

ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЛОСКОГО ЭПИТЕЛИЯ ШЕЙКИ МАТКИ ПРИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

В.А. Ершов¹, А.А. Вязовая², О.В. Нарвская², Л.В. Лялина², А.С. Лисянская¹

¹СПб ГУЗ Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург

²ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург

Резюме. Цитологическими признаками поражения эпителия шейки матки при папилломавирусной инфекции у 16% пациенток являлось наличие койлоцитоза и дискератоза, у 46% — атипия многоядерных клеток типа парабазальных с дистрофическими изменениями ядра и/или цитоплазмы. Повреждение плоского эпителия шейки матки высокой степени (HSIL) сопровождалось, как правило, присутствием ВПЧ 16-го типа в сочетании с ВПЧ других генотипов.

Ключевые слова: цервикальная интраэпителиальная неоплазия, вирус папилломы человека, койлоцитоз.

CERVICAL SQUAMOUS EPITHELIUM LESIONS ASSOCIATED WITH HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION

Ershov V.A., Vyazovaya A.A., Narvskaya O.V., Lyalina L.V., Lisyanskaya A.S.

Abstract. The cytological evidence of cervical squamous epithelium lesions associated with HPV infection was identified as the presence of koilocytes in 16% of patients and atypical multicore cells with core and/or cytoplasm dystrophy of para-basal layer cells in 46%. The high grade squamous intraepithelial lesions were associated with the presence of HPV 16 mostly in combination with other high risk HPV genotypes. (*Infekc. immun.*, 2013, vol. 3, N 1, p. 79–82)

Key words: cervical intraepithelial neoplasia, human papillomavirus, koilocytes.

Введение

Рак шейки матки (РШМ) занимает одно из ведущих мест в структуре онкологической заболеваемости женщин репродуктивного возраста в России и в мире [2, 3, 4]. Эпидемиологическими и молекулярно-генетическими исследованиями доказано, что этиология и патогенез заболевания связаны с персистенцией в цервикальном эпителии вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) следующих генотипов: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 [4, 6, 8, 10, 11].

Развитию РШМ предшествуют морфологические изменения эпителия — цервикальная интраэпителиальная неоплазия (англ. cervical intraepithelial neoplasia, CIN), часто именуемая дисплазией согласно отечественной терминологии. При этом CIN I соответствует легкой (слабой) дисплазии, CIN II — умеренной (средней степени тяжести) дисплазии, CIN III — тяжелой

дисплазии и carcinoma *in situ* (CIS). Показано, что риск прогрессии CIN II в CIS равен 1% за год наблюдения, а риск прогрессии CIN II в CIN III за два года равен 16% [12]. Согласно современной цитологической классификации Bethesda system (2001), изменения эпителия в шейке матки, связанные с CIN II, CIN III и преинвазивной карциномой (CIS), объединены термином «плоскоклеточные интраэпителиальные поражения» высокой степени (HSIL — high grade squamous intraepithelial lesions) [7].

Основными цитологическими признаками повреждения многослойного плоского эпителия шейки матки папилломавирусами считают наличие койлоцитов, в том числе многоядерных, и клеток с дистрофическими изменениями цитоплазмы. Койлоциты — это клетки с разной степенью изменения ядра и перинуклеарной вакуолизацией. Второй тип клеток, обнаруживаемых наряду с койлоцитами, дискератциты — клетки многослойного плоского эпи-

поступила в редакцию 05.07.2012
отправлена на доработку 16.07.2012
принята к печати 21.08.2012

© Ершов В.А. и соавт., 2013

Адрес для переписки:

Вязовая Анна Александровна,
старший научный сотрудник
лаборатории молекулярной микробиологии
ФБУН НИИЭМ имени Пастера

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИЭМ имени Пастера.
Тел.: (812) 233-21-49.
E-mail: elmtree2011@mail.ru

телиа, небольших размеров с гиперхромными ядрами различной величины, с различной степенью ороговения цитоплазмы за счет накопления кератина. Отмечено, что по мере прогрессирования интраэпителиального повреждения количество койлоцитов может уменьшаться, что сопровождается нарастанием дискератоза, дискариоза и появлением патологических митозов [1, 5, 14].

