

*Жеглова М. Ю., Данилов Р. К.*

## **ЦИТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕАКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ШЕЙКИ МАТКИ ПРИ ЭКТРОПИОНЕ**

*Кафедра гистологии с курсом эмбриологии (заведующая – проф. И. А. Одинцова)  
Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург;  
кафедра акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии  
(заведующая – проф. Н. А. Татарова) СЗГМУ им. И. И. Мечникова,  
e-mail: 6767150@rambler.ru*

В клинической практике широко используется понятие «метаплазия» эпителиоцитов шейки матки [6, 13]. Метаплазия объясняется способностью клеток дифференцироваться в разные гистогенетические типы [7]. Так, по данным литературы [1, 15], «резервные» клетки, расположенные субэпителиально (под цилиндрическими эпителиоцитами шейки матки) в области «стыка», могут быть источником развития как цилиндрического эпителия цервикального канала, так и многослойного плоского влагалищного эпителия. Однако такая трактовка понятия «метаплазия» противоречит учению о тканевой детерминации [3, 4, 7, 9]. Современные методы исследования не подтверждают факт «метаплазии» в области стыка шейки матки [14]. Существующие противоречия в оценке метаплазии затрудняют цитологическую диагностику и выявление природы реактивно измененных эпителиоцитов. Это приводит к возникновению ряда следующих заключений: AGC, AGC, ASC, ASC-US, ASC-H (Терминологическая система Бетесда (ТБС), 1988 Terminology Bethesda System (TBS), г. Бетесда, штат Мериленд).

Цель работы – дать морфофункциональную характеристику эпителиальной выстилке шейки матки и реактивным изменениям эпителиоцитов у женщин репродуктивного возраста при кольпоскопической картине эктропиона.

**Материалы и методы исследования.** Объектом исследования служили мазки, взятые с поверхности слизистой оболочки шейки матки и цервикального канала у 136 женщин репродуктивного возраста. После получения информированного согласия пациенткам выполняли расширенную кольпоскопию в I фазу менструального цикла. При описании результатов использовали международную классификацию кольпоскопических терминов, одобренную в Рио-де-Жанейро (IFCPC, 2011). При повторной консультации (не раньше чем через два дня) в I и во II фазы менструального цикла производили забор материала с поверхности шейки матки и цервикального канала для цитологического исследования с помощью цитощеток: а) тип D, мод.2, зонд уrogenитальный одноразовый, стерильный; б) зонд уrogenитальный одноразовый, стерильный, «Комбинированный», тип F, мод.1. Полученный материал помещали в стерильную среду 199М (НПО «Вектор»). Материал инкубировали в той же среде в течение 1–2 сут в термостате при температуре 37 °С. Клетки осаждали центрифугированием при скорости вращения 3000 оборотов в мин. в течение 10 мин. Осадок ресуспендировали в небольшом объеме буфера и вносили в подготовленные на предметном стекле лунки, клетки фиксировали

100 % спиртом. Затем препараты высушивали в термостате при температуре 37 °С в течение суток. Окраску мазков производили гематоксилином Коуля и эозином. Гистохимически выявляли ДНК по Фельгену в модификации де Томази; общий белок цитоплазмы – амидочерным 10 Б. Оценку оптической плотности белков в цитоплазме и содержания ДНК в ядре вели с помощью цитоспектрофотометра по принятой методике [5]. Пролиферацию эпителиоцитов изучали с применением антитела к белку Ki67. Кроме того, использованы антитела к цитокератину 20, 10, а также антицитокератиновый коктейль с положительным и отрицательным контролем. Все расчеты производили на 1000 клеток. Параллельно готовили традиционный мазок на онкоцитологию. В цитологическом диагнозе использовали формулировки Всемирной организации здравоохранения (WHO), Лион, 2003; Бетесда (The Bethesda System (TBS)), США, 2001; Всемирной организации здравоохранения (WHO), 2003.

