

DOI: 10.34921/amj.2022.3.007

Litvinenko M.V.¹, Sevelev S.L.², Koşelnik O.L.¹, Narbutova T.Ye.¹,
Buryaçkovski E.S.¹, Qulbs O.A.³, Nadvorna O.M.⁴, Qarqin V.V.^{5,6}

HİV-İNFEKSİYALI QADINLARDA UŞAQLIQ BOYNUNUN SİTOLOJİ STATUSU

¹ Odessa Milli Tibb Universitetinin Normal və Patoloji klinik anatomiya kafedrası,

² Odessa Milli Tibb Universitetinin Molekulyar patologiya laboratoriyası,

³ Pavel Tiçini adına Uman Dövlət Pedaqoji Universitetinin Psixologiya kafedrası,

⁴ Odessa Milli Tibb Universitetinin Mamalıq və qinekologiya kafedrası,

⁵ Xarkov Milli Tibb Universitetinin Patoloji anatomiya kafedrası,

⁶ Xarkov Milli Tibb Universitetinin peşə yönümlü fənlər Kafedrası, Ukrayna

Xülasə. Məqalədə haqqında bəhs edilən elmi-tədqiqat işi HIV-infeksiyalı qadınlarda uşaqlıq boynu epitelinin vəziyyətini və CD4 hüceyrələrin səviyyəsini öyrənmək məqsədilə aparılmışdır. Hər biri 30 nəfərdən ibarət olan 2 qrupa bölünmüş reproduktiv yaşlı 60 qadında sitoloji analiz aparılmışdır. 1-ci qrupa HIV-neqativ, 2-ci qrupa HIV-pozitiv xəstələr daxil edilmişdir. CD4 hüceyrələrin az olduğu hallarda hər mikrolitrdə 500-350-100 hüceyrəyə görə dərəcələnmə aparılmışdır.

Tədqiqat zamanı HIV-infeksiyalı qadınlarda CD4-hüceyrələrin azlığı şəraitində uşaqlıq boynunda neoplastik proseslərin sürətləndiyi müşahidə edilmişdir. Bu isə uşaqlıq boynunun möhtəviyyatından hazırlanmış yaxmalarda iltihabi proses əlamətləri, keylositoz iki- və çoxnüvəli hüceyrələr, parakeratoz, sitoplazmanın amfophilii ilə və uşaqlıq boynunun epitel hüceyrələrinin arxitektonikasının dəyişməsi ilə təzahür edir. Müəlliflərin fikrincə, HIV-infeksiyalı qadınların uşaqlıq boynu möhtəviyyatında CD4 hüceyrələrin bir kvadratmillimetrdə 100-dən az olması neoplastik transformasiya imkanı baxımından arzu edilməz proqnostik əlamətdir.

Açar sözlər: uşaqlıq boynu, HIV-infeksiya, SD4

Ключевые слова: шейка матки, ВИЧ, CD4

Key words: cervix, HIV, CD4

Литвиненко М.В.¹, Севелев С.Л.², Кошельник Е.Л.¹, Нарбутова Т.Е.¹,
Бурячковский Э.С.¹, Гульбс О.А.³, Надворна О.Н.⁴, Гаргин В.В.^{5,6}

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ШЕЙКИ МАТКИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЖЕНЩИН

¹Кафедра нормальной и патологической клинической анатомии Одесского национального медицинского университета, Одесса, Украина; ²Лаборатория молекулярной патологии Одесского национального медицинского университета, Одесса, Украина; ³Кафедра психологии Уманьского государственного педагогического университета им. Павла Тычины, г. Умань, Украина; ⁴Кафедра акушерства и гинекологии Одесского национального медицинского университета, Одесса, Украина;

⁵Кафедра патологической анатомии Харьковского национального медицинского университета, Харьков, Украина, ⁶Кафедра профессионально-ориентированных дисциплин Харьковского международного медицинского университета, Харьков, Украина

Выявление цитологических особенностей цервикального эпителия у ВИЧ-инфицированных женщин в сочетании с уровнем CD4-клеток послужило целью данной работы.

Проведен цитологический анализ 60 женщин репродуктивного возраста, которые были разделены на 2 группы по 30 женщин (ВИЧ-негативные и ВИЧ-позитивные). При определении количества лимфоцитов CD4 меньше, грация проводилась с показателями 500-350-100 клеток в

микролитре.

