

Морфологічні, гістохімічні та ультраструктурні особливості ретенційних кіст яєчників на тлі інфікування генітальним герпесом

Т.Д. Задорожна, І.Б. Вовк, Н.Є. Горбань

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», м. Київ

Проведення імунофлуоресцентного аналізу тканин капсул яєчників прооперованих хворих виявило маркери вірусу генітального герпесу у 52% хворих. При вивченні особливостей ендотеліальних структур стінки кісти, інфікованої генітальним герпесом, ультраструктурний метод виявив виражені зміни клітинних органел, особливо ядерних, – їхній поліморфізм, збільшення розмірів, наявність мітозів, дистрофії з вакуолізацією, зменшення апоптозного індексу, що характерне для вірусного пошкодження клітин. Доведено, що ураження герпетичною інфекцією статевих органів носить системний характер та призводить до патологічних змін органів-мішеней репродуктивної системи.

Ключові слова: кісти яєчників, генітальний герпес, інфікування, морфологія, імуногістохімія, структурні особливості.

Запальні процеси статевих органів, зумовлені впливом інфекцій, що передаються статевим шляхом, посідають одне з провідних місць серед порушень репродуктивного здоров'я жінок [1, 5, 9, 10, 13–16]. В Україні частота даної патології залишається високою і становить понад 130,0 на 10 тис. жінок віком 18 років і старше і не має тенденції до зниження [4, 8, 11]. До 80% доброякісних утворень яєчників мають кістозну будову [6, 12].

До сьогодні залишається недостатньо дослідженим питання про можливу роль вірусу генітального герпесу (ГГ) у розвитку ретенційних кіст яєчників (РКЯ) на тлі запальних захворювань жіночих статевих органів.

У наших попередніх дослідженнях при співставленні ступенів експресії антигенів вірусу простого герпесу 2-го типу (ВПГ-2) в клітинах епітелію піхви, каналу шийки матки та рівнів концентрацій IgM та IgG-АТ до ВПГ-2 у сироватці крові хворих із РКЯ на тлі вірусно-бактеріального інфікування статевих органів було показано існування певного зв'язку між цими показниками у даної когорти хворих [2, 3, 7]. Ці дані стали підставою для проведення більш глибокого пошуку можливих особливостей герпесвірусного інфікування у хворих із РКЯ.

Мета дослідження: виявлення антигенів ВПГ-2 в тканині капсул РКЯ і вивчення морфологічних, гістохімічних та ультраструктурних особливостей РКЯ на тлі інфікування ГГ.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

З метою вивчення особливостей морфологічних змін клітин стінки капсули РКЯ, залежно від наявності або відсутності ознак ураження тканини капсули кісти вірусом ГГ, нами було досліджено операційний матеріал – ділянки капсул фолікулярних кіст яєчника (ФКЯ) та кіст жовтого тіла (КЖТ) – від 44 хворих з наявністю РКЯ на тлі вірусно-бактеріального інфікування статевих органів, яким було проведено планове хірургічне лікування з приводу трубно-перитонеальної безплідності та РКЯ, результати якого підтверджено морфологічно. До операції сироватки крові

всіх прооперованих жінок були досліджені на наявність маркера СА-125 та було встановлено, що в жодному випадку його рівень не виходив за межі лабораторних референтних значень (35 ОД).

З метою виявлення вірусних антигенів (антигенів вірусу ГГ) в тканині капсули кісти проводили реакцію непрямой імунофлуоресценції із використанням комплекменту – моноклональних типоспецифічних діагностичних антитіл до вірусу ГГ (набір ГерпесСкан (HerpesScan) виробництва ООО «БТК Лабдіагностика» (Москва)). Мікроскопію препаратів проводили під люмінесцентним мікроскопом МЛ-2 з використанням імерсійного об'єктива *90 та синьо-фіолетових світлофільтрів збудження (СФ-1-2, СФ-1-4, СЕС-14-4 або ФС-1-4, СЕС-7-2). При цьому було використано тільки без флуоресценції імерсійну олію або диметилфталат.

