистой оболочке и подслизистом слое.

Плотность клеточного инфильтрата в поверхностных и глубоких слоях составляла соответственно ( $6,4 \pm 0,7$ ) и ( $5,9 \pm 1,2$ ) клеток в одном поле зрения, что существенно не

отличалось ( $p > 0,05$ ) от показателей контрольной группы (соответственно  $(5,0 \pm 0,1)$  и  $(5,2 \pm 0,1)$  клеток в одном поле зрения). Среди лимфоцитов, которые были локализованы преимущественно в подслизистом слое, обнаружены клетки, которые имели следующие рецепторы: CD19 (В-лимфоциты), CD3 (Т-лимфоциты общие), CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-супрессоры). Количество указанных клеток было незначительным, поэтому относительное содержание отдельных популяций нами не определялось.

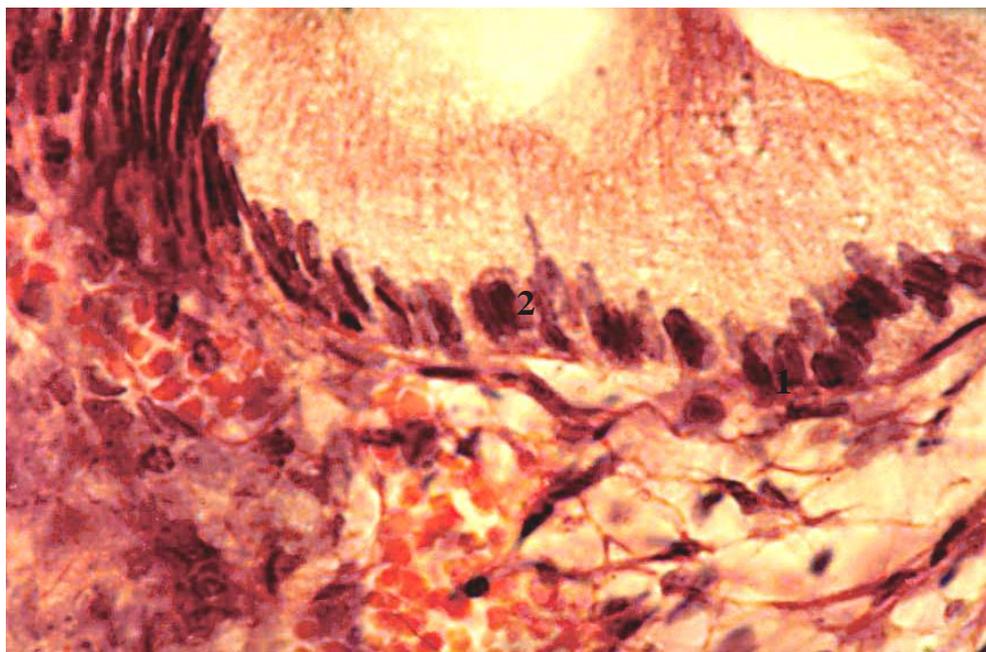


Рисунок 1. Базальное (1) и срединное (2) размещение ядер эпителиоцитов при стационарном эндоцервикозе. Окраска гематоксилин-эозином  $\times 640$ .

Среди Т-клеток чаще всего обнаруживали лимфоциты с рецепторами CD3 (Т-лимфоциты общие). Их плотность была значительно выше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой контроля ( $(0,8 \pm 5,1)$  против  $(0,7 \pm 2,5)$  клеток в поле зрения). Следует отметить, что иммунокомпетентные клетки часто выявляли и в просвете сосудов и в периваскулярных пространствах.

Изменений со стороны подлежащей стромы при стационарном эндоцервикозе практически не выявлялось. Она была представлена соединительнотканскими волокнами, окрашенными по ван Гизон пикрофуксином в красно-розовый цвет. В строме в незначительном количестве встречались паретически расширенные кровеносные сосуды и точечные кровоизлияния.

