

О.І. АЛЕКСЕЄНКО

Національний інститут раку, Київ
E-mail: oks3010@mail.ru

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕПІТЕЛІЮ ШИЙКИ МАТКИ ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ



Вивчено функціональний стан епітеліальних клітин при запальних захворюваннях шийки матки за допомогою цитогенетичного методу виявлення ядерцевих організаторів хромосом. Встановлено найбільший рівень проліферації і синтезу рРНК за показниками компактних і перехідних нуклеолемних типів ядерцевих організаторів у клітинах циліндричного епітелію, підвищений — у клітинах плоского епітелію проміжного типу і найменший рівень — у клітинах плоского епітелію поверхневого типу.

© О.І. АЛЕКСЕЄНКО, 2011

Вступ. У дослідженнях останніх років активно вивчається питання передракових захворювань шийки матки (ШМ), а саме диспластичних процесів, які передують раку ШМ [1–3]. Доведено основну етіологічну роль вірусів папіломи людини типів 16 і 18 в генезі цервікальної інтраепітеліальної неоплазії та цервікального раку [1–5]. У той же час більшість дослідників вважають, що інфекції, які передаються статевим шляхом, дисбіотичні зміни вагінального біотопу у жінок з ектопією епітелію ШМ та спричинений цими чинниками бактеріальний цервіцит є важливими кофакторами у розвитку дисплазій [1–7].

Патогенетичною основою виникнення цервікальної інтраепітеліальної неоплазії і, в подальшому, раку ШМ є збільшення інтенсивності проліферації клітин, яку визначають за імуногістохімічними показниками експресії Ki-67 і PCNA при дисплазіях, папіломавірусному, хламідійному чи інших специфічних цервіцитах за наявності або без ектопії епітелію ШМ [2, 3, 6, 8]. Поряд з цим у незміненому епітелії ШМ та під час неспецифічного запалення відсутня експресія цих антигенів [3].

Цитогенетичний метод дозволяє дослідити функціональний стан клітин і визначити початкові субклітинні ознаки малігнізації [3, 9, 10]. При цьому виявляються аргентофільні білки, асоційовані з зонами ядерцевих організаторів (ЯО) хромосом. Імпрегновані сріблом ЯО є морфологічним відображенням метаболізму рРНК та показником рівня проліферації клітин, що може бути використано для вивчення епітелію ШМ при запальних процесах і дисплазіях [11–14]. За структурними особливостями формуються різні за ступенем активності морфофункціональні типи ЯО [3, 15]. Їхнє виявлення дозволяє більш точно визначити рівень обміну рибонуклеопротейдів у клітинах, що залежить від інтенсивності проліферації клітин і наявності диспластичних змін.

Мета дослідження — вивчити морфофункціональні типи ЯО у клітинах епітелію ШМ при запальних захворюваннях.

Матеріал та методи. Вивчено цитограми мазків з ШМ і цервікального каналу при запальних процесах у 30 жінок віком від 18 до 49 років. Найбільшу кількість з них спостерігали у віковій групі 31–40 років — 13 осіб (43,33 %). Середній вік пацієнток становив $32,00 \pm 1,55$ роки.

При клінічному дослідженні у жінок спостерігали цервіцити – 6 (20,00 %), кольпіти – 3 (10,00 %), ектопії епітелію ШМ – 2 (6,67 %), ерозії ШМ – 2 (6,67 %). На контрольне цитологічне обстеження при незміненому епітелії ШМ було направлено 17 (56,67 %) осіб. Крім того, у 2 (6,67 %) пацієнток стан епітелію ШМ був підозрілим на дисплазію, в 4 (13,34 %) виявлено дисплазію ШМ, але при цитологічному дослідженні цервікальна інтраепітеліальна неоплазія не визначалась, проте було діагностовано неспецифічне запалення. Гінекологічні мазки отримували в різні дні (8–24) менструального циклу.

Цитологічні препарати фарбували за методами А. Паппенгейма (1899) і Г. Папаніколау (1942) у модифікації Л.К. Куниці (1952). Цитологічне дослідження проводили на мікроскопі OLYMPUS CX 41 при збільшеннях $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$ і $\times 1000$. Усі цитограми були охарактеризовані як запальний тип із вмістом неспецифічної коко-бацилярної мікрофлори згідно з основними цитоморфологічними критеріями і класифікаціями [16–18].