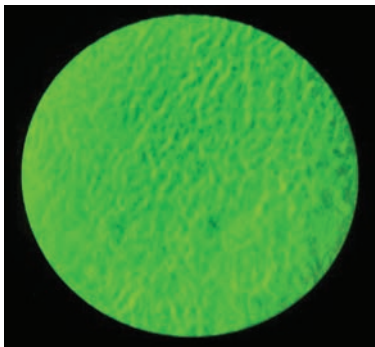
За наявності вірусу ГГ у досліджуваному зразку відбувалась реакція з'єднання комплексу антитіло+барвник із антигеном у матеріалі, яка давала яскраво-зелене світіння; ділянки, де реакція не відбулася за рахунок відсутності антитіл, залишалися червоно-помаранчевого кольору. Оцінювання результатів здійснювали люмінесцентним мікроскопуванням за рівнем яскравості зеленого світіння, ступінь якого позначали хрестами таким чином: «++++» – яскрава, блискуча флуоресценція; «+++» – чітко виражена, достатньо яскрава флуоресценція; «++» – флуоресценція слабка, але морфологія клітин та колір люмінесценції виявлялись достатньо чітко; «+» – флуоресценція дуже слабка, морфологія клітин розрізнялась погано; «-» – флуоресценція відсутня.

Для дослідження морфологічних, гістохімічних та ультраструктурних особливостей тканин стінки капсул РКЯ були використані певні методики. Морфологічну структуру органа вивчали за допомогою забарвлення гематоксилін-еозином. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізон дозволило виявити елементи сполучної тканини (колагенові, м'язові та еластичні волокна, ядра клітин). Ультратонкі зрізи вивчали електронномікроскопічним методом за допомогою електронних мікроскопів «ЕММА-4» та «ПЕМ-125 К». Для визначення ДНК у ядрах клітинних елементів використовували гістохімічний метод Фельгена. PAS-реакцію проводили для візуалізації глікозаміногліканів з дофарбовуванням гематоксиліном Караччі.

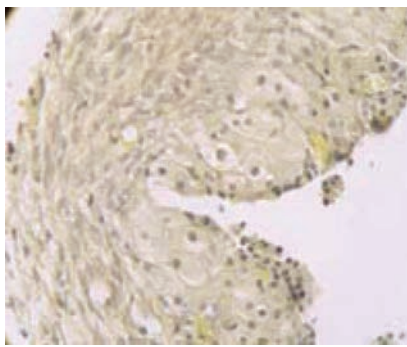
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Було проведено імунофлуоресцентний аналіз тканин капсул РКЯ прооперованих хворих. У 23 хворих (52,2%) із 44 прооперованих в тканині капсули кісти було виявлено маркери вірусу ГГ (1-а група, основна); у 21 пацієнтки ознак вірусного ураження тканини капсули кісти виявлено не було (2-а група, порівняння). Установлено, що в матеріалі від жінок 1-ї групи переважну більшість склали ФКЯ, які були виявлені у 87% випадків, тоді як КЖТ становили лише 13%.

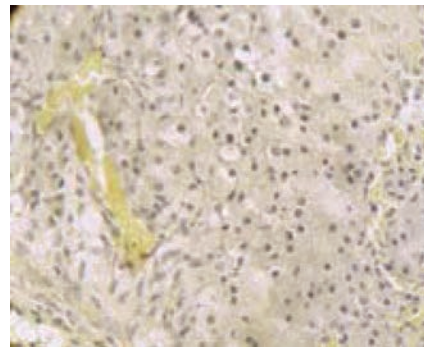
На мал. 1 (мікрофотографія) представлений випадок ви-



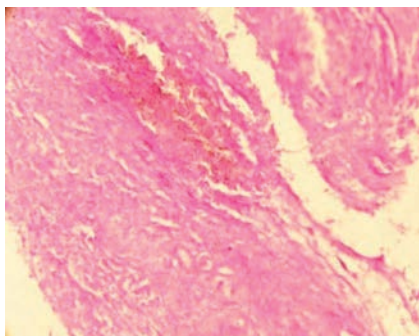
Мал. 1. Специфічна люмінесценція антигенів вірусу генітального герпесу. Прямий метод Кунса. Мікрофотографія. Об. $\times 90$. Ок. $\times 5$ (Пацієнтка Б., іст. хв. № 375)