В ходе исследования обнаружено об ускорение неопластических процессов шейки матки у ВИЧ-инфицированных при снижении уровня CD4-клеток, что проявляется воспалительным типом мазка, койлоцитозом, наличием двух- и многоядерных клеток, кератиноцитов, паракератоза, амфилофии цитоплазмы, и, ключевое, изменением архитектуры клеток цервикального эпителия. По мнению авторов у ВИЧ-инфицированных число CD4-клеток ниже 100 в мм³ следует рассматривать как неблагоприятный прогностический фактор для развития неопластической трансформации.

Коморбидная патология, высокая смертность, инвалидизация остаются актуальной проблемой для лиц, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) в том числе у женщин репродуктивного возраста [1, 2]. В соответствии с ранее проведенными исследованиями повышенный риск [3, 4] развития цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) у ВИЧ-инфицированных женщин зависит от функционального состояния Т-клеточного звена иммунитета.

При этом, значительное количество смертей от злокачественной трансформации цервикального эпителия можно предупредить с помощью цитологического скрининга [5, 6]. Принято, что все впервые диагностированные ВИЧ-инфицированные женщины должны быть осмотрены врачом-гинекологом со сбором сексуального и гинекологического анамнеза и проведения ПАП-теста [7]. Некоторые ученые считают, что ВИЧ-инфицированные женщины должны проходить скрининг РШМ два раза в течение первого года после установления диагноза ВИЧ-инфекции, а затем регулярно, раз в год, в случае если результаты предыдущих исследований были в норме. Женщины с высоким количеством вируса папилломы человека (ВПЧ) обязаны проходить цитологию шейки матки каждые полгода. При этом следует понимать трудности организации такого скрининга у женщин ведущих асоциальный образ жизни [8], что обуславливает задачу разработки объективных методов оценки состояния здоровья у таких женщин.

В ранее опубликованных нами работах представлены данные об гистологических изменениях в шейке матки [4], эндометрии [9], молочной железе [10], яичниках [11] и логичным продолжением проведенных исследований является выявление цитологических особенностей цервикального эпителия у ВИЧ-инфицированных, что и послужило

целью данной работы.

Материалы и методы исследования. Проведен цитологический анализ 60 женщин репродуктивного возраста от 20 до 40 лет, которые были разделены на 2 группы по 30 женщин (при наборе групп был использован принцип randomness). Первую группу составили пациенты с подтвержденной ВИЧ-инфекцией. Группу сравнения составили не инфицированные женщины. ВИЧ-инфекция верифицировалась с помощью иммуноферментного анализа сыворотки (ELISA) с подтверждением вестерн-блоттингом. При определении количества лимфоцитов CD4 меньше, градация проводилась с показателями 500-350-100 клеток в микролитре. Наличие менее 100 клеток считалось «низким». Проводилось выявление взаимосвязи между количеством лимфоцитов в мазке и изменениями эпителиальных клеток.

Для получения клеточного материала щеточкой «Cervico-Brush» брали мазки с влажной поверхностью шейки матки и цервикального канала. После забора материал наносили тонким слоем на стекло, высушивали на воздухе, фиксировали в смеси Никифорова в течение 10-20 мин., затем красили по Папаниколау. исследование проводили на микроскопе «Olympus BX41» с дальнейшим морфометрическим исследованием в программе «Olympus DP-soft 3.12 (Япония). Оценка состояния эпителия шейки матки проводилась согласно цитологической классификации по Папаниколау [12].

Клеточный материал для жидкостной цитологии переносили с цитощеточкой в жидкую среду накопления (система CITOSCREEN), которую отправляли в лабораторию, где с помощью специального оборудования готовили тонкослойные цитологические препараты. В результате серии процедур (отделение клеточного материала от щеточки, определение плотности клеточной суспензии, дальнейшего разбавления в соответствии с группой плотности, центрифугирования и автоматического нанесения клеточной суспензии на стекло) получали препараты, в которых клетки располагались равномерным монослоем. Исследование препаратов в проходящем свете проводилось на исследовательском микроскопе «Olympus BX41» (Япония). Оценка диспластических процессов эпителия шейки матки проводилась согласно цитологической классификации Bethesda.

