

## The structural and immunological features of the tonsils papilloma with chronic tonsillitis

M. I. Herasymyuk

Department of Otorhinolaryngology, Ophthalmology and Neurosurgery  
I. Ya. Gorbachevski National Medical University of Ternopol, Ukraine

Corresponding author: university@tdmu.edu.te.ua. Manuscript received February 10, 2015; accepted April 02, 2015

### Abstract

**Background:** The complex immunological, morphological and morphometric characteristics of the tonsil papilloma.

**Material and methods:** Patient with the tonsil papilloma was determined by flow cytofluorometer the state of apoptosis and necrosis, and their ratio in lymphocytes and neutrophils in tonsils homogenate and peripheral blood. Were determined the levels of lymphocyte subpopulations and their ratio. The morphometric analysis of histological sections was performed.

**Results:** In the patient with the tonsil papilloma, the multiplicity ratio of apoptosis/necrosis was higher than 14 (decompensated form of chronic tonsillitis). At the same time, the increase of number of layers and the basal surface of cells was noticed. The cells of papillomatoze outgrowth and its neighboring areas were exposed to hyperplasia. However, the peripheral parts of the tonsil mucosa looked thinner, the number of cell layers were no more than 13-15, the thickness of the capsule was increased to 85 micrometers [(25.17 ± 1.01) mm under the compensated shape], the diameter of the follicles did not exceed more than 170-190 m (281.83 ± 14.91) mat the compensated form). The glycogen content in the epithelium of the papilloma was high. The quantitative reduction of lymphocyte subpopulations CD3, CD4, CD8 and CD16, while maintaining the level of CD19 was noted.

**Conclusions:** Thus, at chronic tonsillitis the sharp decrease of cell immunity and to a certain extent the conservation of humoral immunity is present. One of the components of the pathogenesis of the disease may be autoimmune processes, which create favorable conditions for the development of papillomatosis of the tonsils.

**Key words:** chronic tonsillitis, papilloma, morphology, immunity.

## Структурные и иммунологические особенности папилломы небной миндалины на фоне хронического тонзиллита

### Введение

Папилломы принадлежат к числу частых доброкачественных новообразований ЛОР-органов. Актуальность проблемы респираторного папилломатоза обусловлена склонностью папиллом к рецидивированию, бурному росту и нередко – к малигнизации [1, 2].

Как известно, существуют две формы поражения гортани папилломатозом: ювенильный, или папилломатоз детей и подростков (проявляется до 14 лет) и папилломатоз взрослых. Папилломатоз взрослых бывает, преимущественно, продолжением рецидивирующего ювенильного папилломатоза. В настоящее время в литературе имеются многочисленные указания на роль в этиологии респираторного папилломатоза вирусов папилломы человека (папиллома-вирусов – ПВ), особенно 6-го и 11-го серотипов. Есть также и данные об определенной эффективности комплексного лечения, включающего противовирусные препараты [3, 4].

Кроме того установлено, что важную местную роль на начальных стадиях ПВ-инфекции играет Т-клеточный иммунный ответ, в то время как гуморальный иммунный ответ уменьшает распространение вируса по всему организму инфицированного и таким образом сужает возможности реинфекции. Иммунная защита бывает, скорее, типоспецифической, что позволяет объяснить наличие большого количества типов ПВ [5].

Однако, в доступной научной литературе нам не удалось найти детальной морфометрической характери-

стики папилломы небной миндалины (НМ) в сопоставлении с иммунологической характеристикой хронического тонзиллита.

Цель исследования: дать комплексную иммунологическую, морфологическую и количественную морфометрическую характеристику папилломы небной миндалины.

### Материал и методы

Материалом для данного исследования послужила солитарная папиллома небной миндалины, которая была обнаружена у больной во время тонзилэктомии. Больной было проведено определение состояния апоптоза и некроза, их соотношение AN/PI (по маркерам апоптоза – «ANNEXIN V FITC» и некроза PI – пропидий йодид) в лимфоцитах и нейтрофилах гомогената НМ, а также в периферической крови на проточном цитофлюориметре «Becton Culter Epix XL» (USA). Полученные данные сравнивали с результатами наших предыдущих исследований [6]. Кроме того, определяли уровень различных субпопуляций лимфоцитов (с CD3 – рецепторами, которые содержатся во всех субпопуляциях, с CD4 – рецепторами, которые содержатся в хелперах, с CD8 – рецепторами, которые содержатся в супрессорах, с CD16 – рецепторами, которые содержатся в натуральных киллерах и с CD19 – рецепторами, которые содержатся в специфических в-клетках, влияющих на гуморальный иммунитет) [7] и вычисляли их

соотношение. При этом за точку отсчета брали количественно наименьший у больных данного контингента уровень CD8 и сравнивали с нормой, установленной фирмой-производителем для используемого прибора, а также с данными научной литературы [8].

