

УДК: 618.146-007.21-076-097

DOI: DOI: 10.24061/2413-4260. XV.3.57.2025.30

РОЛЬ ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ
У ДІАГНОСТИЦІ ДИСПЛАЗІЇ ШИЙКИ
МАТКИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Ю. Оліферук, А. Бербець

Буковинський державний медичний університет
(м. Чернівці, Україна)**Резюме.**

Дисплазія шийки матки (ДШМ) є передраковим станом, що характеризується патологічними змінами в епітеліальних клітинах. Без своєчасної діагностики та лікування ДШМ може прогресувати до інвазивного раку шийки матки (РШМ) [1]. Майже всі випадки раку шийки матки пов'язані із інфікуванням вірусом папіломи людини (ВПЛ), який передається статевим шляхом. За даними ВООЗ, рак шийки матки щорічно забирає понад 300 тисяч життів, причому більшість з них припадає на країни з низьким та середнім рівнем доходу (Індія, Нігерія, Бангладеш тощо) [2]. ВПЛ виявляється у 99% випадків раку шийки матки, зокрема підтипи ВПЛ 16 та 18, які, як вважають, викликають 70% випадків раку шийки матки [3,4]. Інтервал у 10-20 років між виникненням передракових станів шийки матки (цервікальна інтраепітеліальна неоплазія, CIN) та розвитком інвазивного раку шийки матки надає великі можливості для скринінгу, діагностики та лікування передракових захворювань. За даними ВООЗ, у 2022 році у світі було зареєстровано близько 20 мільйонів нових випадків раку та майже 10 мільйонів смертей від цього захворювання. Прогнозується, що до 2050 року кількість нових випадків раку щорічно досягне 35 мільйонів, що на 77% більше порівняно з 2022 роком [5]. В умовах воєнного часу в Україні відзначається підвищення рівня захворюваності на рак шийки матки. Постійний стрес, порушення сну та шкідливі речовини у повітрі внаслідок вибухів ослаблюють імунну систему та створюють сприятливі умови для розвитку раку шийки матки [6].

ВООЗ наголошує на важливості сучасних діагностичних методів, включаючи імуногістохімію, у глобальну стратегію боротьби з раком шийки матки. Цитологічний метод (ПАП-тест) та гістологія не завжди дозволяють дати чітку відповідь щодо ступеня дисплазії шийки матки або її прогресування. Діагностика внутрішньоепітеліальних неоплазій значною мірою залежить від суб'єктивних факторів (кваліфікація лікаря, якість зразка, технічні особливості обробки матеріалу тощо), що може призвести до помилкових інтерпретацій цитологічних і гістологічних даних [3, 7].

Роль імуногістохімії у діагностиці та оцінці ризиків прогресування дисплазії шийки матки має значний клінічний, науковий і соціальний інтерес. Використання цього методу підвищує точність діагностики, допомагає персоналізувати лікування та зменшує смертність від раку шийки матки. Імуногістохімічне дослідження клітинного білка p16INK4a (інгібітор циклінзалежної кінази 4a) дозволяє виявити вогнища пухлинного процесу, межі його розповсюдження та встановити зв'язок між його експресією та вираженістю патологічних змін епітелію. Іншим таким маркером є ядерний білок Ki-67, який експресується під час активних фаз клітинного циклу, вказуючи на клітинну проліферацію [8]. Таким чином, імуногістохімія є невід'ємною частиною сучасного підходу до діагностики та боротьби з цією патологією. У цьому огляді розглянуто та висвітлено деякі з добре вивчених біомаркерів з перспективним діагностичним потенціалом щодо передракових захворювань шийки матки.

Мета дослідження. На основі сучасних джерел медичної інформації визначити роль імуногістохімічного дослідження у діагностиці дисплазії шийки матки, а також розкрити значення імуногістохімічних маркерів (p16, Ki-67) для диференційної діагностики ступеня дисплазії та оцінки ризиків злоякісної трансформації епітелію шийки матки.

Висновки. Імуногістохімічне дослідження відіграє ключову роль у діагностиці та прогнозуванні патологій шийки матки, дозволяючи визначити ступінь дисплазії та ризики її прогресування до інвазивного раку. Маркери p16 та Ki-67 забезпечують високу чутливість та специфічність у виявленні клітинних порушень, пов'язаних із персистенцією та інтеграцією вірусу папіломи людини.

Ключові слова: дисплазія шийки матки; вірус папіломи людини; імуногістохімічне дослідження; пухлинно-супресорні білки; p16INK4a, Ki-67.