**Результаты и их обсуждение.** В препаратах обнаруживаются следующие виды клеток: 1) эпителиоциты базального слоя влагалищного эпителия визуализируются как отдельно расположенные редко встречающиеся клетки; 2) эпителиоциты из парабазального слоя влагалищного эпителия имеют округлую форму, они мелкие, обнаруживаются редко, располагаются преимущественно поодиночке; 3) эпителиоциты промежуточного слоя располагаются преимущественно в виде пластов, имеют полигональную форму; клетки крупные, содержат мелкие пузырьковидные ядра, цитоплазма слабобазофильная или оксифильная в зависимости от фазы менструального цикла (рис. 1А); 4) эпителиоциты поверхностного слоя кожного эпителия (см. рис. 1А) имеют полигональную форму, располагаются в виде пластов или разрозненно, содержат мелкие ядра округлой формы, которые располагаются преимущественно в центре клетки, цитоплазма клеток слабобазофильная или эозинофильная в зависимости от степени зрелости эпителия и фазы менструального цикла; плазмолемма поверхностных эпителиоцитов часто формирует складки; 5) клетки цилиндрического эпителия шейки матки (цервикального эпителия) располагаются в виде полосок, образуя сотоподобные структуры, форма эпителиоцитов округлая, цитоплазма умеренно базофильная, содержит округлое ядро с ядрышком, ядро занимает большую часть цитоплазмы (см. рис. 1А); 6) эпителиоциты зоны трансформации шейки матки («метапластический эпителий») располагаются в виде пластов или поодиночке (рис. 1Б). Клетки имеют округлую форму. Цитоплазма окрашивается базофильно. По мере созревания клеток цитоплазма светлеет и клетки приобретают полигональную форму без деформации ее контуров. Крупные ядра имеют округлую форму. Ядерно-цитоплазменное соотношение изменяется в сторону повышения объема цитоплазмы. Эти эпителиоциты известны в литературных данных как «резервные клетки».

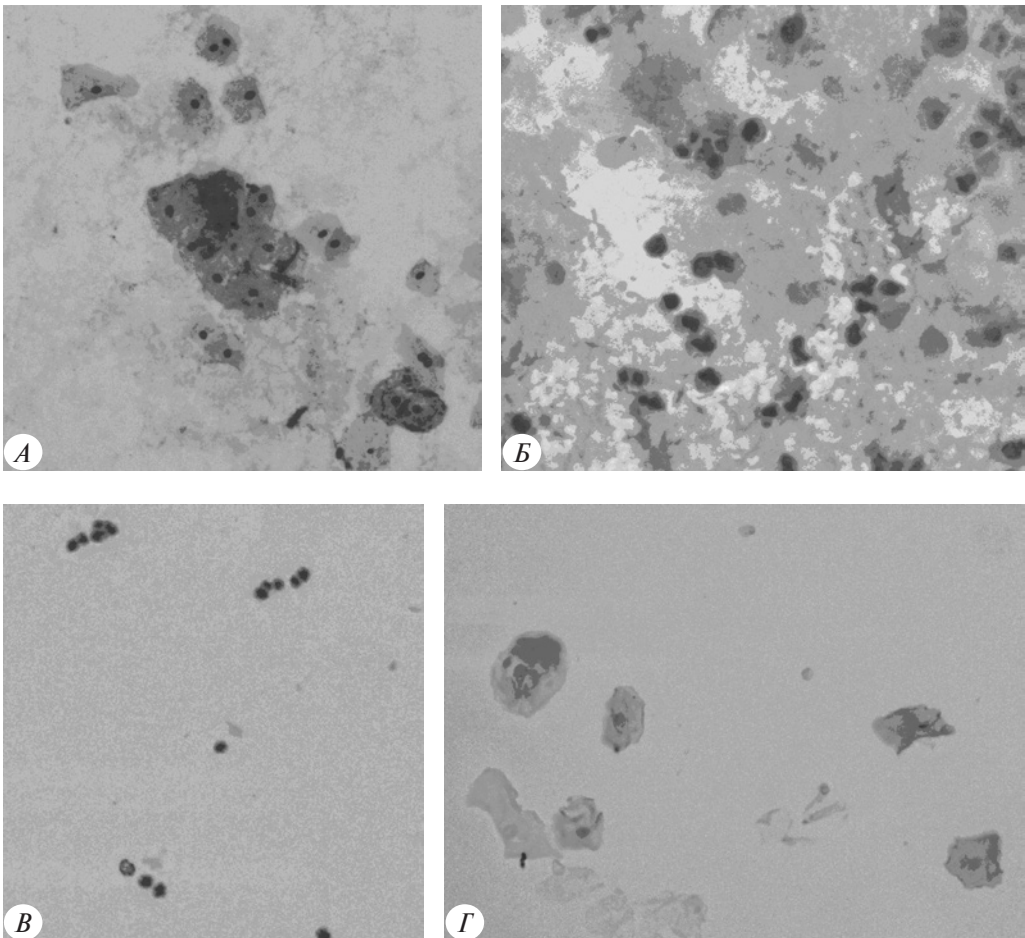
При обработке мазков на маркер ядерной пролиферации Ki 67 метка обнаруживается в ядрах эпителиоцитов «метапластического эпителия» (рис. 1Б). Метка присутствует в 70–83 % «незрелых резервных клетках». Эти данные совпадают с оценкой среднего содержания ДНК в ядрах эпителиоцитов, «переходной зоны» шейки матки (рис. 2А–В). Здесь выделяются две субпопуляции клеток, участвующие в цикле репродукции – это 3n и 4n субпопуляции. При иммуногистохимическом исследовании мазков из области «стыка» положительная реакция в цитоплазме