Целью нашего исследования явилась характеристика клеточных изменений при HSIL и плоскоклеточном раке шейки матки, ассоциированных с присутствием ВПЧ ВКР.

Материалы и методы

Проанализированы результаты цитологических и гистологических исследований материала из шейки матки 140 женщин (20–29 лет — 27, 30–39 лет — 68, 40–49 лет — 34, 50–59 лет — 8, старше 60 — 3 человека), находившихся на лечении по поводу неоплазии шейки матки в Санкт-Петербургском Городском клиническом онкологическом диспансере в 2006–2007 гг.

В предоперационном периоде из соскобов влажной части шейки матки и цервикального канала готовили цитологические препараты, окрашивали их по методу Папаниколау. Результаты цитологического исследования оценивали в соответствии с отечественной цитологической классификацией и терминологической системой Бетесда [7, 9].

Материал для гистологического исследования получали при электроэксцизии шейки матки; препараты готовили по стандартной методике и окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологические заключения формулировали в соответствии с международной гистологической классификацией [13].

Выявление и генотипирование ДНК ВПЧ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили выборочно в 33 цитологических препаратах (HSIL), полученных до операции. В качестве контроля использовали соскобы из шейки матки и цитологические препараты без признаков ВПЧ-повреждения плоского эпителия 12 клинически здоровых женщин. Для выделения ДНК, выявления и генотипирования ДНК ВПЧ методом ПЦР использовали наборы реагентов «АмплиСенс» (ФГУН ЦНИИЭ, Россия) [1].

Результаты

При цитологическом исследовании образцов материала из шейки матки, полученных от 140 пациенток в предоперационном периоде, выявлено интраэпителиальное повреждение плоского эпителия высокой степени (HSIL). При гистологическом исследовании операционного материала этих пациенток у 49 (35%), 77 (55%) и 14 (10%) из них выявлены CIN II, CIN III и плоскоклеточный рак соответственно.

Цитологические признаки, характерные для поражения эпителия вирусами папилломы, выявлены в 22 (44%) из 49 препаратов HSIL/CIN II (табл.). Так, в 4 случаях среди атипичных клеток выявлены койлоциты — клетки промежуточного и поверхностного слоев многослойного плоского эпителия с характерной околядерной зоной «просветления» (рис. 1, III обложка), в том числе, 2–7-ядерные, и дискератоциты — клетки плоского эпителия небольших размеров с различной степенью ороговения цитоплазмы (рис. 2, III обложка). В двух из таких цитологических препаратов, выборочно исследованных методом ПЦР, обнаружена ДНК ВПЧ 16-, 18- и/или 31-го генотипов.

В 18 случаях CIN II (37%) цитологическую картину HSIL дополняли клетки типа парабазальных (ПБК) округлой формы с дистрофическими изменениями ядра и/или цитоплазмы. Ядра в 43% клеток были гиперхромные с глыбчатым хроматином, в 57% — гипохромные с тяжистым хроматином. В 24% клеток видны от двух до пяти ядер, преимущественно сгруппированных в плотные конгломераты. В некоторых клетках отмечены единичные вакуоли в гипохромных ядрах и митозы. В цитоплазме большинства клеток (71%) наблюдали крупную или несколько мелких вакуолей, оттесняющих ядро к одному из краев клетки.

В 56 (73%) из 77 случаев CIN III в цитологических препаратах наблюдали атипичные клетки, среди которых в 16 (21%) образцах выявлены койлоциты, в том числе 2–7-ядерные, и дискератоциты. В 40 случаях цитологическую картину HSIL дополняли атипичные клетки типа ПБК с дистрофическими изменениями ядра и/или цитоплазмы (табл.). Ядра гипер- или гипохромные неправильно округлой и уродливой формы занимали практически весь объем клетки. В 16% случаев ядра имели вытянутую палочковидную или серповидную формы и были смещены к одному из краев клетки. Хроматин, смазанный по рисунку, в 73% клеток был расположен мелкими глыбками, в 27% — параллельными тяжами. Каждая третья клетка в препаратах содержала более двух ядер, преимущественно скомпонованных в конгломераты. Митозы (в том числе, патологические) отмечены в единичных клетках. В ядрах 40% клеток выявлены округлые оптически пустые вакуоли, в 20% — мелкие периферические участки, напоминающие по плотности и окраске участки окружающей ядро цитоплазмы. Цитоплазма в 56% клеток была гомогенной, в 44% — с выраженной мелковакуольной дистрофией.

