

УДК 612.017.11+618.146+616.98+618.177

*Е.О. Кіндратів*

## ОСОБЛИВОСТІ ЛОКАЛЬНОГО ІМУНІТЕТУ ШИЙКИ МАТКИ ПРИ ЦЕРВІКАЛЬНІЙ ІНТРАЕПІТЕЛІАЛЬНІЙ НЕОПЛАЗІЇ, АСОЦІЙОВАНОЇ З ПАПІЛОМАВІРУСНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ У ЖІНОК ІЗ РОЗЛАДАМИ РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

**Резюме.** Проведено морфологічне дослідження тканини шийки матки при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії (ЦІН) у 250 жінок з розладами репродуктивної функції. Залежно від ступеня тяжкості ЦІН всі випадки розділені на три досліджувані групи: 1-ша група – 110 випадків із легким ступенем ЦІН (ЦІН-I); 2-га група – 86 випадків із ЦІН помірного ступеня (ЦІН-II); 3-тя група – 54 випадки із ЦІН тяжкого ступеня (ЦІН-III). Отримані нами дані вмісту та розподілу іму-

нокомпетентних клітин у шийці матки свідчать про дисбаланс механізмів імунного контролю клітинного гомеостазу на тлі папіломавірусної інфекції (ПВІ), що визначає формування та прогресію неопластичного процесу в багатошаровому плоскому епітелії шийки матки.

**Ключові слова:** місцева імунна система, цервікальна інтраепітеліальна неоплазія, папіломавірусна інфекція, безпліддя.

**Вступ.** Фактори, які визначають характер і перебіг патологічного процесу, зумовленого вірусом папіломи людини, а особливо ризик розвитку злоякісної трансформації цервікального епітелію повністю не з'ясовані [1, 3, 9, 13]. Велике значення в протистоянні організму вірусним інфекціям надається імунокомпетентним клітинам та гуморальним факторам, що діють на системному та локальному рівні. Оскільки ВПЛ – це епітеліотропний вірус, важливим є стан місцевого захисту органів репродуктивної системи [4, 5, 6, 10]. Дані щодо змін показників клітинного та гуморального ланок імунітету при ПВІ та окремих стадіях канцерогенезу є в багатьох наукових працях [2, 7, 8, 11]. Є спроби встановити вплив етіологічного фактору на імунопатогенез неопластичного процесу, але отримані результати розрізнені та дискусійні. Тому вивчення закономірностей та механізмів взаємодії локального імунітету з вірусами і пошкодженими ними клітинами продовжується. Розуміння ролі та участі імунокомпетентних клітин у процесі канцерогенезу, асоційованого з ПВІ, може сприяти розробці принципів його регуляції та оптимізації діагностики передракових захворювань та раку шийки матки [9, 12, 13]. Сприятливе тло для розвитку диспластичного процесу шийки матки створює хронічне запалення, у результаті взаємопов'язаних розладів імунної системи, зокрема локальної, кровопостачання стромального компонента і клітинного оновлення цервікального епітелію. Аналіз вмісту та розподілу клітин лімфоїдного ряду в шийці матки дозволяє виявити різноманітні типи реакцій імунокомпетентних клітин, що визначають активну участь механізмів місцевого імунологічного захисту в змінах епітелію і сполучної тканини.

У зв'язку з цим, вивчення особливостей запальної реакції при ЦІН, асоційованої з ПВІ, у жінок із розладами репродуктивної функції становить інтерес.

**Мета дослідження.** Дослідити вміст та розподіл імунокомпетентних клітин у шийці матки при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії, асоційованої з папіломавірусною інфекцією у жінок із розладами репродуктивної функції.

**Матеріал і методи.** Проведене комплексне клінічно-морфологічне дослідження 250 жінок із ЦІН при розладах репродуктивної функції. Діагностування ЦІН здійснювали з використанням класифікації пухлин Всесвітньої організації охорони здоров'я: Патологія і генетика пухлин молочної залози і жіночих статевих органів [14], Міжнародної класифікації хвороб 10-го перегляду (1995) та Міжнародної гістологічної класифікації пухлин ВООЗ.