Статистическая обработка выполнена с использованием методов вариационной статистики. Соответствие распределения нормальному определяли по критерию Shapiro-Wilk's test который показал, что выборки близки к нормальному распределению. Статистические показатели представлены в формате

$M \pm \sigma$, где M – средняя арифметическая величина, σ – стандартное отклонение, t -критерий Стьюдента. Корреляционный анализ осуществлялся с применением рангового коэффициента корреляции Спирмена. Статистическая разница между исследуемыми показателями считалась достоверной при $p < 0,05$.

Все исследования проведены в соответствии с Хельсинкской декларацией, утверждены комиссией по этике Одесского национального медицинского университета (протокол 3, 17 октября 2011 г.).

Результаты исследования. При микроскопическом исследовании у всех женщин группы ВИЧ-инфицированных выявлены койлоцитоз, двух- и многоядерные клетки, кератиноциты, паракератоз, амфилия цитоплазмы, что принято рассматривать как признаки инфицирования шейки матки высокоонкогенными штаммами вируса папилломы человека. Помимо этого, эпителиальные клетки характеризовались круп-

ным размером, смещением ядра на периферию, неравномерным окрашиванием цитоплазмы, явлениями кариопикноза, кариорексиса, кариолизиса, дискератоза. Воспалительный тип мазка был выявлен у всех женщин этой группы с наличием нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов, плазмочитов, гистиоцитов, макрофагов и микрофлоры (Рис. 1). При этом в группе сравнения, воспалительный тип мазка был выявлен только у 11 женщин (36,6%). Распределение женщин с выявленными повреждениями цервикального эпителия и уровень CD4 клеток представлены в таблице 1. При изучении взаимосвязи между уровнем CD4 клеток и степенью повреждения цервикального эпителия установлена сильная корреляционная взаимосвязь ($r = 0,81$).