Цитогенетичні особливості епітелію ШМ при запальних захворюваннях вивчали на препаратах, пофарбованих розчином срібла, за відомою методикою Howell et al. [19] у модифікації Болгової та ін. [20]. Основні морфофункціональні типи ЯО оцінено згідно з класифікацією Челідзе та ін. [15] і робочою схемою [21]. Підраховано загальну кількість ЯО з розрахунку на одне ядро та абсолютний і відсотковий вміст кожного їхнього типу – компактного, нуклеолонемного, кільцеподібного і мікроядерця. Визначали також вміст власне нуклеолонемних і перехідних нуклеолонемно-компактних форм. Проаналізовано ЯО переважно в 20–100 ($61,68 \pm 4,70$) ядрах клітин циліндричного епітелію (ЦЕ) у 28 жінок, в 20–100 ($41,24 \pm 4,75$) ядрах клітин плоского епітелію (ПЕ) поверхневого типу у 25 пацієнток та в 11–33 ($18,22 \pm 2,64$) ядрах клітин ПЕ проміжного типу у 9 жінок. Всього досліджено 13508 ЯО в 2922 ядрах клітин епітелію ШМ, з них 7859 – в 1727 ядрах клітин ЦЕ, 4797 – в 1031 ядрі клітин ПЕ поверхневого типу і 852 – в 164 ядрах клітин ПЕ проміжного типу.

Морфофункціональні типи ядерцевих організаторів у клітинах епітелію шийки матки при запальних захворюваннях (M \pm m)

| Морфофункціональні типи ядерцевих організаторів | Циліндричний епітелій (n = 28) | Плоский епітелій | |
|---|--------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| | | поверхневого типу (n = 25) | проміжного типу (n = 9) |
| | Група 1 | Група 2 | Група 3 |
| Компактні | $0,04 \pm 0,01^{2,3}$ | $0,00 \pm 0,00^1$ | $0,00 \pm 0,00^1$ |
| | $0,87 \pm 0,20^{2,3}$ | $0,00 \pm 0,00^1$ | $0,00 \pm 0,00^1$ |
| Нуклеолонемні | $1,17 \pm 0,10^2$ | $0,56 \pm 0,06^{1,3}$ | $1,22 \pm 0,19^2$ |
| | $24,73 \pm 1,95^2$ | $12,81 \pm 1,35^{1,3}$ | $23,99 \pm 3,61^2$ |
| власне нуклеолонемні | $0,63 \pm 0,09$ | $0,45 \pm 0,06^0$ | $0,70 \pm 0,13$ |
| | $12,88 \pm 1,75$ | $10,22 \pm 1,26^0$ | $13,17 \pm 2,20$ |
| перехідні нуклеолонемні | $0,54 \pm 0,05^2$ | $0,11 \pm 0,01^{1,3}$ | $0,52 \pm 0,13^2$ |
| | $11,85 \pm 1,18^2$ | $2,59 \pm 0,35^{1,3}$ | $10,82 \pm 3,17^2$ |
| Кільцеподібні | $0,93 \pm 0,05^{2,3}$ | $1,22 \pm 0,10^1$ | $1,21 \pm 0,05^1$ |
| | $19,52 \pm 0,91^{2,3}$ | $26,95 \pm 1,82^1$ | $23,01 \pm 1,05^1$ |
| Мікроядерця | $2,69 \pm 0,16^2$ | $2,74 \pm 0,10^1$ | $2,87 \pm 0,38$ |
| | $54,88 \pm 1,61^2$ | $60,24 \pm 1,93^1$ | $53,00 \pm 4,35$ |
| Всього ядерцевих організаторів на 1 ядро | $4,83 \pm 0,24$ | $4,52 \pm 0,13$ | $5,30 \pm 0,29$ |

Примітка. У чисельнику – абсолютні значення, у знаменнику – %. ¹ – статистично вірогідні відмінності при порівнянні з групою 1, ² – з групою 2, ³ – з групою 3; ⁰ – власне нуклеолонемних і перехідних нуклеолонемно-компактних форм ядерцевих організаторів у дослідженій групі (p < 0,05).

