

НАРУШЕНИЯ ЛОКАЛЬНОГО ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ШЕЙКИ МАТКИ В ПОСТМЕНОПАУЗУ

¹Пуга Д.П., ¹Николаенко С.А., ¹Абрамян Г.В., ^{1,2}Рева И.В.

¹ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет»,
Владивосток, e-mail: fero@inbox.ru;

²Международный медицинский научно-образовательный центр,
Ниигата, e-mail: avers2@yandex.ru

Совершенствование диагностики, лечения и прогнозирование исходов повреждений покровных эпителиев на основе анализа локального иммунного гомеостаза при микробной контаминации, малигнизации, в старших возрастных группах женщин является одним из наиболее актуальных вопросов на современном этапе развития медицины, что послужило для выбора нами направления научных исследований. Получена сравнительная иммуногистохимическая характеристика пролиферативной активности структур слизистой оболочки ШМ в постменопаузе в норме и на фоне микробной контаминации HPV1. разработанные методы исследования оценки состояния локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки ШМ позволяют оптимизировать врачебную тактику, а также значительно повысить прогнозирование и качество гинекологической помощи, и являются основой дифференцированного подхода при выборе стратегии лечения женщин в постменопаузе. Данные, полученные по результатам исследования, могут служить концептуальной основой при разработке патогенетической терапии патологии СОШМ женщин в постменопаузе. Результаты изучения особенностей локального иммунного гомеостаза слизистой оболочки ШМ, особенностей и характера пролиферативной активности её структур теоретически обосновывают стратегию лечения и направлены на дальнейшее совершенствование оказания медицинской помощи женщинам в постменопаузе. Полученные данные расширяют диагностические аспекты в гинекологии. Знание реальных структурных изменений тканей слизистой оболочки шейки матки способствует патогенетически обоснованному выбору стратегии и объему хирургических вмешательств при лечении патологических процессов.

Ключевые слова: эпителий шейки матки, белок гена Ki-67, пролиферация, канцерогенез, митотическая активность, менопауза, папиллома, полип, папилломавирус, малигнизация

DISTURBANCES OF THE LOCAL IMMUNE HOMEOSTASIS OF THE UTERINE NECK MUCIION IN THE POSTMENOPUS

¹Puga D.P., ¹Nikolaenko S.A., ¹Abramyan G.V., ^{1,2}Reva I.V.

¹Far Eastern Federal University, Vladivostok, e-mail: fero@inbox.ru;

²International Medical Research and Education Center, Niigata, e-mail: avers2@yandex.ru

Improving the diagnosis, treatment and prediction of damage outcomes of epithelium epithelia based on the analysis of local immune homeostasis in microbial contamination, malignancy, in older age groups of women is one of the most pressing issues at the current stage of development of medicine, which served to select our direction of scientific research. A comparative immunohistochemical characterization of the proliferative activity of the structures of the mucous membrane of the CHM in postmenopause in normal conditions and against the background of microbial contamination of HPV1 was obtained. The developed research methods for assessing the state of local immune mucosal homeostasis of the BLM allow optimizing medical tactics, as well as significantly improving the prediction and quality of gynecological care, and are the basis of a differentiated approach in choosing a treatment strategy for postmenopausal women. The data obtained from the results of the study can serve as a conceptual basis in the development of pathogenetic therapy for the pathology of the SCM in postmenopausal women. The results of studying the peculiarities of the local immune homeostasis of the mucous membrane of the BL, the characteristics and nature of the proliferative activity of its structures theoretically substantiate the treatment strategy and are aimed at further improving the provision of medical care to postmenopausal women. The findings extend diagnostic aspects in gynecology. Knowledge of real structural changes in the tissues of the mucous membrane of the cervix contributes to the pathogenetically justified choice of strategy and scope of surgical interventions in the treatment of pathological processes.

Keywords: cervical epithelium, Ki-67 protein gene, proliferation, carcinogenesis, mitotic activity, menopause, papilloma, polyp, papillomavirus, malignization

Актуальность проблемы. Во всём мире количество женщин, достигших постменопаузы, быстро увеличивается. По прогнозам ВОЗ, к концу нашего столетия 50% женщин в мире будет старше 45 лет. В этой связи совершенствование методов профилактики и коррекции изменений, связанных с возрастной гипофункцией яичников, чрезвычайно важно. Слизистая оболочка шейки матки (ШМ) подвергается высокой антигенной нагрузке. В первую очередь вред-

ным влияниям подвергаются кератиноциты, функциональная лабильность которых влияет на уровень резистентности организма к вредным воздействиям. При этом наблюдается практическое отсутствие данных по изменениям клеточного состава эпителиальных пластов слизистой оболочки ШМ и иммунного контроля за этим процессом в постменопаузу женщин [1, 2].