Залежно від ступеня тяжкості ЦІН всі випадки розділені на три досліджувані групи: 1-ша група – 110 випадків із легким ступенем ЦІН (ЦІН-I); 2-га група – 86 випадків із ЦІН помірного ступеня (ЦІН-II); 3-тя група – 54 випадки із ЦІН тяжкого ступеня (ЦІН-III). Середній вік жінок склав  $29,4 \pm 1,3$  року. Первинним безпліддям страждали 58,4 % жінок, вторинним – 41,6 %. Серед причини первинного безпліддя переважав трубно-перитонеальний фактор (46,6 %), який виявлений у 68 жінок. Серед обстежених жінок трубно-перитонеальний фактор, як первинний, трапляється в 27,2 %, гормональне безпліддя діагностовано у 37 пацієток (14,8 %), поєднані фактори мали місце у 24 випадках (9,6 %). У структурі вторинного безпліддя значно переважає трубний фактор (60,6 %), перитонеальне безпліддя спостерігається у 24,0 % пацієток. При вторинному безплідді не спостерігали жінок із розладами репродуктивної функції, пов'язаних з ендометріозом, імунним генезом та неуточнених форм. У загальній кількості обстежених жінок вторинне трубне безпліддя становить 25,2 %, перитонеальне – 10,0 %, поєднане має місце в 3,6 % пацієток.

Контрольну групу склали 30 жінок із розладами репродуктивної функції, у яких при гістологічному дослідженні цервікальних біопатів не виявлено жодної патології шийки матки. Середній вік пацієнок контрольної групи склав  $23,9 \pm 0,82$  року.

Усі пацієнтки обстежені на предмет виявлення папіломавірусної інфекції. Для виявлення ПВІ, як найбільш чутливий метод, застосовувалась полімеразно-ланцюгова реакція з гібридаційно-флюорисцентною детекцією в реальному часі. Ідентифікували ДНК вірусу папіломи людини (ВПЛ) високого канцерогенного ризику 12 типів (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59). Обрані типи володіють високою онкогенною властивістю щодо неопластичної трансформації та розвитку карциноми шийки матки.

У 157 (62,8 %) жінок досліджуваних груп ідентифіковані ДНК ВПЛ ВКР. Встановлена наявність ДНК ВПЛ ВКР у 62 пацієнок (56,4%) при ЦІН-I, у 53 (61,2 %) – при ЦІН-II, та у 42 (77,7 %) – при ЦІН-III. Аналізуючи дані кількісного визначення ВПЛ встановлені три варіанти вірусного навантаження (копій Ig ВПЛ/ $10^5$  клітин). У 52 жінок (33,1 %) виявлено ВПЛ із вірусним навантаженням  $< 3$  копій Ig ВПЛ/ $10^5$  клітин, 3-5 копій Ig ВПЛ/ $10^5$  клітин встановлено у 65 пацієнок (41,4 %) та в 40 обстежених (25,5 %) виявлене вірусне навантаження  $> 5$  копій Ig ВПЛ/ $10^5$  клітин.

Для морфологічного дослідження шматочки шийки матки фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в серії спиртів наростаючої концентрації, заливали в парафін і готували серійні зрізи товщиною 5-6 мкм, з подальшим забарвленням їх гематоксиліном та еозином. Гістологічне дослідження матеріалу здійснювали на основі уніфікованого алгоритму, запропонованого О.К. Хмельницьким.

Дослідження клітин лімфоїдного ряду проводили на препаратах, забарвлених азур II – еозином. Цей метод поєднує чітку цитологічну диференціацію з чіткою візуалізацією, що дає можливість мікроскопічно оцінювати зональну приналежність клітинних елементів лімфоїдного ряду і виявляти при цьому загальні тенденції змін кількості клітин у тканині ШМ. Найбільш важливими клітинними формами, які вступають в імунологічні реакції, є лімфоцити, лімфобласти, плазматичні клітини, плазмобласти, макрофаги.

Гістостереометрична оцінка препаратів проводилася за допомогою окуляр- і об'єктомікрометра методом точкового підрахунку при загальному збільшенні  $\times 20$  з використанням окулярної виміральної сітки (Автанділов Г.Г., 1990). Варіаційно-статистичну обробку одержаних даних здійснювали з використанням параметричних методів (t-критерію Стьюдента). Відмінності вважалися статистично достовірними при рівні надійності 0,05 і вище.

