

Selsky P. R. Изменения клеточного звена местного иммунитета шейки матки у больных с цервикальной интраэпителиальной неоплазией на фоне эндоцервикоза = Changes in cellular local immunity of the cervix in patients with cervical intraepithelial neoplasia on the basis of endocervicosis. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(9):685-693. ISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.32168>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%289%29%3A685-693>
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/657207>
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 License 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: 02.08.2015. Revised 05.09.2015. Accepted: 29.09.2015.

**ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ШЕЙКИ
МАТКИ У БОЛЬНЫХ С ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ
НЕОПЛАЗИЕЙ НА ФОНЕ ЭНДОЦЕРВИКОЗА
CHANGES IN CELLULAR LOCAL IMMUNITY OF THE CERVIX IN PATIENTS
WITH CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA ON THE BASIS OF
ENDOCERVICOSIS**

**П. Р. Сельський
P. R. Selsky**

**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 and 11 patients on CIN 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 density of the cellular infiltrate, including CD3-lymphocytes in the stroma of the cervix by endocervicosis with CIN did not differ from similar indicators by endocervicosis with no signs of dysplasia. The change in the proliferative activity of the epithelium in the area of dysplasia was revealed. On the basis of investigations we can make the conclusion about essential influence of the violation of the regeneration in conjunction with the immunity factors on endocervicosis progress.

Keywords: endocervicosis, cervical intraepithelial neoplasia, cellular immunity, cellular infiltration

Резюме

Проведено гистологическое, морфометрическое и иммуноморфологическое исследование 91 больной с эндоцервикозом и 11 больных с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (CIN). 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. Плотность клеточного инфильтрата, в том числе CD3-

лимфоцитов, в строме шейки матки при эндоцервикозе, совмещенном с CIN, не отличалась от аналогичных показателей при эндоцервикозе без признаков дисплазии. Выявлено существенное изменение пролиферативной активности эпителия в области дисплазии. На основе проведенных исследований можно сделать вывод о существенном влиянии нарушения регенерации в сочетании с местными иммунными факторами на прогрессирование данного заболевания.

Ключевые слова: эндоцервикоз, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, клеточный иммунитет, клеточный инфильтрат.

Вступление. Фоновые и предраковые заболевания шейки матки остаются одной из сложных медицинских проблем. Указанные заболевания широко распространены, в частности эндоцервикоз диагностируется в 38,5% женщин [1, 2, 3]. Актуальность их изучения обусловлена не только высоким уровнем заболеваемости, но и необходимостью точной и своевременной диагностики в связи с возможностью развития злокачественных процессов [4, 5].

В диагностике и лечении фоновой и предраковой патологии не всегда учитывают патоморфологические особенности каждого заболевания. Дискуссионным остается вопрос о местных иммунных нарушениях при эндоцервикозе. Исследования, проведенные в этом направлении, указывают на изменения клеточного звена иммунитета при данном заболевании, а именно преобладание в клеточном инфильтрате лимфоцитов и плазмочитов, размещаемых в основном периваскулярно [6, 7]. Однако остается невыясненной роль нарушений клеточного звена иммунитета в развитии на фоне эндоцервикоза цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN).

Поэтому *целью* нашей работы было установить проявления изменений видового состава и плотности размещения клеточного инфильтрата в строме шейки матки больных с эндоцервикозом в сочетании с нарушениями регенераторных процессов эпителия при цервикальной интраэпителиальной неоплазии.

Материалы и методы. Для проведения гистологического, морфометрического и иммуноморфологического исследования использован биопсийный и операционный материал 91 больной эндоцервикозом возрастом ($33,31 \pm 0,97$). В 11 пациенток выявлялась цервикальная интраэпителиальная неоплазия (CIN). 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 непрямым методом Кунса по методике Grosman [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 проведена 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. 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. При гистологическом исследовании биоптатов и конизатов женщин с эндоцервикозом в 35,2 % выявлялись признаки различной степени заживления (эпидермизации) эндоцервикоза. Наблюдалось вращение многослойного плоского эпителия с краев псевдоэрозии в устья желез, прорастание под цилиндрический и вытеснения последнего, оказывались также солидные пласты эпидермоидных клеток. В 5,5 % случаев отмечались только контуры желез, а поверхность эктоцервикса была покрыта почти полностью многослойным плоским эпителием. В данной группе выявлены многочисленные случаи преобразования желез в кистозные полости – Наботовы кисты (Ovulae Nabothii).