У больных с прогрессирующим эндоцервикозом (41,8 %) наблюдалась выраженная пролиферация резервных клеток под цилиндрическим эпителием. Отмечено наличие множественных трубчатых желез. Во многих случаях железы были очень разветвленные с

образованием складок и боковых выростов. Часть из них имела вид замкнутых полостей, напоминающие фолликулы. Ядерно-цитоплазматический индекс ( $0,60 \pm 0,01$ ) в резервных клетках был выше, чем при стационарном эндоцервикозе ( $p < 0,05$ ). Ширина подстилающей цилиндрический эпителий рыхлой ретикулиновой стромы была значительно увеличена.

При прогрессирующем эндоцервикозе в тканях шейки матки также выявлялся клеточный инфильтрат, который не имел четких границ и размещался преимущественно вокруг железистых структур. Кроме этого, наличие иммунокомпетентных клеток наблюдалась также в просвете сосудов и в периваскулярных пространствах. Плотность клеточного инфильтрата в глубоких ( $(17,7 \pm 3,3)$  клеток в поле зрения) и поверхностных ( $(15,4 \pm 2,9)$  клеток в поле зрения) слоях была значительно больше ( $p < 0,05$ ), чем при стационарном эндоцервикозе.

Среди лимфоцитов, которые локализовались преимущественно вокруг железистых структур, обнаружены клетки, имеющие следующие рецепторы: CD19 (В-лимфоциты), CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-супрессоры). Плотность расположения CD3-лимфоцитов (рис. 2), которые преобладали в клеточном инфильтрате, была значительно больше, чем при стационарном эндоцервикозе и составила ( $0,3 \pm 8,0$ ) клеток в поле зрения ( $p < 0,05$ ). Они определялись преимущественно в глубоких слоях экзоцервикса, то есть в местах наибольшего скопления желез.

При гистологическом исследовании биоптатов и конизатов женщин с эндоцервикозом в 35,2 % выявлялись признаки различной степени заживления (эпидермизации) эндоцервикоза. Наблюдалось врастание многослойного плоского эпителия с краев псевдоэрозии в устья желез, прорастание под цилиндрический и вытеснения последнего, оказывались также солидные пласты эпидермоидных клеток.

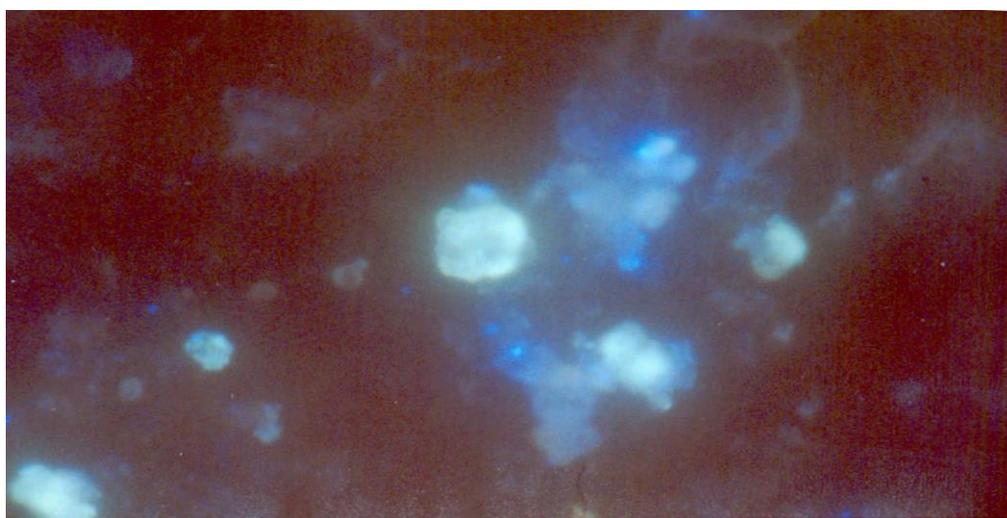


Рисунок 2. CD-3-лимфоциты в клеточном инфильтрате при прогрессирующем эндоцервикозе. Непрямой метод Кунса с МКА к CD3  $\times 800$ .