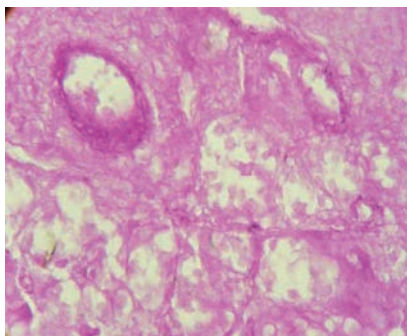
Мал. 2. Тканина капсули ФКЯ, інфікована ВПГ-2 «++++». Гранульозні і лютеїнізовані клітини вистилають стінку кісти. Забарвлення пірофуксином за ван Гізон. Мікрофотографія. Об. $\times 20$. Ок. $\times 10$ (Пацієнтка Г., іст. хв. № 984)



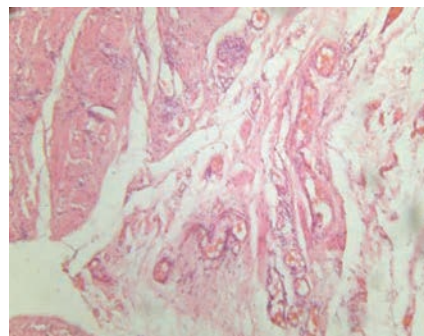
Мал. 3. Тканина капсули ФКЯ, інфікована ВПГ-2 «++++». Гранульозні і лютеїнізовані клітини вистилають стінку кісти. Забарвлення пірофуксином за ван Гізон. Мікрофотографія. Об. $\times 20$. Ок. $\times 10$ (Пацієнтка І., іст. хв. № 1024)



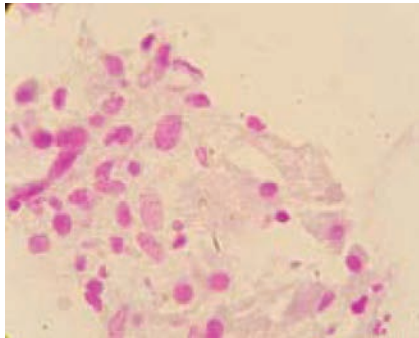
Мал. 4. Тканина капсули ФКЯ, інфікована ВПГ-2 «++++». Вогнище фіброзної тканини з фокусами крововиливів. PAS-реакція. Мікрофотографія. Об. $\times 20$. Ок. $\times 10$. (Пацієнтка Г., іст. хв. № 984)



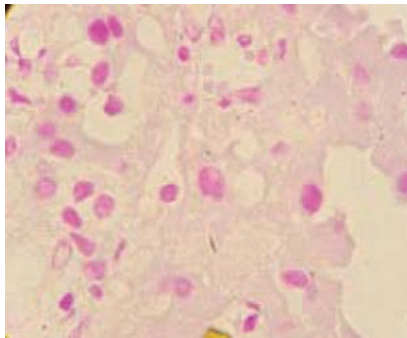
Мал. 5. Тканина капсули ФКЯ, інфікована ВПГ-2 «++++». У стінці кісти вогнища фіброзу судин. PAS-реакція. Мікрофотографія. Об. $\times 40$. Ок. $\times 10$ (Пацієнтка В., іст. хв. № 601)



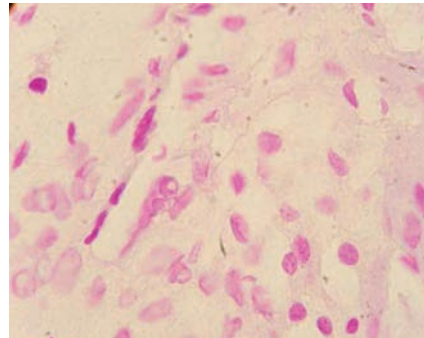
Мал. 6. Тканина капсули ФКЯ, інфікована ВПГ-2 «++++». Наявність окремих судинних проліфератів. PAS-реакція. Мікрофотографія. Об. $\times 40$. Ок. $\times 10$ (Пацієнтка Д., іст. хв. № 66)