Вступ

Сучасне уявлення про розвиток раку шийки матки є результатом багатоетапного процесу пухлинної трансформації на тлі персистуючої інфекції ВПЛ. Інфікування шийки матки вірусом папіломи людини (ВПЛ) є захворюванням, що передається статевим шляхом, і фактором розвитку цервікальної внутрішньоепітеліальної неоплазії [4,9]. Такі фактори ризику, як куріння, ослаблений імунітет або ВІЛ-інфекція, ймовірно, призводять до персистенції ВПЛ-інфекції та підвищеного ризику розвитку CIN [3, 4].

Більшість ВПЛ-інфекцій є тимчасовими і усуваються завдяки імунним реакціям організму. Однак частина збудників не ліквідується, і деякі з них спри-

чиняють генітальні бородавки або/та плоскоклітинні внутрішньоепітеліальні ураження, які за умови відсутності належної діагностики та лікування, прогресують до інвазивного раку [9, 10].

Впровадження імуногістохімічних методів у діагностику є важливим кроком до покращення якості медичної допомоги. Імуногістохімія (ІГХ) відіграє важливу роль у прогнозі ризиків щодо прогресування дисплазії шийки матки завдяки здатності визначати молекулярні маркери, які можуть вказувати на високий ризик розвитку раку. Цей метод дозволяє оцінити експресію специфічних білків, що відображають ступінь атипії клітин, внаслідок вірусної інфекції (особливо ВПЛ високого онкогенного ризику), порушення регу-

ляції клітинного циклу, диференціації та схильності до злоякісної трансформації [10].

Епідеміологія.

Вірус папіломи людини (ВПЛ) є однією з найпоширеніших інфекцій, що передається статевим шляхом. ВПЛ – інфекція може виявлятися у жінок будь-якого віку, які ведуть статеве життя, проте найчастіше діагностується у молодих жінок до 30 років. Пік захворюваності припадає на вікову групу 20-24 роки [3,4]. За даними ВООЗ на 2022 р. захворюваність на рак шийки матки (РШМ) посідає 8-е місце серед усіх видів раку за кількістю нових випадків (662 301 випадок), а стандартизований за віком показник захворюваності становить 14,1 на 100 000 жінок у світі [2]. Рак шийки матки займає 9-те місце серед усіх онкологічних захворювань за кількістю смертей (348 874 випадки смерті у світі за рік), а стандартизований за віком показник смертності становить 7,1 на 100 000 жінок [2]. Про найбільшу частоту виникнення РШМ повідомляють у Східній, Південній, Центральній та Західній Африці і Меланезії, а про найменшу частоту випадків – в Австралії, Новій Зеландії та Західній Азії [4].

Етіологія та патогенез дисплазії шийки матки.

Дисплазія шийки матки – це захворювання, при якому порушується будова, диференціація та дозрівання клітин багатошарового плоского епітелію з їх вираженою проліферативною активністю. Основною цитоморфологічною ознакою папіломавірусної інфекції, що дозволяє віддиференціювати реактивні зміни від дисплазії шийки матки чи раку, є зміни у ядрах, а саме койлоцитоз клітин, який характеризується збільшеними гіперхромними ядрами, оточеними чіткою зоною світлої цитоплазми (перинуклеарна вакуоля) [3,9]. Диспластичні зміни можуть виникати як у багатошаровому плоскому епітелії піхвової частини шийки матки, так і на ділянках плоскоклітинної метаплазії у перехідній зоні, а також у каналі шийки матки.

Канцерогенез шийки матки головним чином характеризується:

- Підвищеною експресією генів Е6 і Е7 ВПЛ високого ризику, які, як відомо, зв'язуються та інактивують пухлино-супресорні білки р53 і рRb;
- Інтеграцією вірусної ДНК в геном хазяїна;
- Молекулярними змінами ключових регуляторів клітинного циклу, які можна дослідити для прогнозування можливої неоплазії за допомогою відповідних маркерів [8,11].

Відомо, що вірус папіломи людини є тропним до незрілих клітин плоского епітелію перехідної зони. Ураження починається з базальних клітин, які контактують із вірусом через мікротравми, і поступово поширюється на всю товщу плоского епітелію. Цикл реплікації вірусу нерозривно пов'язаний з епітеліальною диференціацією (тобто дозріванням кератиноцитів від низькодиференційованих до високодиференційованих) [3]. Віріони ВПЛ, що інфікують епітелій, прикріплюються до базальної клітини за допомогою тканинно-специфічних протеогліканів гепаринсульфату. Після інфікування вірусна ДНК потрапляє в клітину через ендоцитоз, скидає білкову оболонку та інтегрується у клітинне ядро. Внаслідок цього починається експе-

сія вірусних білків Е6 та Е7, які порушують регуляцію клітинного циклу, сприяючи аномальному поділу клітин та їхній трансформації [11].