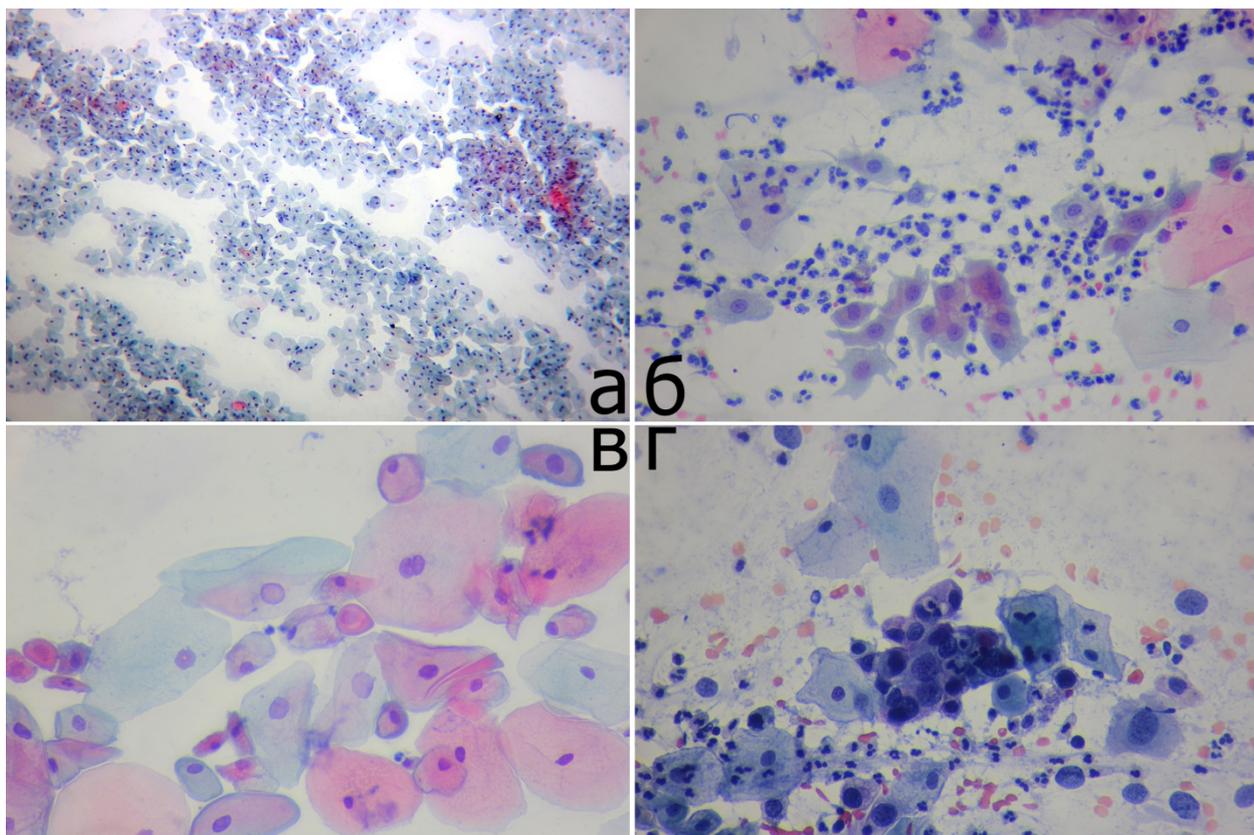


Рис. 1. Цитологическое исследование по Папа-Николау. а) неизмененный эпителий женщины из группы сравнения; б) воспалительная инфильтрация; в) признаки легкой дисплазии; г) тяжелая дисплазия цервикального эпителия.

Таблица 1. Распределение женщин в зависимости от выявленных повреждений цервикального эпителия и уровня CD4 клеток

Признак	Исследуемая группа n (%)	
	ВИЧ-инфицированные	Группа сравнения
Цервикальные интраэпителиальные повреждения низкой степени (LSIL)	20 (66,7)	10 (33,3)
Цервикальные интраэпителиальные повреждения высокой степени (HSIL)	10 (33,3)	1 (3,3)
Количество CD4 в 100 мкл больше 500 клеток	-	30 (100)
Количество CD4 в 100 мкл от 350 до 500 клеток	2 (6,6)	-
Количество CD4 в 100 мкл от 100 до 350 клеток	22 (73,3)	-
Количество CD4 в 100 мкл меньше 100 клеток	6 (20,0)	-

Примечание: * - наличие достоверного отличия относительно группы сравнения ($p < 0,05$)

Обсуждение. Изучение патологии женской половой системы многогранно, в связи с наличием органоспецифических изменений [13], которые изменяются в зависимости от этиологического фактора [14, 15], патогенеза заболевания [16], проводимого лечения [17], образа жизни [18]. Женская половая система как составная часть организма зависима от процессов происходящих в нем [19], в том числе при развитии иммунодефицитного статуса.

Результаты проведенного нами исследования сочетаются с данными о выборе прогностических факторов для прогрессирования цервикальных повреждений основанных на определении числа Т-лимфоцитов CD4+ ивозвраста больной [8]. При этом имеются данные, что нелеченная неоплазия шейки матки с большей вероятностью переходит в инвазивный рак у ВИЧ-инфицированных женщин, чем у здоровых. Шансы на возникновения рецидива после прохождения лечения довольно высоки, что связывают с функцией женской иммунной системы. Практически все исследования обращают внимание на более высокую заболеваемость CIN у ВИЧ-инфицированных женщин по сравнению с неинфицированными. По некоторым данным CIN присутствует более чем у трети ВИЧ-инфицированных женщин даже при отсутствии

патологии в пап-мазках [20].

У женщин с низким содержанием CD4-лимфоцитов (менее 200 клеток/мм³) регистрируется самый высокий показатель распространенности ВПЧ-инфекции, и чаще – это именно типы ВПЧ высокого онкогенного риска [21]. Поэтому ВИЧ-инфицированные женщины подвергаются в большей степени возможности развития рака шейки матки.

Установлено, что женщины больные ВИЧ-инфекцией и раком шейки матки (РШМ) одновременно вылечиваются от рака не так успешно, как ВИЧ-отрицательные пациентки. Женщины с количеством CD4 клеток больше 500 склонны к более быстрому выздоровлению [22].

При этом комплекс изменений характерный для сложной трансформации во всем организме у ВИЧ-инфицированных, по всей видимости, запускает сложный каскад клеточных взаимодействий одним из этапов которых морфологическая перестройка эпителия шейки матки. В целом можно констатировать об ускорении неопластических процессов шейки матки у ВИЧ-инфицированных при снижении CD4 клеток ниже 100 в мкл, что проявляется воспалительным типом мазка, койлоцитозом, наличием двух- и многоядерных клеток, кератиноцитов, паракератоза, амфиофилии цитоплазмы, и,

ключевое, изменением архитектуры клеток цервикального эпителия.