В 5,5 % случаев отмечались только контуры желез, а поверхность экзоцервикса была покрыта почти полностью многослойным плоским эпителием. В данной группе выявлены многочисленные случаи преобразования желез в кистозные полости – Наботовы кисты (Ovulae Nabothii). В 23,5 % имело место также значительное утолщение эпителиального слоя.

Ядра эпителиоцитов в железистых структурах при заживлении эндоцервикоза размещались в основном базально. Ядерно-цитоплазматический индекс в резервных клетках был равен  $0,53 \pm 0,02$ , что свидетельствовало о стандартных взаимоотношения ядра и цитоплазмы. Данный показатель был значительно меньше по сравнению с прогрессирующим эндоцервикозом ( $p < 0,05$ ) и существенно не отличался от аналогичного показателя при стационарной форме псевдоэрозии шейки матки ( $p > 0,05$ ) (табл. 1).

Таблица 1. Ядерно-цитоплазматический индекс в резервных клетках экзоцервикса при разных видах эндоцервикоза ( $M \pm m$ )

Группа	Ядерно-цитоплазматический индекс
Контрольная группа	$0,49 \pm 0,03^*$
Заживающий эндоцервикоз	$0,53 \pm 0,02^*$
Стационарный эндоцервикоз	$0,55 \pm 0,01^*$
Прогрессирующий эндоцервикоз	$0,60 \pm 0,01$
Примечание. * $p < 0,05$ – по сравнению с группой с прогрессирующим эндоцервикозом.	

Субэпителиальная строма была местами рыхлой, в ней встречалась пролиферация капилляров (рис. 3).

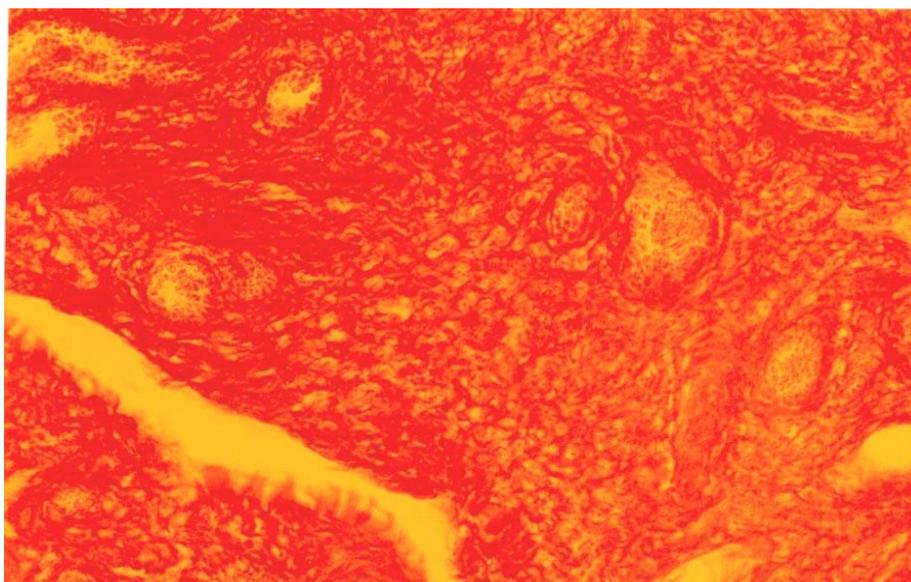


Рисунок 3. Рыхлая субэпителиальная строма при заживающем эндоцервикозе. Окраска по ван Гизон  $\times 90$ .

В базальной мембране при заживающем эндоцервикозе наблюдалось незначительное количество эластических волокон.

Клеточный инфильтрат (рис. 4) размещался в поверхностных и глубоких (преимущественно вокруг желез) участках стромы шейки матки.