клеток обнаруживается при использовании антител к цитокератину 20 (рис. 1Г). Метку содержат как зрелые, так и незрелые формы так называемых «резервных клеток», чаще незрелые. Цитофотометрически в цитоплазме этих эпителиоцитов идет возрастание оптической плотности суммарного белка (рис. 2Г, столбики 1–3).

Иная картина наблюдается в эпителиоцитах, выделенных из состава вагинального эпителия с поверхности экзоцервикса. В клетках промежуточного и поверхностного слоев многослойного плоского эпителия шейки матки метка на белок пролиферации Ki67 не обнаруживается. Практически все клетки по содержанию ДНК в ядрах находятся в пределах  $2n$ . В цитоплазме этих эпителиоцитов идет накопление общего белка, при этом более интенсивные процессы накопления белка в клетках обнаруживаются во II фазе менструального цикла, превышая практически на  $\frac{1}{3}$  относительную плотность общего белка в цитоплазме клеток в I фазе менструального цикла (см. рис. 2Г, столбик 1).

В ядрах цилиндрических эпителиоцитов метка на белок пролиферации практически отсутствует. Однако по среднему содержанию ДНК в ядрах цилиндрических эпителиоцитов, полученных из состава цервикального эпителия шейки матки, обнаруживается субпопуляция клеток с  $3n$  и совсем небольшая субпопуляция клеток с  $4n$  ДНК (см. рис. 2В). При этом в цитоплазме этих эпителиоцитов идет накопление общего белка, почти в два раза превышающее таковое в эпителиоцитах «переходной зоны» и многослойного плоского вагинального эпителия шейки матки (см. рис. 2Г, столбики 1, 2). Обращает на себя внимание отсутствие метки на цитокератин 20 в цитоплазме эпителиоцитов, выделенных из состава многослойного плоского вагинального эпителия и цилиндрического эпителия цервикального канала.

Согласно полученным данным, эпителиоциты, выделенные из состава эпителия «переходной зоны» шейки матки, по цитохимической характеристике отличаются от эпителиоцитов многослойного влагалищного эпителия и цилиндрических эпителиоцитов. Соответственно этому в состав эпителиальной выстилки шейки матки входят следующие клетки: целомического происхождения (цервикальный эпителий), эктодермального происхождения (вагинальный эпителий, эпителий кожного типа) и клетки, расположенные на стыке двух вышеозначенных эпителиев, но иной гистогенетической природы. Последние проявляют свойства многослойности в реактивных условиях. В частности, при реактивных изменениях эпителиальной выстилки шейки матки у женщин репродуктивного возраста при кольпоскопической картине эктропиона. В клинической практике эти клетки называются «резервными» [8]. В литературе недостаточно представлены свойства этих клеток, не описан жизненный цикл и возможный источник развития [11, 12]. Согласно полученным данным, более вероятным эмбриональным источником развития данных клеток являются эпителиоциты выстилки мочепоолового пространства (МПП) [2]. Последние участвуют в формировании взаимодействия эпителиев целомического происхождения и эктодермального происхождения по отношению к наружному зеву матки. В эмбриогенезе в процессе формирования женского репродуктивного тракта клетки МПП включаются в состав выстилки шейки матки в виде дисперсной клеточной системы. Обнаруживается концен-