Мал. 7. Тканина капсули ФКЯ, інфікована ВПГ-2 «++++». Виражена реакція у поліморфних ядрах з вогнищами мітозів і вакуольної дистрофії. Гістохімічна реакція на ДНК за Фельгеном. Мікрофотографія. Об. $\times 40$. Ок. $\times 10$ (Пацієнтка В., іст. хв. № 601)



Мал. 8. Тканина капсули ФКЯ, інфікована ВПГ-2 «++++». Виражена реакція у поліморфних ядрах з вогнищами мітозів і вакуольної дистрофії. Гістохімічна реакція на ДНК за Фельгеном. Мікрофотографія. Об. $\times 40$. Ок. $\times 10$ (Пацієнтка П., іст. хв. № 972)



Мал. 9. Тканина капсули ФКЯ, інфікована ВПГ-2 «++++». Виражена реакція на ДНК в ендотеліальних клітинах судин венозного типу (капілярів, венул). Гістохімічна реакція на ДНК за Фельгеном. Мікрофотографія. Об. $\times 40$. Ок. $\times 10$ (Пацієнтка М., іст. хв. № 581).

сокого ступеня накопичення антигенів ВПГ-2 («++++») в тканині капсули КЖТ яєчника із позитивними значеннями IgG та IgM-АТ в сироватці крові та слабовираженою експресією антигенів ВПГ-2 в епітелії статевого тракту, що є проявом відповіді на активну стадію герпесвірусного процесу.

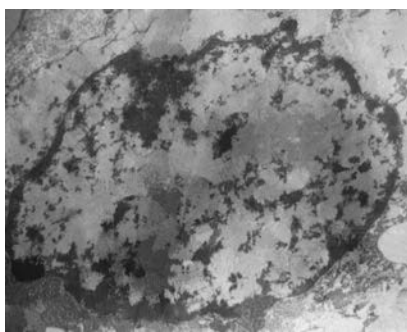
При проведенні гістологічного дослідження тканини ФКЯ було виявлено низку змін, які характерні для даної патології (мал. 2, 3).

Так, частина стінок даного виду РКЯ була вистелена щільно розташованими округлими гранульозними клітинами, а також лютеїнізованими, веретеноподібними клітинами внутрішньої теки.

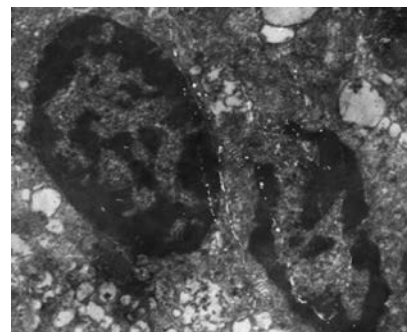
Під час проведення досліджень операційного матеріалу від пацієнток 1-ї групи, в частині матеріалу відзначався різний ступінь пресорної гіпо- та атрофії клітин, вираженість якого залежала від давності кісти, і є маркером так званих



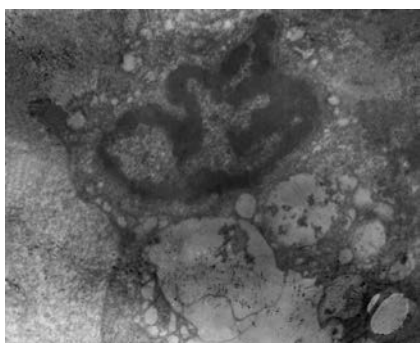
Мал. 10. Тканина капсули ККТ, інфікована ВПГ-2 «++++». Ядро фестончастої форми з електронно-щільним ядерцем. Електроннограма. Зб. 10 000 (Пацієнтка П., іст. хв. № 790)