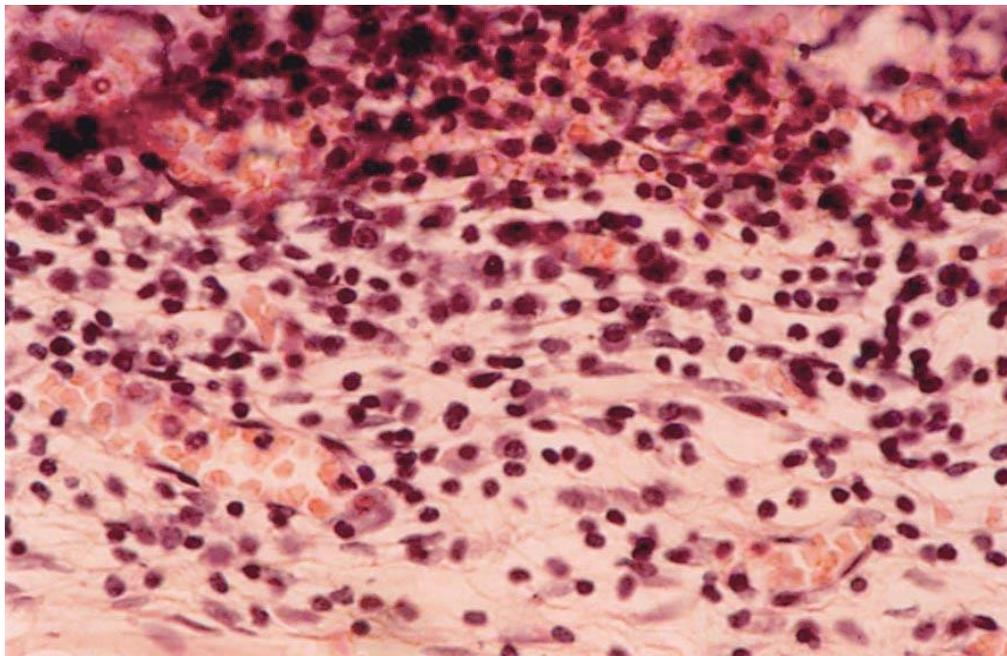


Рисунок 4. Клеточный инфильтрат в подслизистом слое шейки матки при заживающем эндоцервикозе. Окраска гематоксилин-эозином  $\times 320$

Плотность размещения клеток в поверхностных и глубоких слоях составляла соответственно  $(7,4 \pm 1,3)$  и  $(6,2 \pm 0,9)$  клеток в одном поле зрения, что было значительно меньше, чем при прогрессирующем эндоцервикозе ( $p < 0,05$ ). Среди лимфоцитов, которые были локализованы преимущественно в подслизистом слое, обнаружены такие же популяции, как и при стационарном и прогрессирующем эндоцервикозе. Их количество было незначительным, поэтому относительное содержание не определялось. Закономерности распределения иммунокомпетентных клеток при различных видах эндоцервикоза представлены в табл. 2.

Плотность CD3-лимфоцитов составляла  $(1,2 \pm 4,2)$  клеток в поле зрения. Следует отметить, что они встречались в одинаковой мере в поверхностных и глубоких слоях эктоцервикса. Плотность клеток данной популяции была больше ( $0,05 < p$ ) по сравнению с аналогичным показателем в группе контроля ( $(0,7 \pm 2,5)$  клеток в поле зрения) и значительно меньше ( $0,05 < p$ ), чем при прогрессирующем эндоцервикозе ( $(8,0 \pm 0,3)$

клеток в поле зрения), однако существенно не отличалась от аналогичного показателя при стационарном эндоцервикозе ((0,8±5,1) клеток в поле зрения) ( $p > 0,05$ ).

Таблица 2. Распределение клеточного инфильтрата при разных видах эндоцервикоза ( $M \pm m$ )

Группа	Количество клеток в одном поле зрения	
	Поверхностные слои	Глубокие слои
Контрольная группа	5,0 ± 1,5	5,2 ± 1,5
Стационарный эндоцервикоз	6,4 ± 0,7**	5,9 ± 1,2**
Прогрессирующий эндоцервикоз	15,4 ± 2,9*	17,7 ± 3,3*
Заживающий эндоцервикоз	7,4 ± 1,3**	6,2 ± 0,9**

Примечания: 1. \* -  $p < 0,05$  – в сравнении с контрольной группой;  
2. \*\* -  $p < 0,05$  – в сравнении с прогрессирующим эндоцервикозом.