Барьерная роль слизистой оболочки реализуется и через механизмы местного им-

мунитета, поэтому знание межклеточных взаимодействий в слизистой оболочке ШМ имеет особую актуальность для клинической гинекологии [3,4]. Системные данные о влиянии иммуноцитов слизистой оболочки ШМ на пролиферацию эпителиальных клеток в условиях постменопаузы в доступной литературе практически отсутствуют [5]. Между тем, решение этого вопроса может стать основой совершенствования патогенетически обоснованных методов профилактики и лечения осложнений патологических процессов в постменопаузу [6,7]. Нередко трудности диагностики указанных заболеваний, тяжесть их течения с частыми неблагоприятными исходами и сложность лечения являются источником конфликтных ситуаций, возникающих в клинической гинекологии. В распоряжении врачей гинекологов нет достаточного количества эффективных методов распознавания и лечения иммунопатологических состояний и малигнизации ШМ. Известные способы диагностики патологии ШМ характеризуются низкой достоверностью, что затрудняет выбор патогенетической терапии и путей профилактики [8,9, 10].

Научный поиск, ведущийся в направлении выявления критериев для ранней диагностики онкологических процессов, является одним из приоритетных направлений в рамках программы фундаментальных исследований в Российской Федерации и в мире. Высокая смертность, низкая выживаемость пациенток в связи с поздней диагностикой онкологии шейки матки диктуют разработку новых методов выявления рака [11,12]. Высоко онкогенные типы папилломавирусов диагностируются в 58% случаев, что настораживает и объясняет высокую заболеваемость раком шейки матки на сегодняшний день. Согласно статистике, эта патология ежегодно вызывает примерно 500 000 новых случаев, что соответствует 14–16 на 100 000 населения. В настоящее время выделяют более 200 генотипов папилломавирусов.

Ежедневно в мире умирает 17 женщин от рака шейки матки, поэтому актуальность изучаемой проблемы не вызывает сомнений. Изучение механизмов регенерации и их контроля в этом процессе клетками иммунофагоцитарного звена, обеспечивающего наряду с кератиноцитами барьерные свойства покровных эпителиев, на современном этапе является одним из наиболее актуальных вопросов в современной гинекологии, хирургии, онкологии [13, 14].

Цель исследования. Оптимизировать диагностику патологии шейки матки женщин в постменопаузе на основе создания

комплексной клинко морфологической характеристики этой патологии в современных условиях.

В связи с этим в работе были решены задачи:

Выявить зависимость динамики иммуноцитов от активности гена Ki-67 в структурах слизистой оболочки шейки матки в зоне перехода многослойного плоского эпителия в однослойный цилиндрический.

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено с учётом положений Хельсинской декларации (2000) и с разрешением этического комитета ФГА-ОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет». Биоптаты слизистой оболочки шейки и тела матки были получены в соответствии с приказом Минздравмедпрома РФ от 29.04.94 N 82 «О порядке проведения патологоанатомических вскрытий» и в соответствии с номенклатурой клинических лабораторных исследований МЗ РФ (приказ 21 февраля 2000 г. № 64). В качестве контроля был использован материал женщин в постменопаузе без воспалительных процессов в слизистой оболочке ШМ в количестве 5. Материал женщин на фоне хламидийной (7), трихомонозной (5) и папилломавирусной (11) инфекций изучен в сравнительном аспекте. Биопсийный материал фиксировался по прописи для подготовки к иммуногистохимическим исследованиям сразу после забора. Использованы классические гистологические методы исследования с окрашиванием гематоксилином и эозином для получения общей морфологической картины, а также иммуногистохимический метод выявления маркера пролиферации клеток – пролиферирующий клеточный ядерный антиген Ki-67. В результате обработки препаратов выявляются ядра пролиферирующих клеток, находящихся в S-периоде, когда наблюдается максимум синтеза белка гена Ki-67, коррелирующего с концентрацией ДНК.

Анализ материала проведён с помощью микроскопа Olympus – Vx82 и цифровой камеры CDx82 с фирменным программным обеспечением.