У заражених клітинах вірусний геном може існувати у 2-х формах: епісомальній та інтегрованій:

- При епісомальній формі вірусна ДНК існує поза геномом клітини-господаря, як окрема молекула у вигляді кільцевої ДНК. Вона характерна для ранніх стадій інфекції (CIN 1), коли вірус ще не порушив геном клітини. Епісомальна форма потрібна для реплікації вірусу та збірки віріонів.

- Інтегрована форма: у цьому стані вірусна ДНК вбудовується у геном клітини-господаря. Інтеграція генетичного матеріалу вірусу в клітину епітелію шийки матки супроводжується синтезом онкобілків Е6 та Е7, які пригнічують функцію білків-супресорів пухлин р53 і Rb. Це сприяє порушенню клітинного циклу, що підвищує ризик злоякісної трансформації клітин [7,12].

Специфічні генетичні продукти виробляються на різних етапах розвитку плоских кератиноцитів. У поверхневих шарах епітелію активуються гени L1, L2 (які кодують білки вірусного капсиду) та Е4 (що сприяє руйнуванню цитоскелета клітини та вивільненню вірусних частинок). У процесі десквамації інфікованих клітин відбувається вивільнення дозрілих вірусних частинок, що забезпечує подальше поширення інфекції [7,11].

В останній класифікації ВООЗ застосовується бінарна система, що розмежовує плоскоклітинні внутрішньоепітеліальні ураження (SIL): низького ступеня (LSIL) та високого ступеня (HSIL). [8]. Гістологічна класифікація CIN класифікує на CIN1, CIN2 і CIN3 на основі ступеня ураження епітелію (Рисунок 1). CIN1 зазвичай не є передраком і не потребує лікування. Пацієнткам з CIN2 та CIN3 можна проводити лікування для видалення аномальних клітин, щоб запобігти їх перетворенню на інвазивний рак шийки матки [1,8].

У даний час рівень захворюваності на РШМ знизився завдяки скринінгу. Віруси 16 і 18 мають високий онкогенний потенціал, і їх вплив може спричинити приховані зміни в клітинах, які важко виявити на ранніх стадіях лише за цитологічним дослідженням. Крім того, тестування на ВПЛ є більш чутливим, ніж цитологія, для прогнозування CIN2/3, але менш специфічним [10,13]. Гістологічна діагностика біоптатів шийки матки розглядається як «золотий стандарт».

Введення дворівневої класифікації плоскоклітинних внутрішньоепітеліальних уражень (SIL) покращило відтворюваність діагностики низького та високого ступеня. Однак прагнення до більшої точності стимулювало досліджувати імуногістохімічні маркери, такі як p16 і Ki-67, що дозволяють оцінити основні механізми патогенезу та ризики прогресування передракових уражень шийки матки. Імуногістохімічне обстеження (ІГХ) є важливим доповненням до стандартних методів діагностики CIN, зокрема цитологічного та гістологічного досліджень [9,14]. Застосування молекулярно-біологічних методів дозволяє підтвердити участь онкогенних генотипів ВПЛ в процесах клітинної проліферації, ініціації дисплазії ШМ, оцінити ризик прогресії до раку шийки матки та індивідуалізувати лікування.

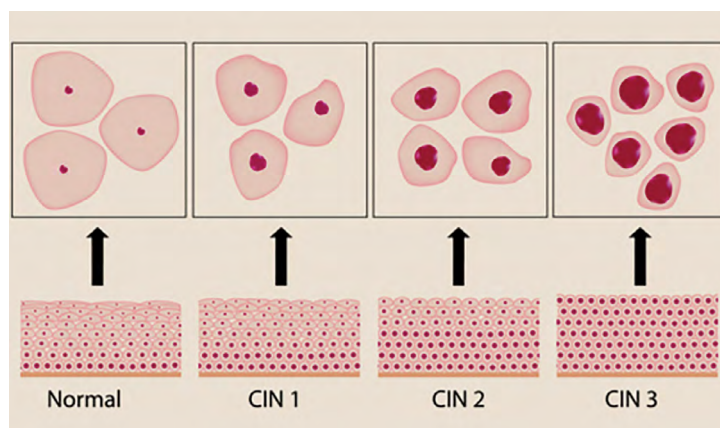


Рисунок 1. Цитопатичні зміни, які починаються з базальних клітин і поширюються на всю товщу епітелію внаслідок інфікування ВПЛ [15].

Принципи імуногістохімічного аналізу – що це і як працює.

