ХІРУРГІЯ

УДК 616-076.5+616.98+618.146+618.177

©Е. О. Кіндратів
ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет"

ГІСТОСПЕЦИФІЧНІ ОЗНАКИ ПАПІЛОМАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ПРИ ЦЕРВІКАЛЬНІЙ ІНТРАЕПІТЕЛІАЛЬНІЙ НЕОПЛАЗІЇ У ЖІНОК ІЗ РОЗЛАДАМИ РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ

ГІСТОСПЕЦИФІЧНІ ОЗНАКИ ПАПІЛОМАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ ПРИ ЦЕРВІКАЛЬНІЙ ІНТРАЕПІТЕЛІАЛЬНІЙ НЕОПЛАЗІЇ У ЖІНОК ІЗ РОЗЛАДАМИ РЕПРОДУКТИВНОЇ ФУНКЦІЇ – Проведене комплексне клініко-морфологічне дослідження 250 жінок із цервікальною інтраепітеліальною неоплазією (ЦІН) при розладах репродуктивної функції. У 157 (62,8 %) жінок досліджуваних груп ідентифіковані ДНК вірусу папіломи людини (ВПЛ) високого канцерогенного ризику (ВКР). Встановлена наявність ДНК ВПЛ ВКР у 62 пацієнток (56,4 %) при ЦІН-І, у 53 (61,2 %) – при ЦІН-ІІ та у 42 (77,7 %) – при ЦІН-ІІІ. На гістологічних препаратах шийки матки, забарвлених гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за Ван-Гізоном, трихромом за Массоном, підраховували кількість койлоцитів у 10 репрезентативних полях зору та оцінювали інтенсивність за шкалою: < 100 оцінювали як (+), 100–200 – (++), >200 – (+++). При гістологічному дослідженні біоптатів шийки матки морфологічно верифіковані три форми кондиломатозних вегетацій: гострокінцеві, плоскі та інвертовані. Койлоцитоз наявний у 162 пацієнток із ЦІН, що складають 64,8 %. При ЦІН-І койлоцитоз відмічається у 86 випадках (78,2 %), при ЦІН-ІІ – у 57 (66,3 %), при ЦІН-ІІІ – у 19 жінок (35,2 %). Оцінюючи інтенсивність койлоцитозу, звертає на себе увагу особливість його розподілу відповідно до ступеня неопластичного процесу. Найвища інтенсивність (+++) характерна для зразків шийки матки з ЦІН-І та спостерігається у 46 жінок (53,5 %), найвища частота виявлення мінімальної інтенсивності (+) характерна для ЦІН-ІІІ і становить 63,2 %. Отже, з прогресією непластичних процесів шийки матки відмічається зниження кількості специфічних маркерних клітин – койлоцитів у багатошаровому плоскому епітелії шийки матки.

ГИСТОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ПРИ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ У ЖЕНЩИН С РАССТРОЙСТВАМИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ – Проведено комплексное клинико-морфологическое исследование 250 женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (ЦИН) при расстройствах репродуктивной функции. В 157 (62,8 %) женщин исследуемых групп идентифицированы ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) высокого канцерогенного риска (ВКР). Установлено наличие ДНК ВПЧ ВКР в 62 пациенток (56,4 %) при ЦИН-І, в 53 (61,2 %) – при ЦИН-ІІ и в 42 (77,7 %) – при ЦИН-ІІІ. На гистологических препаратах шейки матки, окрашенных гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, трихромом за Массоном, подсчитывали количество койлоцитов в 10 репрезентативных полях зрения и оценивали интенсивность по шкале : <100 оценивали как (+), 100–200 – (++), > 200 – (+++). При гистологическом исследовании биоптатов шейки матки морфологически верифицированы три формы кондиломатозних вегетаций: остроконечные, плоские и инвертированные. Койлоцитоз имеющийся в 162 пациенток с ЦИН, составляющих 64,8 %. При ЦИН-И койлоцитоз отмечается в 86 случаях (78,2 %), при ЦИН-ІІ – в 57 (66,3 %), при ЦИН-ІІІ – у 19 женщин (35,2 %). Оценивая интенсивность койлоцитоза, обращает на себя внимание особенность его распределения в соответствии со степенью неопластического процесса. Высокая интенсивность (+++) характерна для образцов шейки матки с ЦИН-І и наблюдается у 46 женщин (53,5 %), высокая частота выявления минимальной интенсивности (+) характерна для ЦЕН-ІІІ и составляет 63,2 %. Итак, с прогрессией непластичных процессов шейки матки отмечается снижение количества специфических маркерных клеток – койлоцитов в многослойном плоском эпителии шейки матки.

