

УДК 616-071+591.87+618.146+616.98

Е.О. КіндратівДВНЗ "Івано-Франківський
національний медичний університет",
м. Івано-Франківськ**УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ЕПІТЕЛІЮ
ШИЙКИ МАТКИ ПРИ ЦЕРВІКАЛЬНІЙ
ІНТРАЕПІТЕЛІАЛЬНІЙ НЕОПЛАЗІЇ,
АСОЦІЙОВАНОЇ З ПАПІЛОМАВІРУСНОЮ
ІНФЕКЦІЄЮ****Ключові слова:** цервікальна
інтраепітеліальна неоплазія,
папіломавірусна інфекція,
ультраструктура епітелію.**Резюме.** У статті подано результати електронномікроскопічного дослідження цервікального епітелію при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії, асоційованій з папіломавірусною інфекцією, яке показало структурно-функціональні зміни, що проявлялися в реорганізації епітеліальних клітин ектоцервіксу. Встановлено порушення фаз реакцій послідовного прикріплення, розшарування епітеліального пласта, наявність у клітинах, переважно проміжного шару, вірусних частинок та ознак паракератозу. Міжклітинні контакти багатошарового плоского епітелію шийки матки характеризуються збільшенням числа міжепітеліальних з'єднань за допомогою контактуючих мікроросинок та зменшенням десмосом. Таке порушення міжклітинних взаємовідносин відбувається внаслідок нездатності неопластичних клітин до нормального морфогенезу. При цервікальній інтраепітеліальній неоплазії спостерігається мітотична активність, причому в міру прогресії неопластичного процесу мітотично-активні клітини зустрічаються у всіх шарах епітеліального пласту ектоцервіксу. Встановлено наявність дегенеративних та деструктивних змін у судинах мікроциркуляторного русла шийки матки. У внутрішній оболонці та ендотеліоцитах визначається виражений набряк, мікроклазмотоз, просвіт капілярів у багатьох ділянках вивонений еритроцитами з ознаками сладж-феномену.**Вступ**

Здоров'я жінки є безперечною складовою здорового суспільства. Передракові стани та рак шийки матки утримують лідерство в структурі гінекологічної захворюваності, вони є однією з головних причин втрати репродуктивної функції та зниження працездатності жінок віком 35-45 років [1, 4].

Для профілактики раку шийки матки особливу увагу слід приділяти виявленню і лікуванню фонових і передракових станів, до яких належить цервікальна інтраепітеліальна неоплазія (ЦІН). На сьогоднішній день доведена роль вірусу папіломи людини (ВПЛ) у канцерогенезі шийки матки [5, 6, 7, 8]. Ультраструктурні зміни багатошарового плоского епітелію шийки матки при ЦІН вивчені недостатньо, особливо на тлі інфікування ВПЛ [2, 3]. Тому актуальність дослідження значною мірою зумовлена необхідністю пошуку нових шляхів профілактики розвитку передракових станів та раку шийки матки [9, 10].

Мета дослідження

Встановлення ультраструктурних особливостей змін цервікального епітелію при церві-

кальній інтраепітеліальній неоплазії, асоційованій з папіломавірусною інфекцією.

Матеріал і методи

З метою вивчення особливостей ультраструктурної організації слизової оболонки шийки матки при ЦІН, асоційованій з ПВІ використали електронномікроскопічне дослідження. Для дослідження використали тканину шийки матки 55 жінок з розладами репродуктивної функції, з яких 45 - з ЦІН, асоційованій з ПВІ та 10 пацієнток склали контрольну групу в яких не виявлено патологію шийки матки.

При заборі матеріалу для електронномікроскопічного дослідження дотримано загальноприйнятих правил швидкості висікання та атравматичності. Шматочки шийки матки фіксували в розчині 1,6% розчині глутарового альдегіду на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4) на 1,5 год при постійному перемішуванні при температурі +4°C. Потім шматочки промивали в 0,1 М фосфатному (рН 7,4) на протязі 18-20 год при температурі +4°C і фіксували в 2% розчині тетроксиду осмію (O₅O₄) на протязі 1,5 год. Потім шматочки зневоднювали в серії спиртів зрос-