Методом ПЦР выборочно исследованы соскобы со стекол 25 (45%) из 56 цитологических препаратов HSIL/CIN III. Во всех случаях подтверждено присутствие ВПЧ 16-го генотипа,

ТАБЛИЦА. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ПОРАЖЕНИЯ ПЛОСКОГО ЭПИТЕЛИЯ ШЕЙКИ МАТКИ ПАПИЛЛОМАВИРУСАМИ

Результаты гистологического исследования	Цитологические признаки поражения эпителия шейки матки ВПЧ	
	койлоциты, многоядерные клетки, дискератоциты	парабазальные клетки
CIN II (n = 49)	4	18
CIN III (n = 77)	16	40
Плоскоклеточный рак (n = 14)	2	5

причем в 17 (68%) из 25 случаев — в сочетании с одним (31, 33, 52, 58) или какими-либо двумя-тремя генотипами ВПЧ (18, 31, 33, 52, 58).

У больных плоскоклеточным раком шейки матки в двух случаях (14%) в цитологических препаратах среди опухолевых клеток были видны единичные крупных размеров дискератоциты с избыточным накоплением кератинов, вплоть до патологического ороговения; в пяти случаях (36%) — атипичные клетки типа ПБК с мелковакуольной дистрофией ядра и/или мелко- или крупновакуольной дистрофией цитоплазмы (табл.).

Методом ПЦР в соскобах со стекол шести из семи упомянутых цитологических препаратов определены различные комбинации следующих генотипов ВПЧ: 16, 18, 31, 33, 39. Так, сочетания 16-го с 31-м и 33-м генотипами ВПЧ обнаружены в одном и трех случаях соответственно. Присутствие ВПЧ 16-, 31- и 18-го и 16-, 31- и 39-го генотипов выявлено в двух из семи случаев. В одном образце выявлен лишь один 31-й генотип ВПЧ.

В контрольных образцах (цитологические препараты без признаков повреждения плоского эпителия и соскобы из шейки матки 12 клинически здоровых женщин) присутствие ДНК ВПЧ ВКР не выявлено.

Обсуждение

Повреждение плоского эпителия высокой степени (HSIL), выявленное при цитологическом исследовании образцов материала из шейки матки 140 женщин в предоперационном периоде, в 60% случаев сопровождалось цитологическими признаками поражения клеток эпителия ВПЧ. При этом в 16% случаев выявлены койлоцитоз и дискератоз, в 46% — атипия многоядерных клеток типа парабазальных с дистрофическими изменениями ядра и/или цитоплазмы.

Методом ПЦР во всех 33 изученных цитологических препаратах HSIL с признаками поражения клеток эпителия папилломавирусами подтверждено присутствие ДНК ВПЧ 16-го типа (за исключением одного образца, где обнаружена лишь ДНК ВПЧ 31-го типа), как правило в сочетании с одним или несколькими генотипами ВПЧ ВКР (18, 31, 33, 39, 52, 58). Определенные генотипы ВПЧ важно для прогноза течения

папилломавирусной инфекции. Так, считается, что выявление нескольких генотипов вируса ассоциировано с более длительным носительством. С другой стороны, известно, что персистенция ВПЧ 16-го типа является фактором риска малигнизации [2, 5, 6, 7, 10].