Імуногістохімія (ІГХ) – це метод лабораторного дослідження, що використовується для виявлення специфічних антигенів у тканинах шляхом застосування антитіл, мічених флуоресцентними барвниками, ферментами або іншими маркерами. Імуногістохімія була розроблена на початку ХХ століття завдяки працям таких вчених, як Карл Грюб і Генрі Кумбс, які заклали основу використання антитіл для виявлення специфічних молекул у тканинах. Завдяки розвитку цього методу можна виявити не тільки інфекційні агенти, але й різні білки, які відіграють важливу роль у розвитку захворювань, включаючи рак. Метод полягає у здатності специфічних антитіл зв'язуватися з антигенами у тканинах (за принципом «антиген-антитіло»). Спершу відбувається з'єднання антитіла з маркером (ферментом, барвником). Потім здійснюється взаємодія міченого антитіла з антигеном у досліджуваній тканині. Ідентифікація маркера проходить за допомогою світлового, флуоресцентного або електронного мікроскопа [16]. ІГХ дозволяє виявляти онкогенні білки ВПЛ, такі як Е6 і Е7, які порушують функцію клітинних білків-супресорів (p53 і Rb), що є важливим для прогнозу розвитку дисплазії [7].

Маркер p16.

p16 (INK4a) – це білок-супресор пухлин, який відіграє ключову роль у регуляції клітинного циклу. Він є важливим маркером у діагностиці та прогнозуванні різних патологій, включаючи цервікальну внутрішньоепітеліальну неоплазію (CIN) та рак шийки матки [8,13].

P16INK4a кодується геном CDKN2A, розташованим на 9-й хромосомі. P16INK4a інгібує циклін-залежні кінрази CDK4 і CDK6, зупиняючи клітинний цикл у фазі G1 шляхом блокування переходу в S-фазу [13].

Відомо, що клітинний цикл – це послідовність процесів, які включають ріст, синтез ДНК та поділ клітин. Він складається з інтерфази, де клітина готується до поділу та мітозу, коли відбувається сам поділ. Інтерфаза включає три етапи:

- G1-фаза, клітина росте і забезпечує запас речовин;
- S-фаза, під час якої відбувається реплікація ДНК;
- G2-фаза, коли клітина завершує підготовку до поділу, перевіряючи точність реплікації ДНК та синтезуючи необхідні білки [8].

Після цього клітина переходить до мітозу (М-фази), що складається з розділення хромосом та цитокінезу – поділу цитоплазми. Завершивши цикл, клітина повертається до фази G1 або переходить у стадію спокою (G0), якщо поділ не потрібен. Циклін-залежна кінзаза – це фермент, що контролює ключові переходи між фазами клітинного циклу, забезпечуючи правильне виконання процесів, таких як реплікація ДНК і поділ клітини [7, 8].

Клітинний цикл контролюють такі білки:

- **p53** – відповідає за виявлення пошкоджень ДНК і запускає механізми репарації або апоптозу, якщо пошкодження неможливо відновити.
- **Rb**, білок ретинобластоми – зв'язується з транскрипційним фактором E2F і блокує його, тим самим зупиняючи перехід клітини з G1 у S фазу.
- **p16** – інгібує CDK4 і CDK6, не дозволяючи інактивувати білок Rb і запустити клітинний цикл [8,12].

У нормальних умовах рівень експресії p16 у клітині залишається низьким. Проте при інфікуванні ВПЛ відбувається низка змін, зокрема під впливом вірусного генетичного матеріалу активується інтенсивний синтез онкобілків. Один з них Е6, зв'язується з білком-супресором p53, що відповідальний за контроль клітинного циклу, і викликає його деградацію, що блокує механізм апоптозу, навіть якщо ДНК пошкоджена [8,12,17]. Інший онкобілок Е7, зв'язується з вищезгаданим білком Rb, «звільняючи» транскрипційний фактор E2F, що запускає неконтрольовану проліферацію клітин. Це призводить до компенсаторного підвищення рівня p16, оскільки клітина намагається відновити контроль над поділом. Але через інактивацію Rb та p53 цей механізм стає неефективним [9,12,17]. Таким чином, білок p16 контролює клітинний поділ, запобігаючи неконтрольованій проліферації.

Описані вище процеси створюють дисбаланс у регуляції клітинного циклу, що сприяє проліферації клітин та розвитку дисплазії. Виявлення підвищеного рівня p16 в тканині є важливим діагностичним інструментом, який підтверджує активну онкогенну дію вірусу [9,14].

Імуногістохімічне забарвлення протеїну p16INK4a проводиться за допомогою антитіл, спрямованих проти цього білка. Відомо, що у клітинах, інфікованих віру-

сом папіломи людини (ВПЛ), експресія p16 значно підвищується, особливо у разі дисплазії високого ступеня (CIN 3), [8,13]. Маркер p16 позитивно забарвлюється у 100% випадків CIN 2, CIN 3, ендцервікальної аденокарциноми in situ та інвазивної ендцервікальної патології. Цей спосіб обстеження має високу специфічність та чутливість. Позитивний результат імуногістохімічного дослідження характеризується інтенсивним коричневим забарвленням ядер клітин. Це свідчить про високу експресію p16, що є маркером для вірусноіндукованих змін [13]. Негативний результат, характерний для нормальних клітин, означає відсутність або низький рівень цього білка в клітинах.