*Рис 1. А* – группа эндоцервикальных клеток, вокруг которых обнаруживаются промежуточные и поверхностные клетки многослойного плоского эпителия; мазок с поверхности шейки матки и цервикального канала: *1* – эпителиоциты, производные цилиндрического эпителия; *2* – эпителиоциты, производные многослойного плоского эпителия; *Б* – группа «незрелых метапластических эпителиоцитов» (стрелка); мазок с поверхности шейки матки и цервикального канала; *В* – иммуногистохимическая реакция на белок Ki 67 в ядрах «незрелых метапластических эпителиоцитов» (стрелка); мазок с поверхности шейки матки и цервикального канала; *Г* – цитоплазматическая метка на цитокератин 20 в «метапластических эпителиоцитах» (стрелки); мазок с поверхности шейки матки и цервикального канала. Окраска: *А, Б* – гематоксилин и эозин, *Г* – гематоксилин Майера. Ув. *А, Б, Г* – 400×, *В* – 200×

трация этих клеток возле стыка цилиндрического и многослойного эпителиев. В клинике эктропиона клетки дисперсной системы активно участвуют в процессах пролиферации и дифференциации и определяют градиент перемещения эпителиев целомического и эктодермального происхождения по отношению к наружному зеву матки. Эти эпителиоциты по внешним параметрам похожи на эпителиоциты кожного типа, но отличаются от последних по цитохимическим

характеристикам. Они имеют высокий пролиферативный потенциал, по содержанию белков в разных фазах менструального цикла достоверно не различаются и синтезируют цитокератин 20. Последний в пренатальном онтогенезе обнаруживается в эпителиоцитах выстилки формирующегося шеечного канала матки, а также в эпителиоцитах МПП плода человека. МПП также принимает участие в развитии выстилки мочевого пузыря, который представлен в виде переходного эпителия и многослойного плоского эпителия [10].

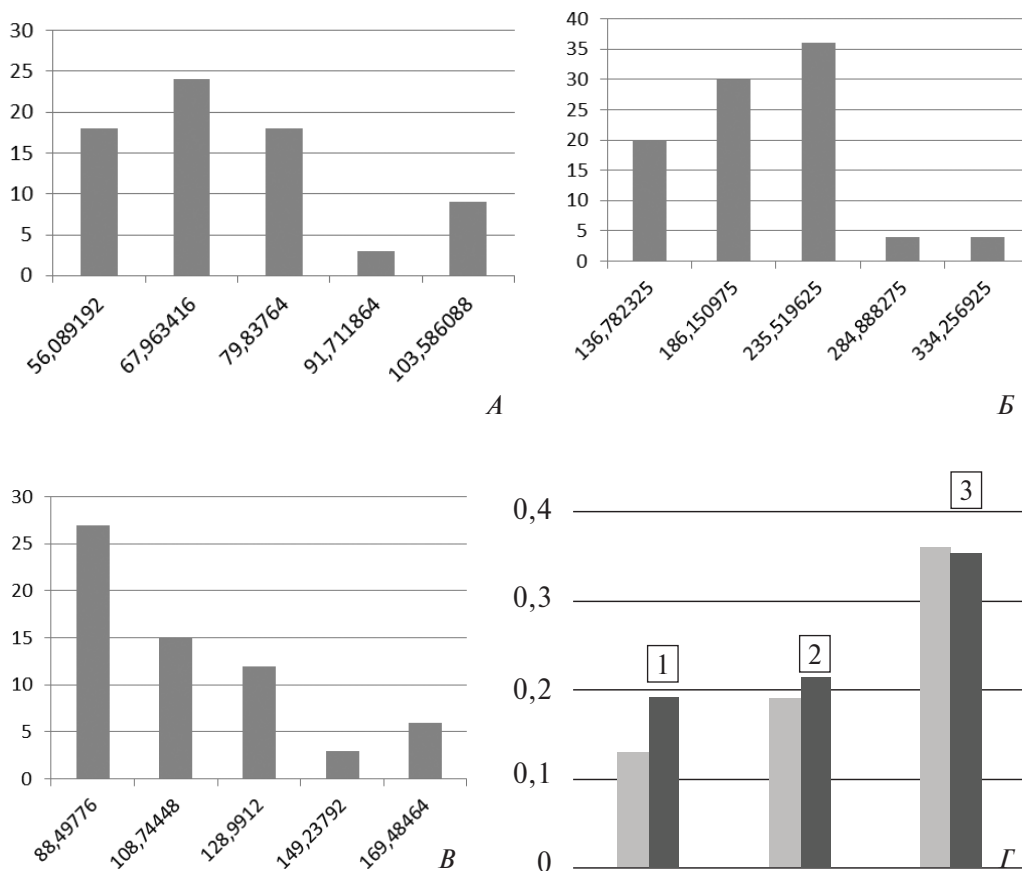


Рис. 2. Цитоспектрофотометрическая характеристика среднего содержания ДНК (А, Б, В) в ядрах и оптическая плотность суммарного белка цитоплазмы (Г) в клетках, выделенных из состава эпителиальной выстилки шейки матки при кольпоскопической картине эктропиона ( $P = 0,95$ ). А – промежуточные и поверхностные эпителиоциты вагинального эпителия;