HISTOLOGY SPECIFIC FEATURES FOR PAPILLOMAVIRUS INFECTION DURING CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA IN WOMEN WITH REPRODUCTIVE FUNCTION DISORDERS – We made a comprehensive clinical and morphological investigation of 250 women with cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in disorders of reproductive function. The DNA of human papillomavirus (HPV) high carcinogenic risk (WRC) was identifying in 157 (62.8 %) women from studied groups. The presence of DNA HPV WRC established inr 62 patients (56.4 %) with CIN-1 and in 53 (61.2 %) - with CIN-II, and 42 (77.7 %) – with CIN-III. We counted the number of koilocyte in 10 representative fields of view and evaluate the intensity on a scale <100 evaluated as (+), 100-200 – (++), > 200 - (+++) in histological preparations of the cervix, stained with hematoxylin and eosin, pikrofuksyn by Van-Hizon, tryhrom by Masson. Histological examination of biopsies of the cervix morphologically verified three forms of the condylom vegetations: pointed, flat and inverted. In 162 patients with CIN, was constituting 64.8 % available koilocytosis. During CIN-I koilocytosis observed in 86 cases (78.2 %) with CIN-II – in 57 (66.3 %), with CIN-III – in 19 women (35.2 %). Noteworthy peculiar properties division of koilocytosis, according to the degree of neoplastic process about assessing the its intensity. The highest intensity (+++) is characterized for samples of cervical CIN-I and observed in 46 women (53.5 %); the highest incidence of minimum intensity (+) characterized for CIN III and is 63.2 %. Thus, observed reduction in specific cell marker – balloon cell degeneration in stratified squamous epithelium of the cervix with the progression of cervical neoplastic processes.

Ключові слова: ВПЛ-інфекція, цервікальна інтраепітеальна неоплазія, безплідність.
Ключевые слова: ВПЧ-инфекция, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, бесплодие.
Key words: HPV-infection, cervical intraepithelial neoplasia, infertility.

Вступ Одним із найважливіших питань акушерства та гінекології є своєчасна діагностика фонових та передракових процесів шийки матки, що зумовлено зростанням захворюваності на цервікальний рак, особливо у віковій категорії 20–35 років. Внаслідок багатопрофільного вивчення проблеми раку шийки матки значно поглибили знання етіології, патогенезу, профілактики, клініки, діагностики та лікування цього захворювання [1, 2, 6, 9].

Дані, отримані завдяки новітнім технологіям дослідження, вказують на зв'язок вірусу папіломи людини (ВПЛ) з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією та раком шийки матки [2, 5, 6, 8, 9].

Перебіг папіломавірусної інфекції може бути в трьох формах: клінічній, субклінічній та латентній [7, 10]. Критерії щодо діагностики папіломавірусної інфекції (ПВІ) характеризуються різноманітністю. Особ-

ливо це стосується її субклінічної форми, яка часто супроводжує цервікальну інтраепітеліальну неолплазію. Патогномонічною та цитоморфологічною ознакою ПВІ є койлоцитоз [3, 4]. Койлоцит – специфічна маркерна клітина проміжного або поверхневих шарів шийки матки. Клітини, як правило, оксифільно забарвлені, неправильної, витягнутої чи овальної форми з чіткими межами, з вираженою зоною просвітлення довкола ядра, яка отримала назву "перинуклеарне гало". Вважають, що внаслідок порушення метаболізму, пов'язаного з репродукцією вірусу, відбувається частковий лізис цитоплазми навколоядерної зони з утворенням чисельних порожнини, злиттям їх та утворенням балоноподібних клітин [3, 4, 10].

Мета дослідження стало об'єктивізувати морфологічну діагностику цервікальної інтраепітеліальної неоплазії у жінок із безпліддям з врахуванням інтенсивності койлоцитозу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Проведене комплексне клініко-морфологічне дослідження 250 жінок з 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, Міжнародної класифікації хвороб X перегляду (1995) та Міжнародної гістологічної класифікації пухлин ВООЗ №13.

Залежно від ступеня тяжкості ЦІН усі випадки поділили на три дослідні групи: перша група – 110 випадків із легким ступенем ЦІН (ЦІН-I); друга група – 86 випадків із ЦІН помірного ступеня (ЦІН-II); третя група – 54 випадки з ЦІН тяжкого ступеня (ЦІН-III). Середній вік жінок склав (29,4±1,3) року.