При гистологическом исследовании биоптатов и конизатив женщин с эндоцервикозом в 12,3% случаев наблюдалось сочетание указанной патологии с CIN. В случаях, которые мы исследовали, встречалась слабая и умеренно выраженная дисплазия (CIN I, CIN II). Слабая дисплазия была диагностирована на основе выявленной базально-клеточной гиперактивности нижней трети эпителиального пласта с сохранением стратификации и вертикальной анизоморфности поверхностного и промежуточного слоев. В одних случаях выявлялась диффузная базально-клеточная гиперактивность, а в других – она имела очаговый характер. Базальные и парабазальные клетки были мономорфные, округлой или вытянутой формы с увеличенными ядрами. Наблюдалась как гипер-, так и нормо и гипохромия ядер. Атипичные митозы не встречались. Умеренная дисплазия была диагностирована на основе базально-клеточной гиперактивности, которая захватывала половину и более эпителиального пласта. В таких случаях оказывалось нарушения вертикальной анизоморфности и стратификации нижних слоев эпителия, где наблюдалась перпендикулярна ориентация клеток к базальной мембране. В то же время в верхних слоях – клетки размещались горизонтально. Митотическая активность была более выражена в направлении к базальной мембране.

Ядра эпителиальных клеток в очагах эктопии при стационарном эндоцервикозе имели округлую форму, размещались в основном базально и только в некоторых из них выявлялась тенденция к срединному размещению. 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 взаимоотношения ядра и цитоплазмы. Ядерно-цитоплазматический

индекс ($0,60 \pm 0,01$) в резервных клетках при прогрессирующем эндоцервикозе был выше, чем при стационарном эндоцервикозе ($p < 0,05$). Ширина подстилающей цилиндрический эпителий рыхлой ретикулиновой стромы была значительно увеличена. 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 ($p > 0,05$).

При изучении пролиферативной активности резервных клеток эктопического эпителия в случаях эндоцервикоза, в сочетании с очаговой дисплазией, ядерно-цитоплазматический индекс составил $- 0,64 \pm 0,02$, то есть наблюдалась тенденция к повышению по сравнению с аналогичным показателем при данном виде эндоцервикоза без CIN ($0,56 \pm 0,01$), однако статистически достоверного различия между этими показателями выявлено не было ($p > 0,05$). При анализе пролиферативной активности эпителиального пласта непосредственно в участках дисплазии ядерно-цитоплазматический индекс был существенно повышен и составил $- 0,71 \pm 0,02$ ($p < 0,05$).

Результаты анализа клеточного состава инфильтрата ткани шейки матки показали, что он по своему составу был однотипным во всех случаях, представлял собой скопление лимфоцитов и плазмоцитов 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. 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±5,1) против (0,7±2,5) клеток в поле зрения). Следует отметить, что иммунокомпетентные клетки часто выявляли и в просвете сосудов и в периваскулярных пространствах.

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±3,3) клеток в поле зрения) и поверхностных ((15,4±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, которые преобладали в клеточном инфильтрате, была значительно больше, чем при стационарном эндоцервикозе и составила (0,3±8,0) клеток в поле зрения ($p < 0,05$). Они определялись преимущественно в глубоких слоях экзоцервикса, то есть в местах наибольшего скопления желез.

Клеточный инфильтрат при заживлении эндоцервикоза размещался в поверхностных и глубоких (преимущественно вокруг желез) участках стромы шейки матки. Плотность размещения клеток в поверхностных и глубоких слоях составляла соответственно (7,4±1,3) и (6,2±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 содержимое не определялось. Плотность CD3-лимфоцитов составляла (1,2±4,2) клеток в поле зрения. Следует отметить, что они встречались в одинаковой мере в поверхностных и глубоких слоях экзоцервикса. Плотность клеток данной популяции (рис. 1) была больше ($0,05 < p$) по сравнению с аналогичным показателем в группе контроля ((0,7±2,5) клеток в поле зрения) и значительно меньше ($0,05 < p$), чем при прогрессирующем эндоцервикозе ((8,0±0,3) клеток в поле зрения), однако существенно не отличалась от аналогичного показателя при стационарном эндоцервикозе ((0,8±5,1) клеток в поле зрения) ($p > 0,05$).