Коли необхідно використовувати маркер p16:

- **Морфологічна диференціація діагнозу CIN 2 та CIN 3** у випадку, коли є складнощі в диференціації між CIN 2, CIN 3 та іншими станами, які морфологічно

можуть бути схожими, наприклад, метаплазія, атрофія, реактивні зміни тощо.

- **Диференційна діагностика між ураженнями низького та високого ступеня дисплазії:** p16 використовується для визначення, чи є зміни, пов'язані з ВПЛ, особливо коли є сумніви щодо ступеня дисплазії.

- **Невизначені результати цитології:** Якщо попередні цитологічні результати були такі, як HSIL, ASCUS (ВПЛ+), ASC-H, AGC, а при біопсії виявлено лише зміни, які відповідають CIN 1 або меншому, то використання p16 допомагає уточнити діагноз і визначити подальший план лікування [3,13,14].

Основною метою імуногістохімії p16 є допомога в диференціації між передраковими та нормальними змінами, у верифікації раку шийки матки та підтвердження наявності ВПЛ-асоційованих змін у клітинах (Рисунок 2-4).

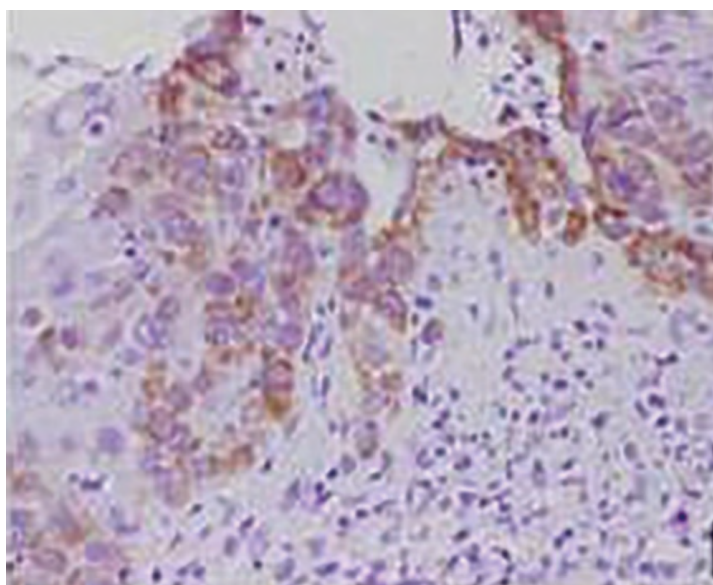


Рисунок 2. Імуногістохімічне забарвлення тканини шийки матки з використанням p16 для виявлення дисплазії середнього ступеня (HSIL, CIN 2). На ньому видно коричневе забарвлення ядер клітин, в яких підвищена концентрація даного білка [12].

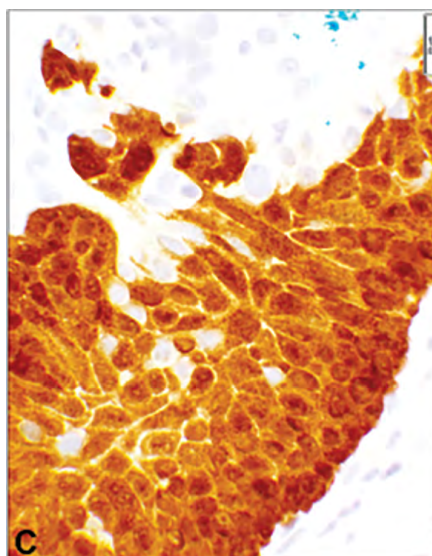


Рисунок 3. Імуногістохімічне забарвлення тканини шийки матки, що демонструє дисплазію високого ступеня (CIN 3) з позитивним забарвленням p16 (збільшення 40x)[14].

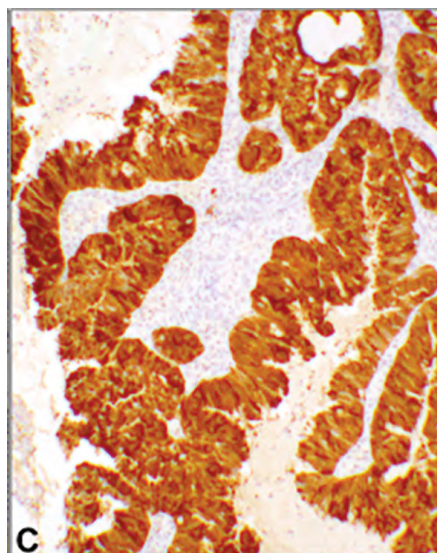


Рисунок 4. Імуногістохімічне забарвлення тканини, що демонструє інвазивну аденокарциному з позитивним забарвленням p16 (збільшення 40x)[14].