Морфологические исследования кусочков НМ с расположенной на ней папилломой проводили после фиксации материала в 10% растворе нейтрального формалина, жидкости Карнуа и в 96° спирте. Парафиновые срезы толщиной 5-8 мкм, проводимые в трех взаимно перпендикулярных плоскостях, окрашивали гематоксилином и эозином, резорцин-фуксином по Вейгерту, а также по Ван Гизон. Для выявления гликогена использовали ШИК-реакцию.

Морфометрическую оценку тканей на гистологических срезах осуществляли с помощью окуляр-микрометра МОВ-1-15<sup>х</sup>. При этом измеряли диаметр фолликулов, толщину слизистой оболочки, количество слоев эпителия в ней, а также толщину соединительнотканной капсулы.

### Результаты

Как нами было установлено ранее при гистологическом исследовании НМ в тех случаях, когда у больных соотношение апоптоз/некроз было сравнительно невысоким (кратность соотношения 2-3, по предложенной нами градации – компенсированный хронический тонзиллит [6]) в препаратах четко визуализировалась хорошо выраженная слизистая оболочка, которая была представлена призматическим у основания и многослойным плоским неороговевающим эпителием в поверхностных слоях (рис. 1) и которая довольно активно воспринимала ШИК-красители. Количество слоев эпителиальных клеток при этом составляло  $18,50 \pm 1,08$ . Собственная пластинка слизистой углублялась в эпителиальный слой в виде многочисленных сосочков.

В отличие от этого у больной с хроническим тонзиллитом, осложненным папилломой миндалина, кратность соотношения апоптоз/некроз была выше 14 (по нашей градации – декомпенсированная форма хронического тонзиллита). При этом макроскопически папиллома представляла собой объемное ворсинчатое образование бледно-розового цвета с сероватым оттенком, размерами 3 x 4 мм, которое на 1,5-2 мм выступало над уровнем слизистой оболочки миндалина (рис. 2).

При гистологическом исследовании папилломы и сопоставлении ее с гистологическими срезами слизистой оболочки НМ пациентов с невысоким соотношением AN/PI обращало на себя внимание увеличение количества слоев как базальных, так и поверхностных клеток, которых суммарно насчитывалось до 23-25 и которые локализовались вокруг гиперпластически вытянутых и разветвленных сосочков собственной пластинки слизистой оболочки (рис. 3).

Причем следует отметить, что гиперплазии подвергались не только клетки слизистой оболочки самого па-

пилломатозного выроста, но и соседних с ним участков размеры которых от основания папилломы к периферии примерно соответствовали высоте ворсинок самого новообразования. Как под базальным слоем слизистой оболочки папилломы, так и в соседних с ней участках наблюдалось усиление лимфо-лейкоцитарной инфильтрации элементов соединительнотканной капсулы миндалина (рис. 4). Такие морфологические особенности следует принимать во внимание при хирургическом лечении папилломы небных миндалин для определения объема оперативного вмешательства.

Вместе с тем, периферические отделы слизистой оболочки выглядели истонченными, количество слоев клеток в них не превышало 13-15, а толщина соединительнотканной капсулы, наоборот, возрастала до 85 мкм ( $(25,17 \pm 1,01)$  мкм при компенсированной форме), диаметр фолликулов при этом не превышал 170-190 мкм ( $(281,83 \pm 14,91)$  мкм при компенсированной форме) (рис. 5). Все это также свидетельствовало о декомпенсации хронического тонзиллита на фоне которого и развивалась папиллома.

Кроме того, обращало на себя внимание довольно высокое содержание гликогена в эпителии слизистой оболочки самой папилломы, что свидетельствовало о его достаточно высокой функциональной активности в то время как в соседних участках содержание гликогена было сравнительно небольшим (рис. 6).