Статистичне обчислення отриманих результатів проводили з використанням t-критерію Ст'юдента з рівнем вірогідності $p < 0,05$ [22].

Результати досліджень та їх обговорення. Цитогенетичне дослідження епітелію ШМ при запальних захворюваннях показало, що в ядрах клітин ПЕ поверхневого і проміжного типу та ЦЕ переважали функціонально неактивні типи ЯО – мікроядерця, які становили $60,24 \pm 1,93$; $53,00 \pm 4,35$ і $54,88 \pm 1,61$ % відповідно (таблиця і рис. 1). При співставленні з цитоморфологічними ознаками клітин епітелію ШМ, в яких при запальних станах визначались дистрофічні зміни, високий відсоток мікроядерців може бути пояснений руйнівним впливом бактеріальних чинників на клітини.

При дослідженні морфофункціонального складу активних форм ЯО в клітинах ЦЕ у невеликій кількості виявлено компактні типи ($0,87 \pm 0,20$ %) при коливаннях цього показника від $0,00$ до $46,52 \pm 0,40$ % (таблиця, рис. 1 та 2). Вміст нуклеолонемних ЯО склав $24,73 \pm 1,95$ % при амплітуді коливань від $7,58 \pm 0,51$ до $46,52 \pm 0,40$ %. При цьому кількість перехідних нуклеолонемно-компактних і власне нуклеолонемних форм становила приблизно рівні частини – відповідно $11,85 \pm 1,18$ і $12,88 \pm 1,75$ %. Отримані дані свідчать про посилену активацію ЯО хромосом і високу проліферативну активність ЦЕ при запальних процесах ШМ та потенційну можливість виникнення передракових станів.

У той же час в клітинах ПЕ поверхневого і проміжного типу зафіксовано відсутність компактних ЯО (таблиця, рис. 1 та 3, а, б). В ядрах клітин ПЕ проміжного типу кількість нуклеолонемних форм склала $23,99 \pm 3,61$ % при амплітуді коливань від $9,68 \pm 0,05$ до $39,73 \pm 0,87$ %. При цьому показники перехідних нуклеолонемно-компактних і власне нуклеолонемних форм ЯО мали близькі значення – $10,82 \pm 3,17$ і $13,17 \pm 2,20$ % відповідно. У той же час в клітинах ПЕ поверхневого типу виявлено низький вміст нуклеолонемних типів ЯО – $12,81 \pm 1,35$ % при коливаннях від $3,03 \pm 0,24$ до $29,96 \pm 0,11$ %, при цьому переважали власне нуклеолонемні форми – $10,22 \pm 1,26$ %. Отримані дані цитогенетичних досліджень клітин ПЕ вказують на

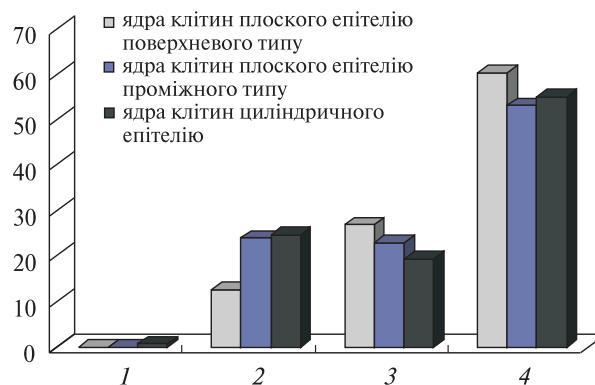


Рис. 1. Основні морфофункціональні типи ядерцевих організаторів у клітинах плоского епітелію поверхневого і проміжного типів та циліндричного епітелію при запальних захворюваннях шийки матки: по вертикалі – %; по горизонталі – 1 – компактні, 2 – нуклеолонемні, 3 – кільцеподібні, 4 – мікроядерця