Від первинного безпліддя страждали 58,4 % жінок, вторинного 41,6 %. Серед причин первинного безпліддя переважали трубно-перитонеальний фактор (46,6 %), який виявлено у 68 жінок. Серед обстежених жінок трубно-перитонеальний фактор, як первинний, зустрічається у 27,2 %, гормональне безпліддя діагностовано у 37 пацієнток (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 % пацієнток. 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 у 3,6 % пацієнток.

Контрольну групу склали 30 жінок із розладами репродуктивної функції, у яких при гістологічному дослідженні цервікальних біоптатів не виявлено жодної патології шийки матки. Середній вік пацієнток контрольної групи склав (23,9±0,82) року.

Усі пацієнтки були обстежені на предмет виявлення папіломавірусної інфекції. Для виявлення ПВІ, як найбільш чутливий метод, застосовувалась полімеразно-ланцюгова реакція із гібридизаційно-флюоресцентною детекцією у реальному часі. Ідентифікували ДНК вірусу папіломи людини (ВПЛ) високого канцерогенного ризику 12 типів (16, 18, 31, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 типів). 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 пацієнток (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, встановлено 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 пацієнток (41,4 %) та у 40 обстежених (25,5 %) виявлене вірусне навантаження >5 копій Ig ВПЛ/10^5 клітин.

На гістологічних препаратах шийки матки, забарвлених гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за Ван-Гізон, трихромом за Массоном, підраховували кількість койлоцитів у 10 репрезентативних полях зору та оцінювали інтенсивність за шкалою: < 100 койлоцитів оцінювали як (+), 100–200 – (++), >200 – (+++).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ У жінок із розладами репродуктивної функції найбільш частими макроскопічними ознаками персистенції папіломавірусної інфекції є її клінічні та субклінічні форми, а саме: гострокінцеві кондиломи, плоскі папіломи, комбіновані форми кондиломатозних вегетацій та ознаки вірусного запалення.

Гострокінцеві кондиломи являють собою білісуваті епітеліальні утворення з пальцеподібними папілярними виростами, що надає їм неправильної форми. Після обробки 3 % оцтовою кислотою кондиломатозні вегетації набувають перлинного блиску.

Плоскі кондиломи білісуватого кольору з рівними контурами, гладкою поверхнею, не виступають над поверхнею ектоцервіксу, іноді з легкою мозаїчністю, пунктуацією та лейкоплакією. Субклінічні форми ПВІ характеризуються такими критеріями: ділянки ураження мають блискучий білий колір, зморщену поверхню, маленькі міжкапілярні проміжки та чітку межу з прилеглими тканинами, іноді відмічаються атипові судини.

Поряд із специфічними для ПВІ змінами багатошарового плоского епітелію діагностуються й інші опосередковані ознаки пошкодження ектоцервіксу: оцтово-білий епітелій, мозаїка, пунктація.

При гістологічному дослідженні біоптатів шийки матки морфологічно верифіковані три форми кондиломатозних вегетацій: гострокінцеві, плоскі та інвертовані (табл. 1).

Таблиця 1. Кондиломатозні вегетації при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії, асоційованій з ПВІ, у жінок із розладами репродуктивної функції

Кондилома	Група дослідження					
	ЦІН-I (n=110)		ЦІН-II (n=86)		ЦІН-III (n=54)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Гострокінцева	24	21,8	7	8,1	3	5,6
Плоска	9	8,2	18	20,9	2	3,7
Інвертована	7	6,4	2	2,3	3	5,6

У різних комбінаціях виявлено тканинні та клітинні ознаки ПВІ: акантоз, гіперкератоз, базально-клітинна гіперактивність, койлоцитоз, посилення мітотичної активності з появою поодиноких патологічних мітозів.

Прямі ознаки ПВІ були представлені характерними фенотипними ознаками ПВІ (койлоцитами, двота багатоядерними клітинами), що розташовувались насамперед у середньому шарі епітелію. У нижній 1/3 епітеліального пласта переважали парабазальні та базальні клітини. Виявлявся виражений поліморфізм ядер, мали місце помірні зрушення ядерно-цитоплазматичного відношення.