Маркер Ki-67.

Ki-67 – це ядерний білок, який служить маркером клітинної проліферації. Він експресується у клітинах, що активно діляться та є індикатором їхнього переходу через фази клітинного циклу [8,14].

Ki-67 присутній у клітинах під час усіх активних фаз поділу (G1, S, G2, M), але відсутній у стані спокою (фаза G0). Цей білок не бере безпосередньої участі у регуляції клітинного циклу, але його наявність свідчить про активний поділ клітини [7,12]. Білок Ki-67 сприяє правильній організації і конденсації хроматину в мітотичних хромосомах, забезпечуючи їхню структурну цілісність. Високий індекс Ki-67 (великий відсоток забарвлених клітин) свідчить про високий рівень проліферації, характерний для агресивних пухлин. Доброякісні утворення мають нижчий проліферативний індекс Ki-67 [12,13].

Ряд досліджень показав, що підвищена експресія Ki-67 корелює з більш високим ступенем CIN шийки матки і є високочутливим біомаркером для диференціації CIN1 і CIN2/3, але імуногістохімічне забарвлення Ki-67 варіабельне і в багатьох випадках менш специфічне, ніж p16 [8,13]. У поєднанні з іншими маркерами, такими як p16, Ki-67 допомагає визначити ступінь неоплазії (CIN 1, CIN 2, CIN 3). Вимірювання рівня Ki-67 використовується для прогнозування відповіді на терапію (наприклад, хіміотерапію чи радіотерапію) [8,12].

Виділяють наступні критерії, які описують системний підхід до оцінювання результатів імуногістохімічного (ІГХ) аналізу з використанням маркерів Ki-67 та p16 для діагностики та градації цервікальної внутрішньоепітеліальної неоплазії (CIN). Оцінювання базується на ступені забарвлення клітин у найбільш диспластичних ділянках тканини (Рисунок 5).

Критерії оцінки Ki-67 від 0 до 3 балів:

0: Відсутнє збільшення ядерного забарвлення, забарвлюються лише клітини базального шару.

1: Ядерне забарвлення поширюється до нижньої третини епітелію.

2: Забарвлення поширюється до двох третин епітелію.

3: Забарвлення поширюється на всю товщину епітелію.

Критерії оцінки p16 від 0 до 3 балів:

0: Негативне або плямисте забарвлення.

1: Дифузне забарвлення обмежене нижньою третьою епітелію.

2: Дифузне забарвлення поширюється до двох третин епітелію.

3: Дифузне забарвлення охоплює всю товщину епітелію.

Таким чином, для кожного біопсійного зразка формується кумулятивний індекс P16/Ki-67 з використанням наведеної оцінки в балах [18]. Підсумкова оцінка визначається як сума балів для маркерів p16 і Ki-67 і використовується для інтегральної оцінки ступеня патологічних змін. Ця система оцінювання дозволяє стандартизувати діагностику CIN, забезпечуючи об'єктивні дані для визначення ступеня неоплазії [17,18].

У яких випадках необхідно визначати Ki-67:

- Для визначення ступеня активної клітинної проліферації в тканинах.
- Розмежування між доброякісними, передраковими та злоякісними ураженнями, зокрема в шийці матки (CIN 1, CIN 2, CIN 3).
- Використовується як маркер для моніторингу відповіді пухлини на терапію (хіміотерапію, променеву терапію).
- У поєднанні з p16 для інтегральної оцінки патологічних змін у тканинах шийки матки [8,17,18].

Імуногістохімічні маркери p16 та Ki-67 мають свої показання до застосування, переваги та недоліки. Нижче наведена таблиця, яка підсумовує відому інформацію, що стосується цих білків.

Маркер p16 ідентифікується не тільки в диспластичних клітинах, але і в нормальних залозистих клітинах ендочервікального каналу зі плоскоклітинною метаплазією. У випадках ендочервікозу, конділоми та неоплазій інтенсивність експресії поступово посилюється від слабкої до дифузної.