таючої концентрації (30°, 50°, 70°, 80°, 96°, 100°) по 10 хв з триразовою зміною кожної порції, інкубували в окису пропілену (1 година), витримували в суміші епона і окису пропілену (співвідношення 1:1) протягом 1,5 годин, після чого утримували в суміші епонів при температурі +37°C протягом двох год. Шматочки розміщували в поліетиленові капсули, що були заповнені свіжою порцією суміші епонів, і полімеризували при 60°C протягом 24 годин. Виготовлення суміші епонів з вихідних компонентів, а також введення каталізатора полімеризації ДМР-30 проводилася за Лафтом. Напівтонкі (1мкм) і ультратонкі (50нм) зрізи виготовляли на ультра мікротомі "LKB-8800 HI" (Швеція) з використанням скляних ножів. Напівтонкі зрізи монтували на предметних скельцях і забарвлювали в суміші, що містить рівні частини 1% розчину метиленового синього і 1% розчину бури з подальшою світловою мікроскопією. Після вибору ділянки прицільно виточувалася "піраміда". Ультратонкі зрізи розміщували на мідні сіточки, попередньо вкриті формваровою плівкою. Для покращання якості зображення проводили подвійне контрастування тканини уранілі ацетатом і цитратом свинцю за Рейнольдсом.

Вивчення ультраструктури шийки матки проведено в електронному мікроскопі "JEM-100B" (Японія) при прискорюючій напрузі 60-80кВ з подальшим фотографуванням на ядерні і діапозитивні пластинки при збільшенні від 1000 до 40000.

Обговорення результатів дослідження

Електронномікроскопічне дослідження цервікобіоптатів при ЦН, асоційованої з ПВІ у жінок з розладами репродуктивної функції показало структурно-функціональні зміни, які проявлялись в реорганізації епітеліальних клітин ектоцервікусу.

При цервікальній інтраепітеліальній неоплазії базальні клітини приймають видовжену, овальну форму. Ядра займають ексцентричне положення і, головним чином, зосереджуються в апікальній частині клітини та містять 1-2 ядерця. Зовнішня ядерна оболонка утворює численні інвагінації та вип'ячування. Матрикс нуклеоплазми просвітлений, гетерохроматин конденсований по периферії ядра та у вигляді поодиноких глибок в каріоплазмі. У цитоплазмі багато вільних рибосом, відмічається гіперплазія мітохондрій, незначна кількість тонофібрил. На клітинній поверхні виявляються вільні та контактуючі мікроворсинки, а також поодинокі десмосоми. Причому останні виявляються на апікальній поверхні, що контактує з парабазальними клітинами. В контактуючих мікроворсинках спостерігається скупчення ма-

теріалу високої електронної щільності і тонофібрил. Базальна мембрана звивиста. З базальною мембраною клітини контактують за допомогою виражених широких цитоплазматичних виростів та поодиноких напівдесмосом. Зустрічаються базальні клітини, які прикріплені до базальної мембрани тонкою цитоплазматичною ніжкою. За рахунок набряку міжклітинний простір нерівномірно розширений, містить дрібнозернисту незначно осміофільну гомогенну масу, нейтрофільні гранулоцити, лімфоцити. В епітеліальних клітинах, які вступили в контакт із нейтрофільним гранулоцитом спостерігається набухання мітохондрій, дилатація та фрагментація структур ендоплазматичної сітки. Базальна мембрана у всіх випадках ЦН збережена, відмічається її розволокнення та часткова фрагментація.

Клітини парабазального шару округлої та овальної форми. Ядра займають центральне положення, збільшені в розмірах з множинними інвагінаціями. Хроматин розподілений дифузно з поодиноким конденсацією. Ядерця збільшені, складаються з гранулярного та фібрилярного компонента. Мітохондріальний матрикс помірної електронної щільності. Кристи збережені. Ендоплазматична сітка із частково розширеними каналцями. По всій цитоплазмі хаотично розміщені мікрофіламенти. Міжклітинні простори в окремих ділянках різко звужені, клітини щільно прилягають одна до одної бічними поверхнями. На поверхні парабазальних клітин наявна велика кількість контактуючих мікроворсинок, поодинокі десмосоми. Такі міжклітинні контакти зустрічаються на різних рівнях епітеліального шару, включаючи проміжний та поверхневий шари.

Проміжні клітини полігональної форми. Ядра овальної форми. Зустрічаються клітини із пікнотичним ядром високої осміофільності, звивистою нуклеолемою, яка утворює багато вип'ячувань та інвагінацій. Перинуклеарний простір розширений. Цитоплазма вакуолізована, містить редуковану ендоплазматичну сітку. Мітохондрії набухші, окремі з фрагментацією крист та гомогенізацією матриксу. Переважна більшість клітин проміжного шару містить велику кількість тонофібрил та гранул глікогену у цитоплазмі. Як в ядрі, так і в цитоплазмі таких клітин виявляються вірусні частинки високої осміофільності.