При исследовании иммунного статуса у данной больной были установлены следующие показатели, которые отражены в таблице 1. Как видно из таблицы хронический тонзиллит в этом случае за уровнем AN/PI согласно предложенной нами градации [6] также отвечал стадии декомпенсации.

### Обсуждение

Анализ уровня каждой из субпопуляций лимфоцитов и сопоставление их соотношения между собой позволил установить общее количественное снижение субпопуляций CD3, CD4, CD8 и CD16 с одновременным сохранением уровня CD19 у данной больной. Однако, соотношение между отдельными субпопуляциями имело своеобразный характер. Это нашло свое отражение в смещении показателей в пользу CD16 и CD19 (табл. 2). Такой характер иммунограммы свидетельствует о резком снижении уровня общего иммунитета. Кроме того, тенденция к снижению CD3 может характеризовать воспаление и хронизацию процесса, а также свидетельствовать о развитии аутоиммунных изменений. Что касается роста удельного веса CD16, то согласно современным представлениям это клетки, которые обладают способностью уничтожать другие клетки-мишени, инфицированные микроорганизмами, а также любые чужеродные клетки аллогенного или ксеногенного происхождения. Важной функцией CD16-клеток является также участие в общем каскаде синтеза цитокинов, принадлежащих к медиаторам воспаления, а относительно

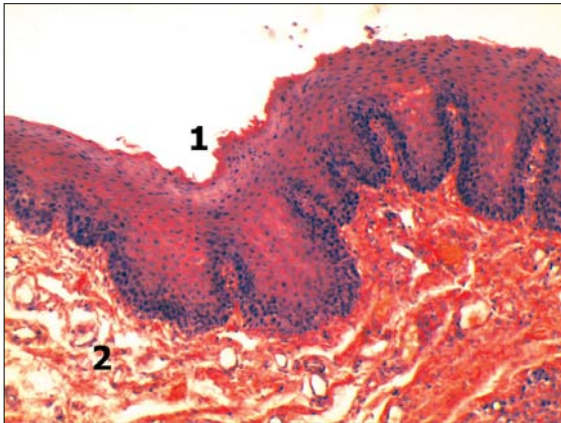


Рис. 1. Поверхность слизистой оболочки небной миндалины с поверхностно расположенным многослойным плоским, а у основания - призматическим эпителием - 1, подслизистая основа - 2, которая формирует соединительнотканную капсулу миндалины.

Гистологический срез небной миндалины при соотношении апоптоз/некроз в лимфоцитах гомогената 2,53. Окраска гематоксилином и эозином. x 180.

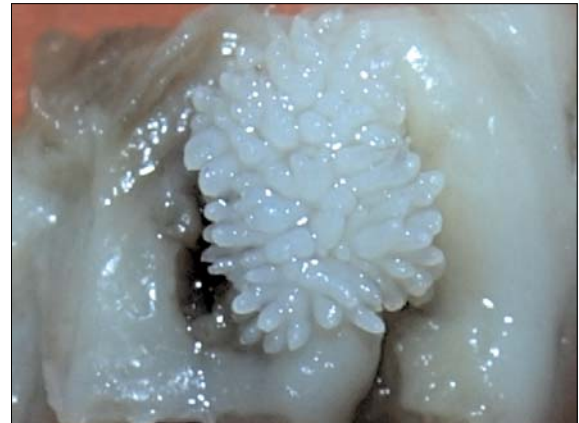


Рис. 2. Папиллома небной миндалины, вид сверху. Фото с натурального препарата.

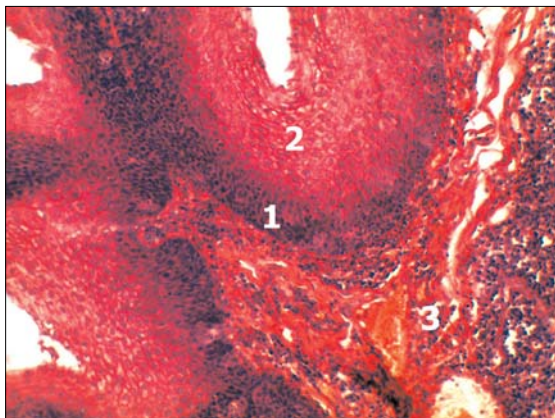


Рис. 3. Слой базальных клеток слизистой оболочки небной миндалины в области ножки папилломы - 1; слой поверхностных клеток и койлоциты (большие светлые клетки с эксцентрично расположенными ядрами) - 2; сосочковый слой из соединительной ткани - 3. Гистологический срез папилломы небной миндалины. Окраска гематоксилином и эозином. x 180.