**Результати дослідження та їх обговорення.** При ЦІН-I відмічається різна інтенсивність запального процесу. При цервіциті в слизовій оболон-

ці (СО) шийки матки спостерігаються дегенеративні, ексудативні та репаративні зміни. Дегенеративні зміни епітелію проявляються цитолізисом, каріолізисом, каріопікнозом, збільшенням розмірів ядер, порушенням структури хроматину. Ексудативні зміни характеризуються появою клітинних елементів запалення у вигляді запальних інфільтратів. Запальні інфільтрати пухкі, представлені переважно лімфоцитами, нейтрофільними гранулоцитами, макрофагами. Субепітеліально запальні інфільтрати розташовуються вогнищево в периваскулярних зонах або дифузно, з проникненням у міжепітеліальні простори ектоцервіксу та в глибоку строму шийки матки, особливо, навколо вогнищ ектоцервіксу. У семи випадках виявляються сформовані лімфоїдні вузлики.

Кількісна характеристика запального інфільтрату СО шийки матки при ЦІН-I у жінок із розладами репродуктивної функції значно відрізняється від контрольних зразків шийки матки. Об'ємна частка запального інфільтрату при ЦІН-I зростала у 2,6 раза проти показника контрольної групи. Серед елементів клітинного інфільтрату переважали лімфоцити, об'ємна частка яких склала  $6,85 \pm 1,9$  ( $p < 0,05$ ), нейтрофільні гранулоцити  $1,08 \pm 0,02$  ( $p < 0,05$ ), фібробласти  $0,96 \pm 0,1$  ( $p < 0,05$ ).

Що стосується плазматичних клітин, то їх об'ємна частка характеризується незначним зростанням, але є наближеною до такої ж у групі контролю. Детальний розподіл елементів запального інфільтрату СО шийки матки в досліджуваних групах представлений у таблиці.

Міжепітеліальні лімфоцити та нейтрофільні гранулоцити розміщуються в товщі багат шарового плоского епітелію (БПЕ) з найбільшою їх концентрацією у базальному та парабазальному шарах, де вони контактують із базальною пластинкою та цитоплазматичною мембраною базальних та парабазальних епітеліоцитів. В епітеліальних клітинах при контакті з міжепітеліальними лімфоцитами відмічаються вакуольна дегенерація цитоплазми, інколи ознаки фокальної або тотальної деструкції. Також відмічаються дегенеративні зміни (вакуолізація) та лізис сполучнотканинних волокон стромального компонента шийки матки у вогнищах запальної інфільтрації.

Репаративні зміни характеризуються наявністю грануляційної тканини, резервно-клітинною проліферацією циліндричного епітелію вогнищ ектоцервіксу, їх плоскоклітинною метаплазією чи епітелізацією.

При ЦІН-II у субепітеліальній сполучнотканинній стромі відмічається різного ступеня запальна змішаноклітинна інфільтрація. Запальні інфільтрати пухкі, інколи ущільнені та в 4,6 % випадках формують дрібні субепітеліальні лімфоїдні вузлики, які виявляються переважно на стику циліндричного епітелію цервікального каналу та БПЕ. Запальні інфільтрати представлені малими формами лімфоцитів, нейтрофільними грануло-

Таблиця

**Кількісна характеристика запального інфільтрату слизової оболонки шийки матки при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії в жінок з розладами репродуктивної функції (M±m; об %)**

Морфометричні параметри	Групи дослідження			
	ЦІН-I (n=110)	ЦІН-II (n=86)	ЦІН-III (n=54)	Контрольна група (n=30)
Загальний склад запального інфільтрату, об%	16,7±1,8*	15,9±1,8*	12,4±1,6*	6,42±0,4
Лімфоцити, об%	6,85±1,9*	6,15±1,7*	5,66±1,8*	4,24±0,5
Лімфобласти, об%	0,24±0,8	0,46±0,8*	0,68±0,6*	0,17±0,02
Міжепітеліальні лімфоцити, об%	1,04±0,04	1,76±0,43*	1,86±0,44*	0,42±0,03
Нейтрофільні гранулоцити, об%	1,08±0,02*	1,12±0,03*	1,25±0,02*	0,22±0,04
Макрофаги, об%	1,92±0,4	2,43±0,52*	2,67±0,54*	1,37±0,3
Плазматичні клітини, об%	1,77±0,4	1,98±0,3	1,42±0,42	1,45±0,4
Фібробласти, об%	0,96±0,1*	0,92±0,2*	0,87±0,2	0,53±0,1

Примітка. \* p<0,05 – значуща вірогідність з показниками контрольної групи

цитами, макрофагами, плазматичними клітинами з домішками тучних клітин.