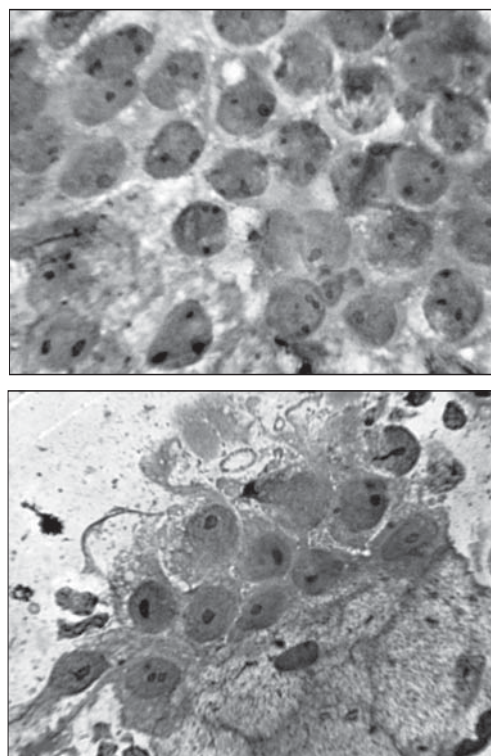


Рис. 2. Основні морфофункціональні типи ядерцевих організаторів у клітинах циліндричного епітелію при запальних захворюваннях шийки матки. Забарвлення за Howell W. et al. [19]. 36. $\times 1000$

збільшений рівень обміну рибонуклеопротейдів у клітинах проміжного типу та низький – у клітинах поверхневого типу.

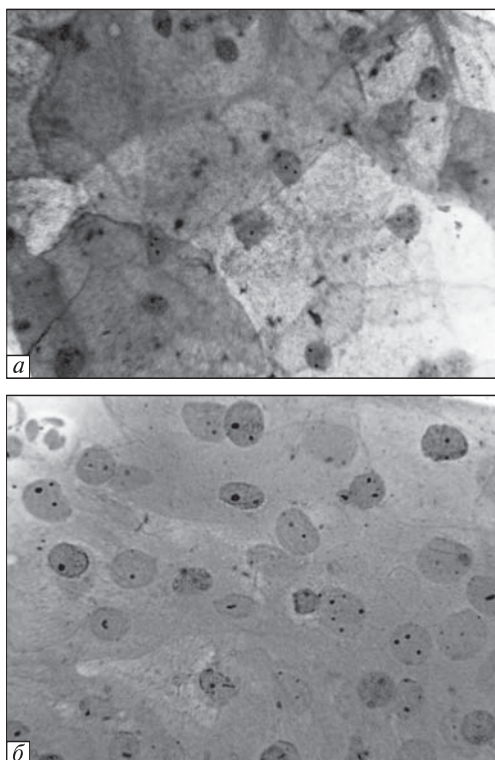


Рис. 3. Основні морфофункціональні типи ядерцевих організаторів у клітинах плоского епітелію при запальних захворюваннях шийки матки: *а* – поверхневого типу, *б* – проміжного типу. Забарвлення за Howell et al. [19]. Зб. $\times 1000$

У пацієнок з клінічним діагнозом дисплазія або при підозрі на дисплазію, в цитологічних препаратах яких передракові зміни не визначались, цитогенетичні показники клітин епітелію ШМ істотно не відрізнялись від загальних середніх значень у досліджених групах.

За даними літератури, при вивченні епітелію ШМ із запальними змінами кількість «точок» ЯО, які мали переважно сферичну форму, коливалась від 1 до 2 [11–14]. При цьому не враховувались структурні особливості ЯО хромосом. У той же час визначення різних за ступенем активності їхніх морфофункціональних типів є більш точним показником рівня синтезу рРНК у клітинах [20, 21].

Проведені цитогенетичні дослідження дозволили виявити кількісні показники активних морфофункціональних типів ЯО хромосом в епітелії ШМ та оцінити рівень обміну рибонуклеопротейдів при запальних процесах.