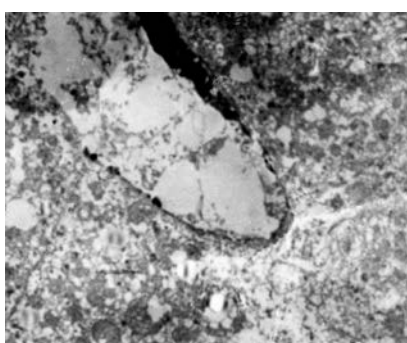
Мал. 11. Тканина капсули ККТ, інфікована ВПГ-2 «++++». Набухання ядра. Електроннограма. Зб. 10 000. (Пацієнтка К., іст. хв. № 130)



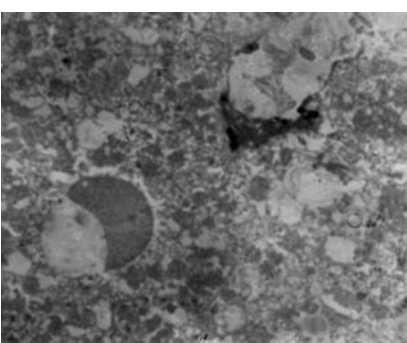
Мал. 12. Тканина капсули ФКЯ, інфікована ВПГ-2 «++++». Пікноз ядер. Електроннограма. Зб. 10 000 (Пацієнтка М., іст. хв. № 581)



Мал. 13. Тканина капсули ФКЯ, інфікована ВПГ-2 «++++». Початкові прояви апоптозу епітеліальних клітин. Електроннограма. Зб. 10 000. (Пацієнтка Д., іст. хв. № 66)



Мал. 14. Тканина капсули ККТ, інфікована ВПГ-2 «++++». Вогнище деструкції цитоплазми епітелію з наявністю лізосом і мієліноподібних структур. Електроннограма. Зб. 12 000 (Пацієнтка П., іст. хв. № 790)



Мал. 15. Тканина капсули ККТ, інфікована ВПГ-2 «+++». Деструкція ядра клітини епітелію з вогнищем осміофілії. Електроннограма. Зб. 12 000 (Пацієнтка К., іст. хв. № 130)

старих кіст яєчників. Також, серед матеріалу від хворих із герпесвірусним інфікуванням капсули РКЯ були виявлені ділянки фіброзної та гіалінізованої сполучної тканини (такі зміни спостерігались в більшій кількості випадків) (мал. 4).

У невеликій кількості випадків серед матеріалу від жінок 1-ї групи зустрічались ФКЯ з вогнищами фіброзу і гіалінозу самої стінки РКЯ, патологічними змінами судин – вогнищами фіброзу стінки судин (мал. 5) та проліферації судин (мал. 6).

При проведенні гістохімічного дослідження ДНК за Фельгеном, в матеріалі від хворих із наявністю інфікування стінок капсули РКЯ вірусом ГГ відзначалась позитивна реакція в ядрах клітин стінок ФКЯ у 5–10%, тоді як в групі порівняння цей показник склав 20–30% відповідно (табл. 1).

Особливо виражена реакція виявлена у поліморфних ядрах «великих» розмірів із вогнищами мітозів та вакуольної дистрофії (мал. 7, 8).

Також виражена гістохімічна реакція на ДНК за Фельгеном відзначалась і в ядрах ендотеліальних клітин судин венозного типу (мал. 9), що підтверджується даними морфометричних досліджень ДНК (табл. 2).

При проведенні поглибленого морфометричного аналізу показників апоптозного індексу в клітинах капсул РКЯ обох обстежених груп хворих виявлено деякі особливості (табл. 3).

Так, у хворих із наявністю маркерів вірусу ГГ в тканині капсули РКЯ було відзначено апоптозний індекс на рівні 5–10%, в той час, коли в клітинах капсули РКЯ, не інфікованих вірусом ГГ, цей показник знаходився в межах 20–25%.