Результаты исследования и их обсуждение

Основными методами диагностики изменений на шейке матки явились осмотр в зеркалах, простая и расширенная кольпоскопия, оценка влагиалищного микробиоза, цитологическое исследование мазков-отпечатков (так называемые ПАП-мазки) и прицельная биопсия с последующим гистологическим исследованием. Учитывая, что воспаление экзо-и эндоцервикса может

симулировать картину клеточной атипии при проведении цитологического исследования, все морфологические исследования проводили после санации влагалища. Нами было отмечено, что у женщин в возрасте 46 лет и старше в 7,3% случаев наблюдается эктопия. Иногда кольпоскопические картины могут быть пестрыми и сочетаться с зоной перехода, но при эктопии у женщин в постменопаузе они не отличались многообразием. Установлено, что в постменопаузе эктопия в виде очагов цилиндрического эпителия не выявляется ни в одном случае. Иногда наблюдались остаточные явления эктопии в виде зоны трансформации (ЗТ) с открытыми и закрытыми железами.

На фоне эктопии полипы встречались в 2,8% случаев, при этом в группе старше 45 лет – в 15% случаев. Полипы чаще развиваются в 40—50 лет, рецидивирование полипов наблюдалось у 18% пациенток. Полип – это разрастание слизистой оболочки канала шейки матки с вовлечением в этот процесс подлежащей фиброзной ткани. Причины возникновения полипов у обследованных пациенток были связаны с нарушением гормонального и иммунного гомеостаза, воспалительными процессами. Полипы в наших наблюдениях реже были покрыты цилиндрическим эпителием, при этом они имели гроздевидную ярко-красную поверхность. Более часто полипы были покрыты многослойным плоским эпителием, в этом случае они выглядели розовыми и гладкими.

В наших исследованиях при выявлении на шейке матки полипов было отмечено, что это очаговое разрастание плоского многослойного эпителия наряду с подлежащей соединительной тканью с явлениями ороговения. Внешне папиллома представляет собой розовое или белесоватое бородавчатое образование. Основание папилломы в большинстве случаев было широким, реже в виде тонкой ножки, иногда отмечался наружный рост. Были отмечены нарушения структуры базальной и свободной поверхности покровного эпителия, гиперемия сосудов собственной пластинки слизистой оболочки. Базальная мембрана эпителия не идентифицировалась, наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация не только в собственной пластинке слизистой оболочки, но и в просвете желёз.

Анализ пролиферативной активности эпителия слизистой шейки матки позволил установить, что, несмотря на продолжительность постменопаузы, в этот период могут наблюдаться слабые пролиферативные явления в многослойном плоском и цилиндрическом эпителии шейки матки и, соответственно, в первый год постменопаузы

пролиферативные типы мазков составляют 75%. Нами были отмечены нарушения структуры эпителиальной и собственной пластинок слизистой оболочки, дезорганизация базальной мембраны, при этом дочерние клетки выступают на поверхности слизистой оболочки.

На фоне возрастного дефицита эстрогенов и присоединения HPV1 инфекций происходят более выраженные морфологические изменения, связанные с повреждением эпителия, проявляющиеся по типу атрофических кольпитов (вагинитов) и неспецифических цервицитов. Одновременно развиваются дистрофические изменения в подлежащей строме, связанные с ухудшением трофики, снижением микроциркуляции кровотока и процессов трансудации стромы и всех слоев слизистых оболочек репродуктивного тракта женщин в постменопаузе.

Заключение

Экспрессия Ki67 тесно связана с возникновением и развитием цервикальной карциномы, что свидетельствует о существовании положительной корреляции между Ki67 и малигнизацией, и он может выступать в роли биомаркера рака шейки матки. Имеется прямая связь активности Ki67 с тяжестью цервикального поражения, особенно проявляющего высокую чувствительность и специфичность при *cin2*. Отмечено отсутствие выявления белка в случаях *CIN1*. В нашей стране масштабных исследований по изучению инфицированности вирусом папилломы человека и определению доминирующего типа вируса у женщин практически не проводилось. Существующие на современном этапе программы не позволяют оценить масштабы поражения женщин нашей страны вирусом папилломы человека и другими инфекциями, протекающими без яркой клинической симптоматики. Высоко онкогенные типы вирусов в сумме составляют 58%, что настораживает и объясняет высокую заболеваемость раком шейки матки. Расширение диагностических ресурсов, в том числе и мониторинг пролиферативной активности на основе анализа и сравнительной характеристики показателей регенераторного потенциала в СОШМ с моделью в норме для соответствующей возрастной группы является наиболее перспективным в разработке стратегии профилактики, лечения и реабилитации женщин в постменопаузе.

Работа выполнена при поддержке Научного фонда ДВФУ, в рамках государственного задания 17.5740/2017/6.7.