При цьому в клітинах ПЕ проміжного типу і ЦЕ встановлено підвищений рівень нуклеолонемних ЯО ($23,99 \pm 3,61$ і $24,73 \pm 1,95$ % відповідно) і серед них перехідних нуклеолонемно-компактних форм ($10,82 \pm 3,17$ і $11,85 \pm 1,18$ % відповідно) при порівнянні з ПЕ поверхневого типу (нуклеолонемні ЯО склали $12,81 \pm 1,35$ % відповідно і серед них перехідні форми – $2,59 \pm 0,35$ %), що має статистично вірогідні відмінності. Отримані дані свідчать про посилений синтез рРНК та виражену проліферацію клітин ПЕ проміжного типу і ЦЕ при неспецифічному бактеріальному запаленні. Визначено, що загальна біологічна активність рівня метаболізму рибонуклеопротейдів є вищою в ЦЕ у зв'язку із наявністю в невеликій кількості найбільш функціонально активних компактних типів ЯО ($0,87 \pm 0,20$ %), що вказує на потенційну можливість виникнення дисплазії і, в подальшому, злоякісного переродження цих клітин.

Висновки. Встановлено виражену проліферативну активність клітин циліндричного епітелію при неспецифічному запальному процесі, про що свідчить наявність активних компактних та приблизно рівних частин перехідних нуклеолонемно-компактних і власне нуклеолонемних типів ядерцевих організаторів хромосом – $0,87 \pm 0,20$, $11,85 \pm 1,18$ і $12,88 \pm 1,75$ % відповідно. Виявлено підвищену функціональну і проліферативну активність клітин плоского епітелію проміжного типу при порівнянні з поверхневим при запальних захворюваннях шийки матки за показниками нуклеолонемних ядерцевих організаторів ($23,99 \pm 3,61$ і $12,81 \pm 1,35$ % відповідно) та перехідних нуклеолонемно-компактних форм ($10,82 \pm 3,17$ і $2,59 \pm 0,35$ % відповідно), що має вірогідні відмінності.

О.І. Alekseyenko

CYTOGENETIC FEATURES OF CERVICAL EPITHELIUM AT INFLAMMATORY DISEASES

Functional status of epithelial cells at inflammatory cervical pathologies has been studied with the use of cytogenetic method of detection of chromosome nucleolar organizer regions. The highest level of rRNA proliferation and synthesis has been detected in cylindrical epithelial cells using the indexes of compact and transitional nucleolonem types of nucleolar organizer regions, a higher level – in squamous cells of intermediate type, and the lowest one in squamous epithelium of superficial type.