Б – эпителиоциты «переходной зоны»; В – эпителиоциты цервикального эпителия;

Г – эпителиоциты «стыка» шейки матки.

По оси абсцисс: А, Б, В – среднее содержание ДНК в ядрах; Г – среднее содержание общего белка в цитоплазме эпителиоцитов «стыка» шейки матки.

По оси ординат: А, Б, В – число клеток; Г – оптическая плотность общего белка. Г – светлые столбики – I фаза менструального цикла, темные столбики – II фаза менструального цикла;

1 – эпителиоциты вагинального эпителия; 2 – эпителиоциты «переходной» зоны;

3 – эпителиоциты цервикального канала

Таким образом, клетки дисперсной системы женского репродуктивного тракта являются производными эмбриональной выстилки мочепоолового пространства. В постнатальном онтогенезе клетки, производные МПП, на основе тканевой детерминации, процессов пролиферации и дифференциации формируют многослойный плоский эпителий «переходной зоны» при эктропионе. Клетки, содержащие метку на цитокератин 20, следует идентифицировать как клетки, производные МПП. В цитологической диагностике эктропиона рационально использовать иммуноцитохимический маркер на промежуточные филаменты эпителиоцитов с помощью антител к цитокератину 20.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Ангар Б., Броцман Г., Шницер М.* Клиническая кольпоскопия / Под общ. ред. В. Н. Прилепской. М.: Практическая медицина, 2012.
2. *Жеглова М. Ю.* Морфофункциональные особенности строения женской половой системы в эмбриогенезе человека // Профилактическая медицина 2013. Материалы конференции. СПб., 2013.
3. *Клишов А. А.* Гистогенез и регенерация тканей. Л.: Медицина, 1984.
4. *Кнорре А. Г.* Эмбриональный гистогенез. Л.: Медицина, 1971.
5. Количественные методы исследования функциональной активности клеток и тканей: методические рекомендации. Уфа: Изд. БГМИ, 1988.
6. Комплексная борьба с раком шейки матки: краткое практическое руководство. Швейцария: ВОЗ, 2008.
7. Метаплазия тканей: материалы симпозиума по метаплазии тканей. М.: Наука, 1970.
8. *Нейштадт Э. Л., Крулевский В. А.* Дифференциальная диагностика опухолей шейки матки. Санкт-Петербург: КультИнформПресс, 2012.
9. *Хлопин Н. Г.* Общебиологические и экспериментальные основы гистологии. Л.: Изд. АН СССР, 1946.
10. *Шапиро Н. А.* Принципы цитологической диагностики злокачественных опухолей: цветной атлас. М.: «Репроцентр М», 2008.
11. *Bosch F. X., Sanjose S. J. de.* Human papillomavirus in cervical cancer // Current Oncology Reports. 2002. Vol. 4. № 2. P. 175–183.
12. *Kotaniemi-Talonen L., Nieminen P., Anttila A., Hakama M.* Routine cervical screening with primary HPV testing and cytology triage protocol in a randomized setting // Br. J. Cancer. 2005. Vol. 93. P. 862–867.
13. *Stanley M. A., Pett M. R., Coleman N. N.* HPV: from infection to cancer // Biochem. Soc. Trans. 2007. Vol. 35. P. 1456–1460.
14. *Vermulen Chr., Sordanova E. S., Hoar N. I.* Expression and genetic analysis of transporter associated with antigen processing in cervical carcinoma // Gynecol. Oncology. 2007. Vol. 105. P. 593–600.
15. *Witkiewicz A. K., Hecht J. I., Cviko A. et al.* Microglandular hyperplasia: a model for the de novo emergence and evolution of endocervical reserve cells // Hum. Pathol. 2005. Vol. 36. P. 154–161.