Рис. 4. Диффузная лимфоидная ткань небной миндалины - 1; лимфоидный фолликул - 2; ворсинки папилломы - 3; соединительнотканная ворсинка папилломы с лимфолейкоцитарной инфильтрацией - 4; неповрежденная часть слизистой оболочки - 5; соединительнотканная капсула миндалины - 6. Гистологический срез папилломы небной миндалины. Окраска гематоксилином и эозином. x 140.

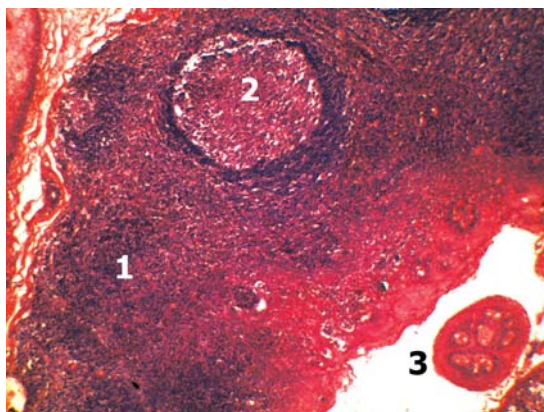


Рис. 5. Диффузная лимфоидная ткань небной миндалины - 1; просветленный лимфоидный фолликул - 2; срез ворсинки папилломы - 3. Гистологический срез небной миндалины с ворсинкой папилломы. Окраска гематоксилином и эозином. x 140.

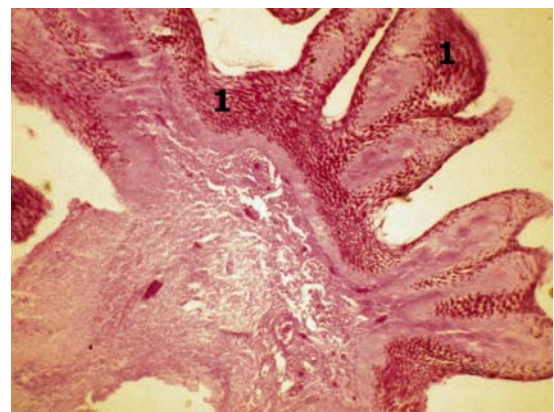


Рис. 6. Повышенное накопление гликогена в слизистой основания ножки и ворсин папилломы небной миндалины - 1. Гистологический срез папилломы небной миндалины. ШИК-реакция. x 140.

высокий уровень этой субпопуляции может свидетельствовать об обострении хронического процесса [9].

Сохранение абсолютного уровня и повышения удельного веса CD19, который присутствует на В-клетках, может быть отражением определенной активации гуморального иммунитета с усилением аутоиммунных реакций [7].

Таким образом, полученные нами данные вполне согласуются с современными представлениями о том, что хроническая папилломавирусная инфекция возникает в случае, когда вирус поражает нижние слои эпидермиса – базальные клетки, причем попадает вирус туда, как правило, через травматические повреждения верхнего слоя. И хотя механизм возникновения папиллом не выяснен, но считается, что экспрессия гена E5 в супрабазальных клетках, расположенных в среднем слое, может стимулировать продукцию цитокинов, которые активируют рост базальных клеток, что и приводит к изменению структуры эпителия в целом. Указанные явления чаще всего возникают при хроническом тонзиллите именно в стадии декомпенсации [5, 10].

Поэтому, подытоживая изложенное, можно сказать, что при хроническом тонзиллите идет резкое снижение клеточного и в определенной мере сохранение гуморального иммунитета. Одной из составляющих патогенеза заболевания могут быть аутоиммунные процессы о чем и свидетельствуют результаты проведенного нами исследования. Все это вместе создает благоприятные условия для развития папилломатоза миндалин.

### Выводы

1. Хронический тонзиллит в стадии декомпенсации создает благоприятные условия для развития папилломавирусной инфекции в слизистой небных миндалин за счет снижения местного клеточного иммунитета.