Проведені дослідження ультраструктурних особливостей ендотеліальних структур стінки РКЯ в матеріалах хво-

Таблиця 1
Результати гістохімічної реакції на ДНК за Фелогеном в тканині капсул РКЯ

Групи хворих	Кількість ДНК позитивних ядер, %
1-а група	5–10
2-а група	20–30

Таблиця 2
Результати гістохімічної реакції на ДНК за Фельгеном у вогнищах запальної інфільтрації в тканині капсул РКЯ, %

Групи хворих	Лімфоцити	Нейтрофільні гранулоцити
1-а група	5–10	2–3
2-а група	1–3	–

Таблиця 3
Показники апоптозного індексу в тканині капсул РКЯ, %

Групи хворих	Апоптозний індекс
1-а група	5–10
2-а група	20–25

рих основної групи виявили виражені зміни клітинних органел, особливо ядерних. Була виявлена наявність фестончастих ядер (мал. 10) з електронно-щільним ядерцем або з вираженим набуханням ядра (мал. 11).

Також у досліджених матеріалах від хворих основної групи, на відміну від групи порівняння, була виявлена велика кількість апоптозних клітин з пікнозом ядер, початком його фрагментації в епітелії залоз, ендотелії судин (мал. 12, 13).

Проведені ультраструктурні дослідження дозволили виявити явища деструкції як цитоплазми (мал. 14), так і ядер клітин тканини РКЯ (мал. 15), уражених вірусом ГГ.

При ультраструктурному дослідженні відзначалось у першу чергу пошкодження ядер клітин епітелію кіст з їхнім поліморфізмом, збільшенням розмірів, наявністю мітозів, дистрофії з вакуолізацією, зменшенням апоптозного індексу, що характерне для вірусного пошкодження клітин.

Морфологические, гистохимические и ультраструктурные особенности ретенционных кист яичников на фоне инфицирования генитальным герпесом

Т.Д. Задорожная, И.Б. Вовк, Н.Е. Горбань

Проведение иммунофлуоресцентного анализа тканей капсул яичников прооперированных больных выявило маркеры вируса генитального герпеса у 52 % больных. При изучении особенностей эндотелиальных структур стенки кисты, инфицированной генитальным герпесом, ультраструктурный метод обнаружил выраженные изменения клеточных органелл, особенно ядерных, – их полиморфизм, увеличение размеров, наличие митозов, дистрофии с вакуолизацией, уменьшение апоптозного индекса, характерное для вирусного повреждения клеток. Доказано, что поражение герпетической инфекцией половых органов носит системный характер и приводит к патологическим изменениям органов-мишеней репродуктивной системы.

Ключевые слова: кисты яичников, генитальный герпес, инфицирование, морфология, иммуногистохимия, структурные особенности.

Таким чином, підсумовуючи дані, отримані в результаті проведених досліджень із застосуванням сучасних технологій, з великою вірогідністю можна стверджувати, що ураження герпетичною інфекцією статевих органів носить системний характер та призводить до патологічних змін органів-мішеней репродуктивної системи. Результати дослідження підтверджують необхідність проведення антивірусної терапії за наявності IgM або високих титрів IgG в сироватці крові. Таку тактику слід розглядати як етіопатогенетичну терапію на першому етапі лікування функціональних кіст яєчників та з обережністю приймати рішення про хірургічне втручання з метою збереження оваріального резерву.

Morphological, histological and ultrastructural features of retention ovarian cysts on the background of genital herpes infection

T. Zadorozhna, I. Vovk, N. Gorban

Conducted immunofluorescence analysis of ovarian tissue capsules operated patients showed markers of genital herpes in 52% of patients. In studying the characteristics of endothelial structures cyst wall infected with genital herpes, ultrastructural method found pronounced changes in cell organelles, especially nuclear – their polymorphism, increasing the size, the presence of mitosis dystrophy with vacuolation, reduced apoptosis index, which is characteristic for viral cell damage. We prove that the defeat of genital herpes infection is systemic in nature and leads to pathological changes of target – the reproductive system.

Key words: ovarian cysts, genital herpes, infection, morphology, immunohistochemistry, structural features.