В ектоцервіксі койлоцити ідентифікувались як клітини овальної і/або витягнутої форми, з чітко окресленою цитоплазматичною мембраною. Цитоплазма з вираженою вакуолізацією. Навколо гіперхромного ядра наявна зона просвітлення (“перинуклеарне гало”), різна за розмірами. Койлоцити, головним чином, локалізувались у проміжному та верхньому шарах, акантозних тяжах багатошарового плоского епітелію.

Койлоцитоз наявний у 162 пацієнток із ЦІН, що складають 64,8 %. При ЦІН-І койлоцитоз відмічається у 86 випадках (78,2 %), при ЦІН-ІІ – у 57 (66,3 %), при ЦІН-ІІІ – у 19 жінок (35,2 %). Розподіл інтенсивності койлоцитозу, залежно від ступеня ЦІН, наведено у таблиці 2.

Таблиця 2. Інтенсивність койлоцитозу при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії у жінок із розладами репродуктивної функції (абс.ч., %)

Група дослідження	Наявність койлоцитозу		Койлоцитоз					
	абс.	%	+		++		+++	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
ЦІН-І (n=110)	86	78,2	12	13,9	28	32,6	46	53,5
ЦІН-ІІ (n=86)	57	66,3	7	12,2	29	33,7	21	24,4
ЦІН-ІІІ (n=54)	19	35,2	12	63,2	5	26,3	2	10,5

ВИСНОВКИ При ЦІН, асоційованій з ПВІ, наявний койлоцитоз ектоцервіксу. Оцінюючи інтенсивність койлоцитозу, звертає на себе увагу особливість його розподілу, відповідно до ступеня неопластичного процесу. Найвища інтенсивність (+++) характерна для зразків шийки матки з ЦІН-І та спостерігається у 46 жінок (53,5 %), найвища частота виявлення мінімальної інтенсивності (+) характерна для ЦІН-ІІІ і становить 63,2 %. Отже, з прогресією неопластичних процесів шийки матки відмічається зниження кількості специфічних маркерних клітин – койлоцитів у багатошаровому плоскому епітелії шийки матки.

Перспективи подальших досліджень Для удосконалення та об’єктивізації діагностики цервікальної інтраепітеліальної неоплазії проводиться пошук нових морфологічних критеріїв, заснованих на молекулярно-біологічному дослідженні тканини шийки матки.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Козаченко В. П. Рак шейки матки / В. П. Козаченко // Современная онкология. – 2001. – Т. 2 (2). – С. 2–4.

2. Киселев В. И. Этиологическая роль вируса папилломы человека в развитии рака шейки матки: генетические и патогенетические механизмы / В. И. Киселев, О. И. Киселев // Цитокины и воспаление. – 2003. – Т.2, № 4. – С. 31–38.

3. Кисина В. И. Патологические процессы слизистой оболочки шейки матки, ассоциированные с вирусом папилломы человека / В. И. Кисина, А. А. Кубанов // Вестник дерматологии и венерологии. – 2005. – № 4. – С. 29–32.

4. Клинико-морфологические особенности папилломавирусной инфекции гениталий у женщин / С. И. Роговская, Л. С. Ежова, В.Н. Прилепская [и др.] // Гинекология. – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 57–59.

5. Мазуренко Н. Н. Роль вирусов папилломы в канцерогенезе шейки матки / Н. Н. Мазуренко // Современная онкология. – 2002. – № 1. – С. 7–10.

6. Подистов Ю. И. Роль вируса папилломы в развитии предрака и рака шейки матки : обзор литературы / Ю. И. Подистов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 5. – С. 44–50.

7. Шевчук А. В. Кольпоскопический, цитологический и гистологический методы исследования в диагностике генитальной папилломавирусной инфекции / А. В. Шевчук : матеріали міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених. – Тернопіль, 2002. – С. 121.

8. Bosch F. X. Epidemiology of human papsllomavirus infection: new options for cervical cancer prevention / F. X. Bosch // Salud. Publica Mex. – 2003. – Vol. 45. – P. 326 – 339.

9. Burd E. M. Human papillomavirus and cervical cancer / E. M. Burd // Clin. Microbiol. Rev. – 2003. – Vol. 16, № 1. – P. 1–17.

10. Von Knebel Doeberitz M. New markers for cervical dysplasia to visualise the genomic chaos created by aberrant oncogenic papillomavirus infections / M. Doeberitz Von Knebel // Eur. J. Cancer. – 2002. – Vol. 38. – P. 2229 – 2242.

Отримано 05.11.14