**Выводы.** 1. Выявленные изменения свидетельствуют о важной роли нарушений клеточного иммунитета на местном уровне во взаимосвязи с изменением регенераторных процессов в развитии и прогрессии эндоцервикоза.

2. Результаты морфометрического анализа клеточного состава инфильтрата стромы шейки матки показали, что он по своему составу был однотипным при всех видах данного заболевания и представлял собой скопление лимфоцитов и плазмоцитов с наличием редких макрофагов и нейтрофилов, размещался преимущественно вокруг железистых структур. Иммунокомпетентные клетки часто наблюдались и в просвете сосудов и в периваскулярных пространствах.

3. Среди лимфоцитов, которые были локализованы преимущественно в подслизистом слое, при всех видах эндоцервикоза обнаружены клетки, имеющие такие рецепторы: CD19 (В-лимфоциты), CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-супрессоры). Наибольшая плотность клеточного инфильтрата, в частности CD3-лимфоцитов, наблюдалась в случаях прогрессирующего эндоцервикоза, то есть выявлялись существенные изменения клеточного звена местного иммунитета при прогрессировании данного заболевания.

4. Анализ активности резервных клеток обнаружил существенное увеличение величины ядерно-цитоплазматического индекса при прогрессирующем эндоцервикозе, что позволяет сделать вывод о повышенном риске возникновения предраковых состояний шейки матки у данных больных по сравнению с другими видами эндоцервикоза.

## References

1. Генферон в комплексном лечении фоновых процессов шейки матки у пациентов с воспалительными заболеваниями гениталий / И.Б. Вовк, В.К. Кондратюк, В.И. Юнгер, А.А. Калюта // *Здоровье женщины*. – 2009. – № 8. – С. 40–45.
2. Грищенко О.В. Препараты стимуляции процесса репарации после удаления фоновых процессов эктоцервикса / О.В. Грищенко, А.В. Сторча, В.И. Останина // *Здоровье женщины*. – 2006. – № 4. – С. 103–109.
3. Короленкова Л.И. Зона трансформации шейки матки как объект канцерогенного действия вирусов папилломы человека при возникновении цервикальных интраэпителиальных неоплазий и инвазивного рака /Л.И. Короленкова, В.Д. Ермилова // *Архив патологии* – 2011. – № 6 (Т. 73). – С. 33-37.
4. Василевская Л.Н. Кольпоскопия / Л.Н. Василевская. – М., 1986. – 156 с.
5. Данилова Н.В. Дифференциальная диагностика предопухолевых и регенераторных изменений эпителия шейки матки с использованием иммуногистохимического метода / Н.В. Данилова, Ю.Ю. Андреева, П.Г. Мальков // *Архив патологии* – 2011. – № 2 (Т. 73). – С. 10-14.
6. Clonality analysis and human papillomavirus infection in squamous metaplasia and atypical immature metaplasia a precursor to cervical intraepithelial neoplasia? / Т. Hiyatake, Y. Veda, K. Yoshino // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2007. – Vol. 26, № 2 – P. 180-187.
7. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний шейки и тела матки / О.К. Хмельницкий. – Санкт-Петербург, 2000. – 336 с.
8. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники. – Л. “Медицина”, 1969. – 423 с.
9. Железнов Б.И., Ежова Л.С., Могиревская О.Н. Гистотопографический метод исследования и диагностики патологии шейки матки // *Акуш. и гинек.* – 1984. – № 4. – С. 15.
10. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
11. Coons A.H., Kaplan M.H. Localization of antigen in tissue cells. Improvement in a method for the defect of antigen by means of fluorescent antibody // *I. Exp. Med.* – 1950. – Vol. 91, №1. – P. 1-13.