По нашему мнению, у ВИЧ-инфицированных число CD4-клеток ниже 100 в мм³

следует рассматривать как неблагоприятный прогностический фактор для развития неопластической трансформации.

REFERENCES

1. Shepherd L., Borges Á., Ledergerber B. et al. Infection-related and -unrelated malignancies, HIV and the aging population // *HIV Med.* 2016;17(8):590-600. doi:10.1111/hiv.12359
2. Chumachenko D., Chumachenko T. Intelligent Agent-Based Simulation of HIV Epidemic Process // *Adv Intell Sys Comput* 2020;1020:175-188. doi: 10.1007/978-3-030-26474-1_13
3. Grint D., Peters L., Rockstroh J.K. et al. Liver-related death among HIV/hepatitis C virus-co-infected individuals: implications for the era of directly acting antivirals // *AIDS.* 2015;29(10):1205-1215. doi:10.1097/QAD.0000000000000674
4. Lytvynenko M., Shkolnikov V., Bocharova T. et al. Peculiarities of proliferative activity of cervical squamous cancer in hiv infection // *Georgian Med News.* 2017;(270):10-15.
5. Ludwicki J.K., Góralczyk K., Struciński P. et al. Hazard quotient profiles used as a risk assessment tool for PFOS and PFOA serum levels in three distinctive European populations // *Environ Int.* 2015;74:112-118. doi:10.1016/j.envint.2014.10.001
6. Trullas J.C., Mocroft A., Cofan F. et al. Dialysis and renal transplantation in HIV-infected patients: a European survey // *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010; 55(5):582-589. doi:10.1097/QAI.0b013e3181efbe59
7. Pelchen-Matthews A., Ryom L., Borges Á.H. et al. Aging and the evolution of comorbidities among HIV-positive individuals in a European cohort // *AIDS.* 2018;32(16):2405-2416. doi:10.1097/QAD.0000000000001967
8. Massad L.S., Einstein M.H., Huh W.K. et al. 2012 ASCCP Consensus Guidelines Conference. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors // *J Low Genit Tract Dis.* 2013 Apr;17(5 Suppl 1):S1-S27.
9. Lytvynenko M.V., Narbutova T.Y., Vasylyev V.V., Gargin V.V. Indicators of proliferative activity of endometrium in women with immunodeficiency // *Azerbaijan Med J* 2021(2):53-60. doi: 10.34921/amj.2021.2.008
10. Lytvynenko M.V., Narbutova T.Y., Oliynyk N.N. et al. Estrogen and progesterone receptors in endometrial, cervical and breast tissues in immunodeficient conditions // *Azerbaijan Med J* 2021(3):70-77. doi: 10.34921/amj.2021.3.010
11. Lytvynenko M., Bondarenko A., Gargin V. The effect of alcohol on ovarian state in HIV-infected women // *Azerbaijan Med J* 2021(1):61-68. doi:10.34921/amj.2021.1.008
12. Gargin V., Radutny R., Titova G., Bibik D., Kirichenko A., Bazhenov O. Application of the computer vision system for evaluation of pathomorphological images. 2020 IEEE 40th International Conference on Electronics and Nanotechnology, ELNANO 2020 - Proceedings; 2020. 469-473, doi:10.1109/ELNANO50318.2020.9088898.
13. Lyndin M., Hyriavenko N., Sikora V., Lyndina Y., Soroka Y., Romaniuk A. Invasive Breast Carcinoma of No Special Type with Medullary Pattern: Morphological and Immunohistochemical Features // *Turk Patoloji Derg.* 2021;10.5146/tjpath.2021.01559. doi:10.5146/tjpath.2021.01559
14. Romanjuk A., Lyndin M., Moskalenko R., Gortinskaya O., Lyndina Y. The Role of Heavy Metal Salts in Pathological Biomineralization of Breast Cancer Tissue // *Adv Clin Exp Med.* 2016;25(5):907-910. doi:10.17219/acem/34472
15. Lyngsø J., Ramlau-Hansen C.H., Høyer B.B. et al. Menstrual cycle characteristics in fertile women from Greenland, Poland and Ukraine exposed to perfluorinated chemicals: a cross-sectional study // *Hum Reprod.* 2014;29(2):359-367. doi:10.1093/humrep/det390
16. Vynnychenko I.O., Pryvalova A.O., Vynnychenko O.I., Lyndin M.S., Sikora V.V., Romaniuk A.M. PIK3CA-mutant circulating tumor DNA in patients with breast cancer // *Azerbaijan Med J.* 2020;3:79-88. doi:10.34921/amj.2020.3.010
17. Kon K., Rai M. Antibiotic Resistance: Mechanisms and New Antimicrobial Approaches. *Antibiotic Resistance: Mechanisms and New Antimicrobial Approaches*; 2016. p. 1-413.
18. Polyvianna Y., Chumachenko D., Chumachenko T. Computer aided system of time series analysis methods for forecasting the epidemics outbreaks. 2019 15th International Conference on the Experience of Designing and Application of CAD Systems, CADSM 2019:1-4. doi: 10.1109/CADSM.2019.8779344
19. Gargin V., Muryzina I., Shcherbina N., Nechyporenko A., Baryshevska V., Vorobyova O., Alekseeva V. Relationship between bone density of paranasal sinuses and adrenal steroids pattern in women during menopausal transition // *Anthropological Review.* 2020;83(4):407-418. doi: 10.2478/anre-2020-0031
20. Sakdadech N., Muangmool T., Srisomboon J. HIV-Infected Women with Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion on Cervical Cytology Have Higher Risk of Underlying High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia // *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(19):10211. Published 2021 Sep 28. doi:10.3390/ijerph181910211
21. Obiri-Yeboah D., Akakpo P.K., Mutocheluh M. et al. Epidemiology of cervical human papillomavirus (HPV)