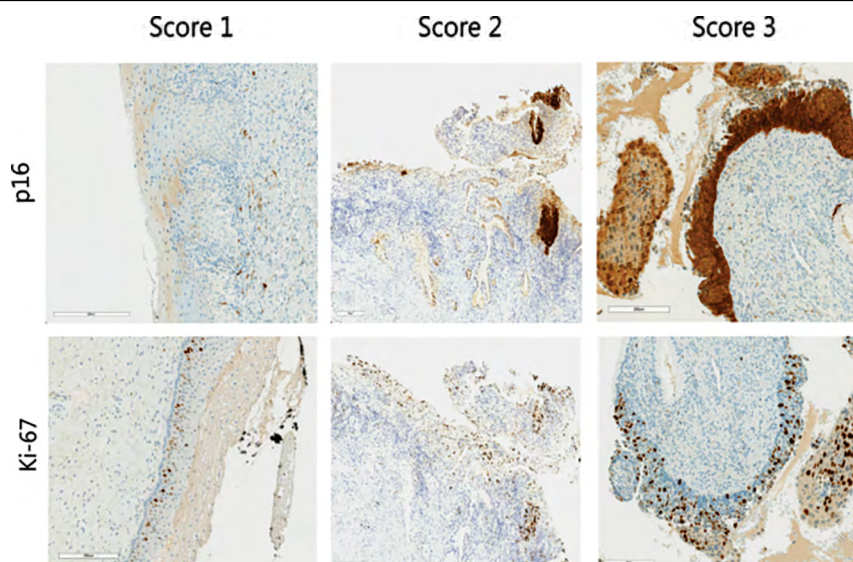


Рисунок 5. Забарвлення Ki-67 і p16 показує позитивний результат переважно в нижніх третинах епітелію (оцінка 1), що найчастіше зустрічається при CIN1. Позитивний результат у нижніх двох третинах епітелію (оцінкам 2) найчастіше зустрічається при CIN2. Позитивний результат по всій товщині епітелію (оцінка 3) найчастіше зустрічається при CIN3+ [17]

Таблиця 1

Порівняльна таблиця: p16 та Ki-67

Параметр	p16	Ki-67
Призначення	Маркер активної ВПЛ-індукованої неоплазії, який Диференціює реактивні та передракові зміни в епітелії.	Маркер клітинної проліферації, що вказує на активність поділу клітин.
Механізм дії	Білок p16 є інгібітором циклін-залежної кінрази і відіграє роль у контролі клітинного циклу.	Виявляє клітини, які перебувають у фазах G1, S, G2, і мітозу клітинного циклу. Без фази спокою.
Переваги	Висока чутливість до уражень, асоційованих з ВПЛ. Чітке дифузне забарвлення при значних патологічних змінах.	Вказує на активну проліферацію клітин. Може використовуватися для оцінки ступеня дисплазії.
Недоліки	Не завжди чутливий до ураження низького ступеня. Може давати неспецифічне забарвлення.	Не виявляє зв'язок з ВПЛ-інфекцією. Може бути активним і в непатологічних станах.
Тип забарвлення	Коричневе або червонувате дифузне забарвлення цитоплазми і ядер.	Ядерне забарвлення, що поширюється залежно від ступеня ураження. Червоне або коричневе забарвлення ядер клітин, що проліферують.
Застосування	Використовується для диференційної діагностики CIN 2/3 та станами, які морфологічно можуть бути схожими.	Використовується для визначення ступеня проліферації тканини та уточнення CIN-діагнозу.
Обмеження	Може бути неінформативним при метаплазії або інших непухлинних станах, при диференційній діагностиці метаплазії та CIN 1.	Може давати хибно-позитивні результати при реактивних процесах або запаленнях.

Імуногістохімічні дослідження показали, що реакція з антитілами до Ki-67 виявляється у всіх випадках гіперпластичних і неопластичних процесів. Зі збільшенням ступеня неоплазії кількість клітин із позитивною реакцією на цей білок значно зростає порівняно з нормою [8,13].

Таким чином, маркери проліферації p16 і Ki-67 є цінними діагностичними інструментами, що дозволяють визначати стадію вірусної інтеграції в клітини епітелію, оцінювати онкогенний потенціал і диференціювати ступінь тяжкості диспластичних змін у епітелії шийки матки. Поєднання цитологічного дослідження, тестування на ВПЛ і визначення маркерів проліферації p16 та Ki-67 є важливим для розробки своєчасної та ефективної лікувальної стратегії при дисплазії шийки матки, особливо

у жінок репродуктивного віку. Одночасне забарвлення цих маркерів в одній клітині вказує на онкогенну трансформацію в результаті інфікування ВПЛ [12,18].

Експресія p16 виявляється в 24,4% CIN1 і 87,5% CIN2/3. Маркер p16 демонструє високу чутливість (85-95%) і специфічність (80-90%) у виявленні уражень високого ступеня, таких як CIN 2 та CIN 3 [8,11]. Його експресія корелює з інтеграцією ДНК вірусу папіломи людини (ВПЛ) у геном клітини, що є важливим критерієм для визначення онкогенного ризику.