Кількісні показники клітинного складу запального інфільтрату значущо різняться з показниками контрольної групи. Об'ємна частка запального інфільтрату становить 15,9±1,8 %, що у 2,5 раза вище, ніж у контрольних зразках. На відміну від ЦІН-I при ЦІН-II відмічається вірогідне зростання лімфобластів, кількість яких перевищує у два рази в контрольних зразках (0,46±0,8 об% проти 0,17±0,8 об%) (p<0,05). Серед елементів клітинного інфільтрату також переважають лімфоцити (p<0,05), макрофаги (p<0,05) та нейтрофільні гранулоцити (p<0,05).

У 37 випадках (68,5 %) ЦІН-III наявна запальна інфільтрація як багаточарового плоского епітелію, так і строми. У 8 (21,6 %) випадках різко виражена, у 16 (29,6 %) – помірна, у 13 (24,1 %) відмічається вогнищева інфільтрація, переважно субепітеліальної локалізації. Незалежно від інтенсивності запального процесу серед елементів клітинного інфільтрату переважали лімфоцити (5,66±1,8 об% проти контролю 4,24±0,5 об%; p<0,05). Лімфоцити розташовувалися або рівномірно дифузно, або формували множинні дрібні скупчення з нейтрофільними гранулоцитами, макрофагами та плазматичними клітинами. Такі скупчення спостерігаються субепітеліально, навколо капілярів та вогнищ ендощервікозу.

При ЦІН-III кількісний показник плазматичних клітин не є вірогідним і наближається до показника контрольної групи. Натомість об'ємна частка лімфобластів перевищує в чотири рази контрольні показники (p<0,05), у 2,8 та 1,5 раза (p<0,05) відповідно об'ємної частки їх при ЦІН-I та ЦІН-II.

#### Висновок

Отримані нами дані переконливо свідчать про дисбаланс механізмів імунного контролю

клітинного гомеостазу на тлі папіломавірусної інфекції, що визначає формування та прогресію неопластичного процесу в багаточаровому плоскому епітелії шийки матки.

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективним є подальше комплексне морфологічне дослідження цервікальної інтраепітеліальної неоплазії, асоційованої з папіломавірусною інфекцією із застосуванням імуногістохімічних методів з метою удосконалення діагностики цього захворювання у жінок із розладами репродуктивної функції.

#### Література

1. Абелев Г. И. На пути к пониманию природы рака. Обзор / Г. И. Абелев, Т. Л. Эрайзер // Биохимия. – 2008. – Т. 73, вып. 5. – С. 605-618.
2. Аполихина И. А. Папилломавирусная инфекция гениталий у женщин. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 112 с.
3. Вовк І.Б. Особливості клінічного перебігу хронічних запальних захворювань геніталій при патології шийки матки, асоційованій з папіломовірусною інфекцією, у жінок репродуктивного віку / І.Б. Вовк, А.О. Калюта // Онкологія: науч.-практ. ж. – 2007. – Т. 9, № 3. – С. 195-197.
4. Воспалительные заболевания половых органов женщины и их влияние на репродукцию / В.А. Аксененко, М.В. Лайпанова, Е.Б. Лавриненко [и др.]: материалы III Междунар. конгр. по репродуктивной медицине [«Проблемы репродукции»]. – М., 2009. – С. 267-268.
5. Гнатко О.П. Системний та локальний імунітет при уrogenітальній інфекції у жінок з порушенням репродуктивної функції / О.П. Гнатко, Н.Г. Скурятина // Здобутки клін. та експерим. – 2007. – № 1. – С. 37-40.
6. Роговская С.И. Папилломавирусная инфекция гениталий: роль интерферонов в патогенезе и лечении (обзор литературы) / С.И. Роговская // Гинекология. – 2003. – № 5. – С. 195-198.
7. Стан місцевого імунітету статевих і сечовивідних шляхів у жінок в нормі та за наявності інфекційної патології / О.В. Ромащенко, А.В. Руденко, Л.О. Лебідь [та ін.] // Педіатрія, акушерство та гінекол. – 2005. – № 5. – С. 93-97.