2. При папилломавирусной инфекции морфологические изменения обнаруживаются не только в слизистой оболочке непосредственно над папилломой, но и в прилегающих к ней участках с размерами равными высоте самой папилломы, что нужно учитывать при объеме оперативного вмешательства при хирургическом лечении папиллом небных миндалин.

Таблица 1

**Уровень и соотношение показателей апоптоза и некроза в лимфоцитах и нейтрофилах гомогената небных миндалин больной с хроническим тонзиллитом, осложненным папилломой миндалин**

Показатели					
AN (%)		PI (%)		AN/PI	AN/PI
L	N	L	N	L	N
15,7	14,9	1,08	16,18	14,54	0,92
Примечание: L – лимфоциты; N – нейтрофилы					

Таблица 2

**Количественный и относительный уровень субпопуляций лимфоцитов у больной хроническим тонзиллитом, осложненным папилломой миндалин**

Ткань и степень компенсации	Субпопуляции лимфоцитов				
	CD3	CD4	CD8	CD16	CD19
Норма для данного прибора (в %)	61-85	35-55	19-35	12-17	7-17
Полученные результаты (в %)	16,2	10,1	7,3	7,8	14,3
Норма для данного прибора (в относительных величинах)	2,43-3,21	1,57-1,84	1,00	0,49-0,63	0,37-0,49
Полученные результаты (в относительных величинах)	2,21	1,38	1,00	1,06	1,95

### Библиография

1. Urazova LN, Shilova OYu, Mukhamedov MR, et al. Onkogennye virusy v patogeneze khronicheskikh zabolevaniy i raka gortani [Oncogenic viruses in the pathogenesis of chronic diseases and cancer of the larynx]. *Buletinul Academiei de Ştiinţe a Moldovei. Ştiinţe medicale*. 2007;4:341-342.
2. Yasumatsu R, Nakashima T, Kuratomi Y, et al. Serum squamous cell carcinoma antigen is a useful biologic marker in patients with inverted papillomas of the sinonasal tract. *Cancer*. 2002;94(1):152-158.
3. Zur Hausen H, de Villiers EM. Human papillomaviruses. *Ann. Rev. Microbiol.* 1994;48:427-447.
4. Zaytsev VT, Tsinzerling VA, Tsvetkov EA. Kliniko-morfologicheskaya kharakteristika papillomatoza gortani u detey [Clinico-morphological characteristics of laryngeal papillomatosis in children]. *Arkhiv patologii [Archives of Pathology]*. 2005;67(2):27-29.
5. Lowy R, Howley M. Papillomaviruses. In: Fields Virology / D. M. Knipes, P. M. Howly (eds.). Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2001;2236-2238.
6. Yashan OI, Herasymyuk MI. Apoptoz ta yogo morfologichni paraleli u khvorykh na khronichnyy tonzylit [Apoptosis is the Yogo morfologichni paraleli from ailing to khronichny tonzilit]. *Rynologia [Rinologiya]*. 2013;1:24-30.
7. Tvorko MS, Klymnyuk SI, Tkachuk NI. Osnovy imunologii (teoriya i praktyka) [Bases of immunology (theory and practice)]. Ternopil: Ukrmedknyha [Ternopil: Ukrmedkniga]. 2009.
8. Budchanov YuI. Kletochnyy immunitet. Tipy kletochnoy tsytotoksichnosti. Retseptory i markery, subpopulatsii limfotsytov [Cell-mediated immunity. Types of cellular cytotoxicity. Receptors and markers, lymphocyte subpopulations] *Uchebno-metodicheskoe posobie po obschey immunologii [Teaching aid for general immunology]*. Tver, 2008.
9. Cherniy VI, Nesterenko AN. Narusheniya immuniteta pri kriticheskikh sostoyaniyakh: osobennosti diagnostiki [Immune dysfunction in critical conditions: diagnostic features]. *Vnutrennyaya meditsina [Internal medicine]*. 2007;2(2); <http://www.mif-ua.com/archive/article/516>
10. Baryshev VV, Andreev VG, Popuchiev VV, et al. Sovremennye aspekty izucheniya respiratornogo papillomatoza. Chast I. Etiologiya, patogenez, diagnostika [Modern aspects of the study of respiratory papillomatosis. Part I. Etiology, pathogenesis, diagnostika]. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal [Siberian Journal of Oncology]*. 2009;5(35):67-72.