infection and squamous intraepithelial lesions (SIL) among a cohort of HIV-infected and uninfected Ghanaian women // *BMC Cancer*. 2017;17(1):688. Published 2017 Oct 16. doi:10.1186/s12885-017-3682-x

22. Boyko V.V., Mykytyn V.Z., Pak V.Y., Pyndzyn D.M., Sikora V.V., Lyndin N.S. Differentiated approach to the treatment of the adhesive obstruction // *Azerbaijan Med J* 2020;2020(2):11-18.

**Lytvynenko M.V.¹, Tsevelev S.L.², Koshelnyk O.L.¹, Narbutova T.Ye.¹,
Buriachkivskiy E.S.¹, Gulbs O. A.³, Nadvorna O.M.⁴, Gargin V.V.^{5,6}**

THE STATUS OF CERVICAL CYTOLOGY IN HIV-INFECTED WOMEN

¹*Department of Normal and Pathological Clinical Anatomy, Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine;* ²*Laboratory of molecular pathology of Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine;*

³*Department of Psychology, Pavlo Tychyna Uman State Pedagogical University, Uman, Ukraine;*

⁴*Department of Obstetrics and Gynecology, Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine;* ⁵*Department of Pathological Anatomy, Kharkiv National Medical University,* ⁶*Department of Professionally Oriented Disciplines, Kharkiv International Medical University, Kharkiv, Ukraine*

The scientific research mentioned in the article was conducted to identify the cytological features of the cervical epithelium and the level of CD4 cells in HIV-infected women. Cytological analysis was performed on 60 reproductive-aged women, they were divided into 2 groups equally. 1st group consist of HIV-negative, 2nd group consists of HIV-positive women. When determining low numbers CD4 lymphocytes gradation was performed with 500-350-100 cells per microliter.

This research works results show the acceleration of neoplastic processes of the cervix in HIV-infected women with a decreased number of CD4 cells. It is manifested by inflammatory processes in the smear, koilocytosis, the presence of binuclear and multinucleated cells, keratinocytes, parakeratosis, amphophilic cytoplasm and changes in cervical epithelial cells.

In HIV-infected people, the CD4 cell count below 100 per cubic millimeter should be considered an unfavourable prognostic factor for the development of neoplastic transformation.

Автор для корреспонденции:

Гаргин Виталий Витальевич, профессор кафедры патологической анатомии Харьковского национального медицинского университета, Харьков, Украина.

E-mail: vitgarg@ukr.net

Author for correspondence:

Gargin Vitaliy, Professor of the Department of Pathological Anatomy, Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine.

E-mail: vitgarg@ukr.net