Починаючи з нижніх шарів поверхневого шару наявні тонофібрили в глибоких ділянках цитоплазми, які групуються в щільні, хаотично розміщені пучки. На периферії клітин, їх кількість зменшується. Ближче до поверхні епітеліального пласту вони зникають, натомість, зустрічаються

клітини, в цитоплазмі яких спостерігається електронно-щільна речовина волокнистого або гомогенного характеру, округлі утворення різної величини (гранули кератогаліну). Між клітинами виявляються широкі розриви, утворюючи міжклітинний "коридор", в якому виявляються інтраепітеліальні нейтрофільні лейкоцити, лімфоцити, зернистий вміст. Зв'язок між клітинами частково зберігається, в основному, у вигляді контактуючих мікрворсин. При ЦН спостерігається мітотична активність, причому в міру прогресії неопластичного процесу мітотично-активні клітини зустрічаються у всіх шарах епітеліального пласту ектоцервіксу.

У власній пластинці слизової оболонки шийки матки присутня велика кількість плазматичних клітин, лімфоцитів, а також активних форм фібробластів. В частині випадків спостерігається фіброз. При цьому виявляються пучки колагенових волокон.

При різко вираженому цервіциті спостерігаються деструктивні зміни епітелію у вигляді лізису та деструкції органел, обширних вогнищ спустошення цитоплазми. В ядрах виражена конденсація хроматину. Міжклітинні контакти зруйновані. Різко виражений набряк міжклітинного простору, в якому міститься пластівцеподібний матеріал, лейкоцити, лімфоцити, плазматичні клітини та макрофаги.

У субепітеліальній стромі виявляються комплекси клітин ектоцервікального епітелію. Вони мають високу циліндричну форму з базально розміщеним ядром. Цитоплазма заповнена великою кількістю секреторних гранул різних розмірів та електронної щільності. Ядра із різко звислою нуклеолою. Конденсований хроматин невеликими глибокими розміщується вздовж нуклеолеми і частково в каріоплазмі. На апікальній поверхні наявні мікрворсинки.

На електронограмах стінки судин у внутрішній оболонці та ендотеліоцитах визначається виражений набряк. Просвіт капілярів в багатьох ділянках вповнений еритроцитами з ознаками сладж-феномена. Мітохондрії ендотеліальних клітин гіпертрофовані, іноді із зруйнованими кристами. Ядра просвітлені, хроматин розміщений на периферії нуклеоплазми, перинуклеарні простори розширені. Люмінальна поверхня ендотеліоцитів містить мікрворсинки різної товщини з ознаками мікроклазматозу. Пластинчастий комплекс представлений цистернами з гладкоконтурних мембранних профілів. У складі його везикулярного компонента виявлені дрібні пухирці. В окремих ендотеліоцитах спостерігали первинні

лізосоми. В розширених перикапілярних просторах містилися потовщені колагенові волокна різного ступеня зрілості. Окремі капіляри здавлені сполучною тканиною, про що свідчить наявність в їх просвіті деформованих еритроцитів.

Висновки

Таким чином, електронномікроскопічне дослідження ектоцервіксу при ЦН, асоційованої з папіломавірусною інфекцією у жінок з розладами репродуктивної функції, показало різного ступеня порушення фаз реакцій послідовного прикріплення, розшарування епітеліального пласта, наявність в клітинах, переважно проміжного шару, вірусних частинок та ознак паракератозу. Міжклітинні контакти багат шарового плоского епітелію шийки матки при ЦН, асоційованої з папіломавірусною інфекцією, характеризуються збільшенням числа міжепітеліальних сполучень за допомогою контактуючих мікрворсинок та зменшенням десмосом. Таке порушення міжклітинних взаємовідносин відбувається внаслідок недостатності неопластичних клітин до нормального морфогенезу.

Перспективи подальших досліджень

Перспективними є подальші проведення дослідження для удосконалення та розробки нових адекватних засобів для попередження інфікування вірусом папіломи людини з метою забезпечення профілактики розвитку передракових станів та раку шийки матки.