О.И. Алексеевко

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ЭПИТЕЛИЯ ШЕЙКИ МАТКИ
ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Изучено функциональное состояние эпителиальных клеток при воспалительных заболеваниях шейки матки с помощью цитогенетического метода выявления ядрышковых организаторов хромосом. Установлен наибольший уровень пролиферации и синтеза рРНК по показателям компактных и переходных нуклеолонемных типов ядрышковых организаторов в клетках цилиндрического эпителия, повышенный – плоского эпителия промежуточного типа и наименьший – плоского эпителия поверхностного типа.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Е.Н., Григорян О.Р., Ужегова Ж.А. Современные аспекты этиологии и патогенеза фоновых, предраковых процессов и рака шейки матки (обзор литературы) // Пробл. репродукции. – 2006. – № 5. – С. 17–24.
2. Мелехова Н.Ю., Иванян А.Н., Харитоновна Л.И. и др. Онкологический потенциал различных патологических состояний шейки матки // Журн. акушерства и жен. болезней. – 2006. – 55, № 3. – С. 61–65.
3. Палійчук О.В., Полищук Л.З. Роль інфекційних чинників в етіології і патогенезі інтраепітеліальної неоплазії і раку шийки матки (огляд літератури) // Цитологічний скринінг раку шийки матки : Матеріали наук.-практ. конф. (м. Київ, 25–26 верес. 2007 р.) // Репродуктивное здоровье женщины. – 2007. – № 3. – С. 10–15.
4. Акулина Е.А., Черкасова Е.Д. Папилломавирус и микроэкология влагалища у больных с фоновой, предопухоловой и опухолевой патологией шейки матки // X з'їзд онкологів України (м. Ялта, 10–12 жовт. 2001 р.) : Тез. докл. – Київ, 2001. – С. 216–217.
5. Козлюк В.А., Лакатош В.П., Козлюк А.С. и др. Цервицит и цервикальная интраэпителиальная неоплазия : цитоморфологический и молекулярно-биологический анализ // Лікар. справа. – 2003. – № 8. – С. 29–36.
6. Казачков Е.Л., Казачкова Э.А., Коваль Е.А., Сычугов Г.В. Иммуногистохимические особенности цервикобиоптатов при эктопии цилиндрического эпителия шейки матки, ассоциированной с хроническим цервицитом // Мать и дитя : Тез. докл. VII Рос. форума (г. Москва, 11–14 окт. 2005 г.). – М., 2005. – С. 391.
7. Рудакова Е.Б., Лазарева О.В. Влагалищный дисбиоз на фоне папилломавирусной инфекции и заболевания шейки матки // Там же. – С. 679–680.
8. Ваганова И.Г. Апоптоз и пролиферация эпителиоцитов экзоцервикса у больных папилломавирусным и хламидийным цервицитом // Вопр. онкологии. – 2000. – 46, № 5. – С. 578–582.
9. Райхлин Н.Т., Букаева И.А., Пробатова Н.А. и др. Аргирофильные белки областей ядрышковых организаторов – маркеры скорости клеточной пролиферации // Арх. патологии. – 2006. – 68, № 3. – С. 47–51.
10. Derenzini M., Montanaro L., Treré D. What the nucleolus says to a tumour pathologist // Histopathology. – 2009. – 54, № 6. – P. 753–762.
11. Agarwal J., Gupta J.K. Nucleolar organizer regions in neoplastic and non-neoplastic epithelium of the cervix // Indian. J. Pathol. Microbiol. – 1997. – 40, № 2. – P. 125.
12. Cortes-Gutierrez E.I., Leal-Elizondo E., Cerda-Flores R.M., Leal-Garza C.H. Polymorphism of Ag (+)-NORs in cervical smears from women with cervical cancer // Anal. Quant. Cytol. Histol. – 2001. – 23, № 1. – P. 9–14.
13. Misra J.S., Das V., Srivastava A. et al. AgNOR counts in cervical smears under normal and other cytopathologic conditions // Anal. Quant. Cytol. Histol. – 2005. – 27, № 6. – P. 337–340.
14. Sakai Y.I., Sakai A.T., Isotani S. et al. Morphometric evaluation of nucleolar organizer regions in cervical intraepithelial neoplasia // Pathol. Res. Pract. – 2001. – 197, № 3. – P. 189–192.
15. Челидзе П.В., Зацепина О.В. Морфофункциональная классификация ядрышек // Усп. соврем. биологии. – 1988. – 105, № 2. – С. 252–268.
16. Болгова Л.С., Туганова Т.Н., Воробьева Л.И. и др. Цитологический скрининг рака шейки матки : Пособие для врачей. – К.: СПД О.П. Коляда, 2007. – 148 с.
17. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний шейки и тела матки. – СПб.: СОТИС, 1999. – 336 с.
18. Шабалова И.П. Критерии диагностики заболеваний шейки матки : Цитол. атлас. – М.: Губернская медицина, 2001. – 117 с.
19. Howell W.M., Black D.A. Controlled silver staining of nucleolar regions with protective colloidal developer: a one step method // Experientia. – 1980. – 36. – P. 1014–1015.
20. Болгова Л.С., Туганова Т.Н., Кузина И.С. Модификация окраски по Howell W., Black D. на выявление ядрышкообразующих регионов хромосом при лимфопролиферативных заболеваниях // Рукопись депонирована в ГЦНМБ (Россия). – 20.04.01, № Д-26735.
21. Туганова Т.Н., Болгова Л.С., Махортова М.Г., Алексеевко О.И. Морфофункциональные типы ядрышек в цитологической диагностике фиброаденом и рака молочной железы // Новости клин. цитологии России. – 2004. – 8, № 1/2. – С. 27–30.
22. Бойко И.И., Стаховский Э.А. Математическая обработка данных медицинских исследований. – К.: ИД «Вета-Прес», 2008. – 232 с.

Надійшла 01.02.10