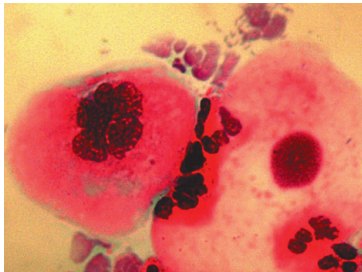
Поскольку метод ПЦР позволяет выявлять и идентифицировать ВПЧ ВКР задолго до появления первых цитологических, и тем более — клинических признаков заболевания, скрининг женщин на носительство онкогенных ВПЧ будет способствовать профилактике злокачественных новообразований, ассоциированных с хронической папилломавирусной инфекцией.

Список литературы

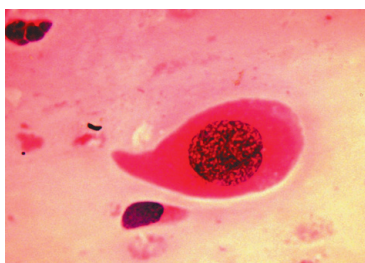
1. Ершов В.А., Нарвская О.В. Фоновые процессы и неоплазия эпителия шейки матки. — СПб.: ООО «Человек», 2007. — 80 с.
2. Киселев В.И. Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки. — М.: Димитрейд График Групп, 2004. — 184 с.
3. Лялина Л.В., Носков Ф.С., Жебрун А.Б., Нарвская О.В. Организация и проведение скрининга на наличие онкогенных вирусов папилломы человека в целях профилактики злокачественных новообразований органов репродуктивной системы: Методические рекомендации. — СПб., 2005. — 28 с.
4. Прилепская В.Н., Роговская С.И., Межевинева Е.Л. Кольпоскопия: Практическое руководство. — М.: Медицинское информационное агентство, 2001. — 100 с.
5. Роговская С.И., Прилепская В.Н. Профилактика папилломавирусной инфекции и рака шейки матки // Гинекология. — 2005. — Т. 5, № 1. — С. 22–26.
6. Уразова Л.Н., Видяева И.Г. Рак шейки матки и вирусы папилломы: этиопатогенетические аспекты // Сибирский онкологич. журн. — 2009. — № 1 (31) — С. 64–71.
7. Apgar B., Zoschnick L., Wright J. The 2001 Bethesda system terminology American family physician // American family physician. — 2003. — Vol. 68, N 15. — P. 1992–1998.
8. Bosch F.X., Munoz N. The viral etiology of cervical cancer // Virus Res. — 2002. — Vol. 89. — P. 183–190.
9. Evans M.F., Adamson C.S., Papillo J.L., St. John T.L., Leiman G., Cooper K. Distribution of human papillo-

- mavirus types in ThinPrep Papanicolaou tests classified according to the Bethesda 2001 terminology and correlations with patient age and biopsy outcomes // *Cancer*. — 2006. — Vol. 106, N 5. — P. 1054–1064.
10. Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application // *Nat. Rev. Cancer*. — 2002. — Vol. 2, N 5. — P. 342–350.
 11. Herrington CS. Does HPV testing have a role in primary cervical creening? // *Cytopathology*. — 2001. — Vol. 12, N 2. — P. 71–74.
 12. Holowaty P., Miller A.B., Rohan T., To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix // *J. Natl Cancer Inst.* — 1999. — Vol. 91, N 3. — P. 252–258.
 13. Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs. WHO classification of tumours / Eds. F.A. Tavassoli, P. Devilee. — Lyon: IARC Press, 2003. — 432 p.
 14. Jenkins D. Histopathology and cytopathology of cervical cancer // *Dis. Markers*. — 2007. — Vol. 23. — P. 199–212.

**ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ В.А. ЕРШОВА,
А.А. ВЯЗОВОЙ, О.В. НАРВСКОЙ, Л.В. ЛЯЛИНОЙ,
А.С. ЛИСЯНСКОЙ «ПОВРЕЖДЕНИЯ
ПЛОСКОГО ЭПИТЕЛИЯ ШЕЙКИ МАТКИ
ПРИ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ»
(с. 79–82)**



**Рисунок 1. Койлоцит (световая микроскопия,
окраска по Папаниколау, х400)**



**Рисунок 2. Дискератоцит (световая
микроскопия, окраска по Папаниколау, х400)**