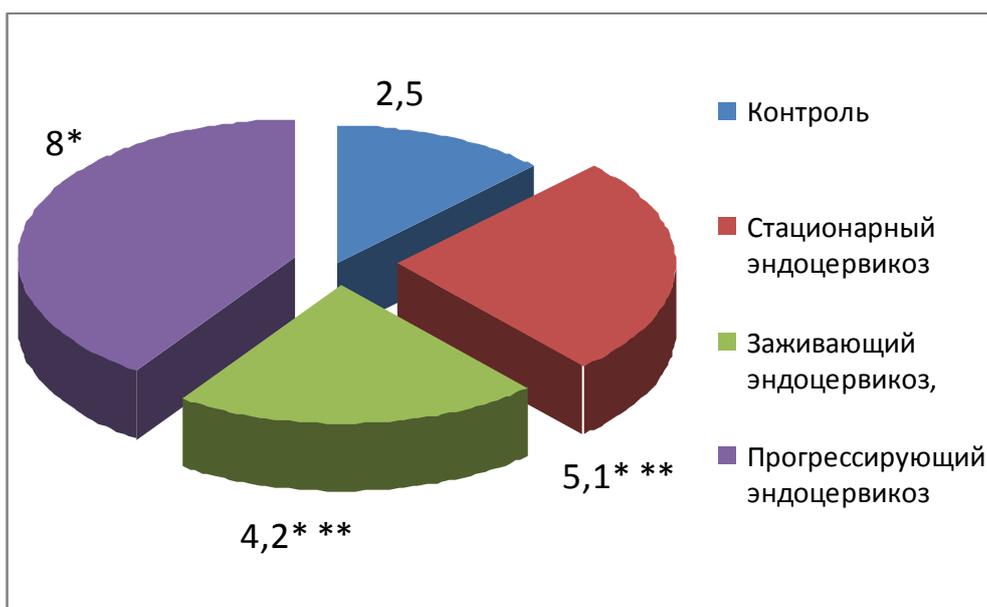


Рис 1. Среднее количество CD3-лимфоцитов в одном поле зрения при разных видах эндочервикоза.

* - $p < 0,05$ – в сравнении с контрольной группой, ** - $p < 0,05$ – в сравнении с группой пациентов с прогрессирующим эндочервикозом.

Плотность клеточного инфильтрата в поверхностных слоях стромы при CIN была повышена. Она также имела тенденцию к увеличению в глубоких слоях и составила соответственно $(9,1 \pm 0,7)$ и $(8,7 \pm 0,8)$ клеток в одном поле зрения по сравнению с группой контроля – $(5,0 \pm 1,5)$ и $(5,2 \pm 1,5)$ клеток в поле зрения ($p < 0,05$). Однако этот показатель существенно не отличался от аналогичных показателей при псевдоэрозии без признаков дисплазии, который составил $(9,9 \pm 1,5)$ и $(10,9 \pm 1,8)$ клеток в одном поле зрения. Видовой состав лимфоцитов при этом был такой же, как в случаях эндочервикоза без признаков дисплазии. Среди них обнаружены CD19 (B-лимфоциты), CD3 (T-лимфоциты), CD4 (T-хелперы), CD8 (T-супрессоры). Эти же клетки обнаружены и в просвете сосудов. Плотность клеток, в частности CD3-лимфоцитов, составляла $(5,8 \pm 0,5)$ клеток в поле зрения и не существенно отличалась от аналогичного показателя при эндочервикозе без признаков дисплазии ($(5,6 \pm 0,5)$ клеток в поле зрения).

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

2. Результаты морфометрического анализа клеточного состава инфильтрата стромы шейки матки показали, что он по своему составу был однотипным во всех группах и представлял собой скопление лимфоцитов и плазмочитов с наличием редких макрофагов и нейтрофилов, размещался преимущественно вокруг железистых структур. Среди лимфоцитов, которые были локализованы преимущественно в подслизистом слое, обнаружены клетки, имеющие такие рецепторы: CD19 (В-лимфоциты), CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (Т-супрессоры).

3. 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. Плотность клеточного инфильтрата, в том числе CD3-лимфоцитов, в строме шейки матки при эндоцервикозе, совмещенном с CIN, не отличалась от аналогичных показателей при псевдоэрозии без признаков дисплазии.

4. При анализе пролиферативной активности эпителиального пласта непосредственно в области дисплазии – ядерно-цитоплазматический индекс был увеличен существенно. Анализ активности резервных клеток обнаружил также существенное увеличение величины ядерно-цитоплазматического индекса при прогрессирующем эндоцервикозе по сравнению с другими видами эндоцервикоза, что позволяет сделать вывод о повышенном риске возникновения предраковых состояний шейки матки у данных больных.

References

1. 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.

2. 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.

3. Василевская Л.Н. Кольпоскопия / Л.Н. Василевская. – М., 1986. – 156 с.

4. 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.

5. Clonality analysis and human papillomavirus infection in squamous metaplasia and atypical immature metaplasia a precursor to cervical intraepithelial neoplasia? / T. Hiyatake, Y. Veda, K. Yoshino // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 2007. – Vol. 26, № 2 – P. 180-187.
6. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний шейки и тела матки / О.К. Хмельницкий. – Санкт-Петербург, 2000. – 336 с.
7. Боднар Я. Я. Иммуноморфологические изменения тканей шейки матки у больных с эндоцервикозом и лейкоплакией / Я. Я. Боднар, П. Р. Сельський, О. И. Грималюк // *Запорожский медицинский журнал.* – 2005. - № 3. – С. 80-81.
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.