Список литературы

1. Calil L.N., Igansi C.N., Meurer L., Edelweiss M.I., Bozzetti M.C. // *Braz. J. Infect. Dis.* – 2011. – V. 15(2). – P. 126–31.
2. Clark K.C., Butz W.R., Hapke M.R. Primary malignant melanoma of the uterine cervix: case report with world literature review // *Int. J. Gynecol. Pathol.* – 1999. – V. 18. – P. 265–273.
3. De Vuyst H., Lillo F., Broutet N., Smith J.S. HIV, human papillomavirus, and cervical neoplasia and cancer in the era of highly active antiretroviral therapy // *Eur. J. Cancer Prev.* – 2008. – V. 17. – P. 545–554.
4. Hui Y., Hansen K., Murthy J., Chau D., Sung C.J., Qudus M.R. Relevance of the Pap Test: A Report of HPV-DNA Test-Negative High-Grade Squamous Intraepithelial Lesions of the Female Lower Genital Tract. // *Acta Cytol.* – 2016. – V. 60(5). – P. 445–450.
5. Gao M., Li Y., Ji X., Xue X., Chen L., Feng G., Zhang H., Wang H., Shah W., Hou Z., Kong Y. Disturbance of Bcl-2, Bax, Caspase-3, Ki-67 and C-myc expression in acute and subchronic exposure to benzo(a)pyrene in cervix. // *Acta Histochem.* – 2016. – V. 118(2). – P. 63–73. DOI: 10.1016/j.acthis.2015.11.002.
6. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Human papillomaviruses. IARC Monogr. Eval. Carcinog Risks Hum. – 2007. – V. 90. – P. 1–636.
7. Kanthiya K., Khunnarong J., Tangjitgamol S., Puripat N., Tanvanich S. Expression of the p16 and Ki67 in Cervical Squamous Intraepithelial Lesions and Cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2016. – V. 17(7). – P. 3201–3206.
8. Liang S.N., Huang Y.J., Liu L.L., Liu X. Study on the correlation between the expression of Ki67 and FasL and prognosis of cervical carcinoma // *Genet. Mol. Res.* – 2015. – V. 31;14(3). P. 8634–8639. DOI: 10.4238/2015.July.31.11.
9. Loi S., Haibe-Kains B., Desmedt C., Wirapati P., Lallemand F., Tutt A.M., Gillet C., Ellis P., Ryder K., Reid J.F., Daidone M.G., Pierotti M.A., Berns E.M., Jansen M.P., Foekens J.A., Delorenzi M., Bontempi G., Piccart M.J., Sotiriou C. Predicting prognosis using molecular profiling in estrogen receptor-positive breast cancer treated with tamoxifen // *BMC Genomics.* – 2008. – V. 22;9. – P. 239. DOI: 10.1186/1471-2164-9-239.
10. Prapaiwan N., Manee-In S., Olanratmanee E., Srisuwatanasagul S. Expression of oxytocin, progesterone, and estrogen receptors in the reproductive tract of bitches with pyometra // *Theriogenology.* – 2017. – V. 89. – P. 131–139. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.10.016.
11. Singh A., Vats G., Radhika A.G., Meena P., Radhakrishnan G. Cervical xanthogranuloma in a case of postmenopausal pyometra // *Obstet Gynecol Sci.* – 2016. – V. 59(5). – P. 411–414. DOI: 10.5468/ogs.2016.59.5.411.
12. Sui M., Pei Y., Li D., Li Q., Zhu P., Xu T., Cui M. Misdiagnosis Analysis of Cervical Minimal Deviation Adenocarcinoma: a Report of Three Rare Cases and Literature Review. *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2016. – V. 46(6). – P. 680–690. Review.
13. Wirapati P., Sotiriou C., Kunkel S., Farmer P., Pradervand S., Haibe-Kains B., Desmedt C., Ignatiadis M., Sengstag T., Schütz F., Goldstein D.R., Piccart M., Delorenzi M. Meta-analysis of gene expression profiles in breast cancer: toward a unified understanding of breast cancer subtyping and prognosis signatures // *Breast Cancer Res.* – 2008. – V. 10(4). – P. R65. DOI: 10.1186/bcr2124.
14. Zhao J., Guo Z., Wang Q., Si T., Pei S., Wang C., Qu H., Zhong J., Ma Y., Nie C., Zhang D. Human papillomavirus genotypes associated with cervical precancerous lesions and cancer in the highest area of cervical cancer mortality, Longnan, China // *Infect Agent Cancer.* – 2017. – V. 12. P. 8. DOI: 10.1186/s13027-017-0116-y.