Література. 1. Бистров Л. А. Захворювання шийки матки в жінок репродуктивного віку при безплідності в шлюбі / Л. А. Бистров, Е. А. Конев // Вісник наукових досліджень. - 2005. - № 4. - С. 19 - 21. 2. Крутовских В. А. Роль нарушенной межклеточных щелевых контактов в генезе рака и других патологических состояний / В. А. Крутовских // Архив патологии. - 2000. - № 1. - С. 3 - 7. 3. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия в патологии / И. И. Иванов, О. П. Гладских, А. В. Кузнецова [и др.] // Молекулярная медицина. - 2005. - № 2. - С. 16 - 20. 4. Подистов Ю. И. Роль вируса папилломы в развитии предрака и рака шейки матки (обзор литературы) / Ю. И. Подистов // Клин. лаб. диагн. - 2003. - № 5. - С. 44 - 50. 5. Прилепская В. Н. Значение вируса папилломы человека в развитии диспластических процессов шейки матки / В. Н. Прилепская, Н. И. Кондриков, Т. Н. Бебнева // Гинекология. - 2000. - Т. 2, № 3. - С. 80 - 82. 6. Сафронникова Н. Р. Факторы онкологического риска при папилломавирусной инфекции / Н. Р. Сафронникова, М. И. Зарайский, А. Б. Чухловин // Вопр. онкол. - 2003. - Т. 49, № 4. - С. 450 - 454. 7. Трушина О. И. Роль папилломавирусной инфекции в генезе РШМ / О. И. Трушина, Е. Г. Новикова // Рос. онкол. ж. - 2005. - № 1. - С. 45 - 52. 8. Bekkers R. L. Epidemiological and clinical aspects of human papillomavirus detection in the prevention of cervical cancer / R. L. Bekkers, L. F. Massuger // Rev. Med. Virol. - 2004. - Vol. 14(2). - P. 95 - 105. 9. Bosch F. X. Epidemiology of human papillomavirus infection: new options for cervical cancer prevention // Salud. Publica Mex. - 2003. - V. 45. - P. 326 - 339. 10. Burd E. M. Human papillomavirus and cervical cancer / E. M. Burd // Clin. Microbiol. Rev. - 2003. - V. 16, № 1. - P. 1 - 17.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭПИТЕЛИЯ
ШЕЙКИ МАТКИ ПРИ ЦЕРВИКАЛЬНОЙ
ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ,
АССОЦИИРОВАННОЙ С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ
ИНФЕКЦИЕЙ

Э.А.Кіндратів

Резюме. В статье приведены результаты электронно-микроскопического исследования цервикального эпителия при цервикальной интраэпителиальной неоплазии, ассоциированной с папилломавирусной инфекцией, которые демонстрируют структурно-функциональные изменения, проявляющиеся в реорганизации эпителиальных клеток эктоцервикса. Установлено нарушение фаз реакций последовательного прикрепления, расслоения эпителиального пласта, наличие в клетках, преимущественно межучточного слоя, вирусных частиц и признаков паракератоза. Межклеточные контакты многослойного плоского эпителия шейки матки характеризуются увеличением межэпителиальных соединений числа с помощью контактирующих микроворсинок и уменьшением десмосом. Такое нарушение межклеточных контактов происходит вследствие невозможности неопластических клеток к нормальному морфогенезу. При цервикальной интраэпителиальной неоплазии выявляется митотическая активность, причем в меру прогрессии неопластического процесса митотически-активные клетки встречаются во всех слоях эпителиального пласта эктоцервикса. В отдельных случаях выявляется фиброз с наличием пучков коллагеновых волокон. Выявлено наличие дегенеративных и деструктивных изменений в сосудах микроциркуляторного русла шейки матки. Во внутренней оболочке и эндотелиоцитах определяется выраженный отек, микроклязматоз, просвет капилляров во многих участках заполнен эритроцитами с признаками сладж-феномена.

Ключевые слова: цервикальная интраэпителиальная неоплазия, папилломавирусная инфекция, ультраструктура эпителия.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF THE CERVICAL
EPITHELIUM WITH CERVICAL INTRAEPITHELIAL
NEOPLASIA ASSOCIATED WITH HPV INFECTION

E.O. Kindrativ

Abstract. The article presents the results of the electron-microscopical research of cervical epithelium with cervical intraepithelial neoplasia associated with HPV infection, which showed structural and functional changes manifesting in reorganization of epithelial cells of ectocervix. The violation of phase of the serial attachment reactions, separation of the epithelial layer, were the presence in cells, mostly of intermediate layer, virus particles and signs of parakeratosis were found. Intercellular contacts of squamous cervical epithelium are characterized by an increased number of intercellular connections via contacting microvilli and decreased size of desmosomes. This violation of intercellular relationships is due to the impossibility of neoplastic cells to the normal morphogenesis. The mitotic activity was observed during cervical intraepithelial neoplasia, and the mitotically active cells were found in all layers of the epithelial layer ectocervix throughout the progression of neoplastic process. Fibroses with the presence of collagenous fibre bundle is revealed in some cases. The degenerative and destructive changes in the vessels of microvasculatory neck of uterus were detected. The evident edema and microclasmatosis in the internal membrane and the endothelial cells are determined, of the lumen of the capillaries are filled with red blood cells with signs of sludge-phenomenon in many areas.

Keywords: cervical intraepithelial neoplasia, human papillomavirus infection, ultrastructure of the epithelium.

PHEI "Ivano-Frankivsk National Medical University",
Ivano-Frankivsk

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №2 (52). - P.99-102.

Надійшла до редакції 01.04.2015

Рецензент – проф. І.С. Давиденко

© Е.О. Кіндратів, 2015