8. Показатели иммунитета у больных с ПВИ гениталий / Г.Т. Сухих, Н.К. Матвеева, И.А. Аполихина [и др.] // Акуш. и гинекол. – 2000. – № 2. – С. 35-38.
9. Туманова Л.Є. Стан місцевого імунітету пологових шляхів у вагітних жінок з доброякісною та передраковою патологією шийки матки / Л.Є. Туманова, Т.В. Радиш, О.В. Коломієць // Педіатрія, акушерство та гінекол. – 2004. – № 1. – С. 107-110.
10. Тузанкина И.А. Состояние иммунной системы пациенток с персистирующим и транзитным вариантами течения латентной папилломавирусной инфекции шейки матки, обусловленной онкогенными типами вируса папилломы человека / И.А. Тузанкина, Ю.Н. Кузнецова, Н.М. Герасимова // Иммунология. – 2005. – № 4. – С. 221-225.
11. A shift to a peripheral Th2-type cytokine pattern during the carcinogenesis of cervical cancer becomes manifest in CIN III lesions / A.G. Bais, I. Beckmann, J. Lindemans [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2005. – Vol. 58. – P. 1096-1100.
12. Immune response in cervical dysplasia induced by human papillomavirus: The influence of human immunodeficiency virus-1 co-infection—review / A.F. Nicol, A.T. Fernandez [et al.] // Mem Inst Oswaldo Cruz. – 2005. – Vol. 100 (1). – P. 1-12.
13. The Role of Inflammation in HPV Carcinogenesis / E. Boccardo, A.P. Lepique, L.L. Villa // Carcinogenesis. – 2010. – Vol. 31, № 11. – P. 1905-1912.
14. Travassoli F.A. World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs / F.A. Travassoli, P. Devilee (Eds.) – IARC Press: Lyon, 2003. – P. 262-271.

### ОСОБЕННОСТИ ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ШЕЙКИ МАТКИ ПРИ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ, АССОЦИИРОВАННОЙ С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ У ЖЕНЩИН С НАРУШЕНИЯМИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

*Э.А. Киндратив*

**Резюме.** Проведено морфологическое исследование ткани шейки матки при цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН) у 250 женщин с нарушением репродуктивной функции. В зависимости от степени тяжести ЦИН все случаи разделены на три группы: 1-ая группа – 110 случаев с ЦИН легкой степени (ЦИН-I), 2-ая – 86 случаев с умеренной ЦИН (ЦИН-II), 3-я группа – 54 случая с ЦИН тяжелой степени (ЦИН-III). Полученные нами данные содержания и распределения иммунокомпетентных клеток в шейке матки свидетельствуют о дисбалансе механизмов иммунного контроля клеточного гомеостаза на фоне папилломавирусной инфекции, что определяет формирование и прогрессию неопластического процесса в многослойном плоском эпителии шейки матки.

**Ключевые слова:** местная иммунная система, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, папилломавирусная инфекция, бесплодие.

### FEATURES OF LOCAL IMMUNITY OF THE CERVIX IN CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA ASSOCIATED WITH HPV INFECTION IN WOMEN WITH DISORDERS OF THE REPRODUCTIVE FUNCTION

*E.O. Kindrativ*

**Abstract.** We conducted morphological study of cervical tissue under cervical intraepithelial neoplasia in 250 women with reproductive dysfunction. Depending on the severity of CIN all cases were divided into three groups: 1<sup>st</sup> group – 110 cases with mild CIN (CIN-I), 2<sup>nd</sup> group – 86 cases with moderate CIN (CIN-II), 3<sup>rd</sup> group – 54 cases with severe CIN (CIN-III). The obtained results for the content and distribution of immunocompetent cells in the cervix indicate about imbalance of immune control mechanisms of cellular homeostasis on the background of human papilloma viral infection (HPV), that determines the formation and proliferation of the neoplastic process in the squamous cell epithelium of the cervix.

**Key words:** immunity, cervical intraepithelial neoplasia, papilloma viral infection, infertility.

PHEI «National Medical University» (Ivano-Frankivsk)

Рецензент – проф. І.С. Давиденко

Buk. Med. Herald. – 2015. – Vol. 19, № 3 (75). – P. 58-61

Надійшла до редакції 25.05.2015 року