Сведения об авторах

Задорожная Тамара Даниловна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии Национальной академии медицинских наук Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8; тел.: (044) 483-82-87

Вовк Ирина Борисовна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии Национальной академии медицинских наук Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8

Горбань Наталья Евгеньевна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии Национальной академии медицинских наук Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8; тел.: (050) 547-16-92

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вовк І.Б. Репродуктивне здоров'я жінки і герпесвірусна інфекція / І.Б. Вовк, Н.Е. Горбань // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2010. – Т. 72, № 1. – С. 93–99.
2. Вовк І.Б. Особливості засівання та активності реплікації вірусу геніального герпесу в різних біологічних середовищах у жінок із ретенційними кістами яєчників на тлі хронічних запальних захворювань геніталій / І.Б. Вовк, Н.І. Нетребя, Н.Е. Горбань // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2011. – Т. 73, № 3. – С. 109–114.
3. Вовк І.Б. Комплексний підхід до діагностики геніального герпесу у хворих з ретенційними кістами яєчників (операційний матеріал, статеві шляхи, сироватка крові) / І.Б. Вовк, Н.І. Нетребя, Н.Е. Горбань // Здоров'я жінки. – 2011. – № 7 (63). – С. 177–181.
4. Дудіна О.О. Деякі характеристики репродуктивного здоров'я жінок України / О.О. Дудіна, Г.Я. Пархоменко, Ю.Ю. Габорець // Здоров'я жінки. – 2011. – № 7. – С. 146–151.
5. Кузьмін В.Н. Інфекції, передавані статевим шляхом, і охорона репродуктивного здоров'я жінок / В.Н. Кузьмін, Л.В. Адам'ян, Д.А. Пустовалов. – М., 2010. – 123 с.
6. Кулаков В.І. Зміни репродуктивної системи і їх корекція у жінок з доброякісними опухольми та опухольовидними утвореннями яєчників / В.І. Кулаков, Р.Г. Гатауліна, Г.Т. Сухих. – М.: Триада-Х, 2005. – 254 с.
7. Пат. 56380 Україна, МПК А61В10/00. Спосіб оцінки активності геніальної герпесвірусної інфекції у жінок репродуктивного віку з пухлинноподібними ураженнями яєчників / Вовк І.Б., Нетребя Н.І., Кондратюк В.К., Горбань Н.Е.; заявник і патентовласник ДУ Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України. – заявл.06.07.2010; опубл. 10.01.2011, Бюл. № 1.
8. Подольський В.В. Актуальні проблеми репродуктивного здоров'я жінок в Україні / В.В. Подольський, І.Б. Вовк, А.Г. Корнацька // Здоров'я жінки. – 2010. – № 4. – С. 121–126.
9. Пухлинноподібні ураження яєчників (діагностика та лікування): метод. рекомендації. / [І.Б. Вовк, А.Г. Корнацька, В.К. Чайка та ін.]. – К., 2007. – 32 с.
10. Товстановська В.О. Генітальна герпетична інфекція (огляд літератури) / В.О. Товстановська, І.В. Ус // Здоров'я жінки. – 2006. – № 3. – С. 275–281.
11. Характеристика репродуктивного здоров'я населення України / О.О. Дудіна, Н.Г. Гойда, Р.О. Моїсеєнко [та ін.] // Щорічна доповідь про стан здоров'я населення України та санітарно-епідемічну ситуацію. 2010 рік: монографія / За ред.
12. Серов В.Н. Доброякісні опухолі та опухольовидні утворення яєчників / В.Н. Серов, Л.І. Кудрявцева. – М.: Триада-Х, 2001. – 152 с.
13. Genital herpes: gynaecological aspects / M. Steben, D. Money, T. Wong [et al.] // J. Obstet. Gynaecol. Can. – 2008. – Vol. 30, N 4. – P. 347–361.
14. Gupta R. Genital herpes / R. Gupta, T. Warren, A. Wald // Lancet. – 2007. – Vol. 370, N 9605. – P. 2127–2137.
15. Kawana T. [Genital herpes]: [article in Japanese] / T. Kawana // Nihon Rinsho. – 2009. – Vol. 67, N 1. – P. 143–152.
16. Trigg B.G. Sexually transmitted infections and pelvic inflammatory disease in women / B.G. Trigg, P.R. Kerndt, G. Aynalem // Med. Clin. North Am. – 2008. – Vol. 92, N 5. – P. 1083–1113.

Статья поступила в редакцию 21.11.2013