Маркер Ki-67, який є показником активної проліферації клітин, має чутливість у межах 80-90% і специфічність 70-85%. Відповідна експресія Ki-67 становила 35,6% CIN1 та 95,0% CIN2/3. Специфічність для

диференціації CIN1 і CIN2/3 становить 75,6% і 64,4%, для p16 і Ki-67 відповідно [6,9]. Ki-67 використовується для оцінки рівня клітинного поділу, що допомагає ідентифікувати патологічні процеси, зокрема неопластичні зміни.

Висновок

Імуногістохімічне дослідження відіграє ключову роль у діагностиці та прогнозуванні патологій шийки матки, дозволяючи визначити ступінь дисплазії та ри-

зики її прогресування до інвазивного раку. Маркери p16 та Ki-67 забезпечують високу чутливість та специфічність у виявленні клітинних порушень, пов'язаних із персистенцією та інтеграцією вірусу папіломи людини.

Конфлікт інтересів. Автори декларують про відсутність конфлікту інтересів.

Джерела фінансування. Стаття опублікована без будь-якої фінансової підтримки.

Література:

1. MedLinePlus. Cervical Dysplasia. National Library of Medicine [Internet]. 2024 [update 2024 Mar 31; cited 2025 Jun 8]. Available from: <https://medlineplus.gov/ency/article/001491.htm>
2. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(3):229-63. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21834>. PMID: 38572751.
3. StatPearls[Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021[update 2023 Jan 1; cited 2025 Jul 6]. Jain MA, Limaem F. Cervical intraepithelial squamous cell lesion. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559075/>.
4. European Society for Medical Oncology. What is Breast Cancer? Let us answer some of your questions. ESMO Patient Guide Series based on the ESMO Clinical Practice Guidelines [Internet]. Lugano; 2018 [cited 2025 Jul 6]. 70p. Available from: https://dam.esmo.org/image/upload/v1742457669/EN_%7C_Breast_Cancer%3A_Guide_for_Patients.pdf?utm_source=chatgpt.com
5. World Health Organization. New report on global cancer burden in 2022 by world region and human development level. IARC [Internet]. 2024 [cited 2025 Jul 2]. Available from: https://www.iarc.who.int/news-events/new-report-on-global-cancer-burden-in-2022-by-world-region-and-human-development-level/?utm_source=chatgpt.com
6. Ковальов ОО, Ковальов КО. Як наслідки війни можуть впливати на захворюваність на рак в Україні та країнах Євросоюзу [Інтернет]. 2023 [цитовано 2025 Тра 12]. Доступно: <https://health-ua.com/onkologiya-i-gematologiya/onkologiya/71485-yak-nasltdki-vjini-mozhut-vplivati-nazahvoryuvanst-narak-vukran-takranah-vros>
7. Гнатко ОП, Скурятіна НГ, Бережна ТА. Діагностичне значення маркерів проліферації у визначенні ступеня важкості пердракових станів шийки матки. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2018;1:56-61. DOI: <https://doi.org/10.11603/241164944.2018.1.8736>
8. Hosseini M S, Talayeh M, Afshar Moghaddam N, Arab M, Farzaneh F, Ashrafganjoei T. Comparison of Ki67 index and P16 expression in different grades of cervical squamous intraepithelial lesions. *Caspian J Intern Med.* 2023;14(1):69-75. DOI: <https://doi.org/10.22088/cjim.14.1.69>. PMID: 36741489; PMCID: PMC9878899.
9. StatPearls[Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021[update 2023 Aug 8; cited 2025 Jul 9]. Mello V, Sundstrom RK. Cervical intraepithelial Neoplasia. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544371/>.
10. Waghe T, Acharya N. Advancements in the Management of Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Comprehensive Review. *Cureus.* 2024;16(4): e58645. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.58645>. PMID: 38770508; PMCID: PMC11104479.
11. Onyango CG, Ogonda L, Guyah B, Shiluli C, Ganda G, Orang'o OE, et al. Novel biomarkers with promising benefits for diagnosis of cervical neoplasia: a systematic review. *Infect Agent Cancer.* 2020;15(1):68. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13027-020-00335-2>. PMID: 33292364; PMCID: PMC7670699.
12. Ghosh AMN, Padmanabha N, Kini H. Assessment of p16 and Ki67 Immunohistochemistry Expression in Squamous Intraepithelial Lesion with Cytohistomorphological Correlation. *Iran J Pathol.* 2020;15(4):268-73. DOI: <https://doi.org/10.30699/ijp.2020.112421.2208>. PMID:32944038; PMCID: PMC7477676.
13. Zhu Y, Ren C, Yang L, Zhang X, Liu L, Wang Z. Performance of p16/Ki67 immunostaining, HPV E6/E7 mRNA testing, and HPV DNA assay to detect high-grade cervical dysplasia in women with ASCUS. *BMC Cancer.* 2019;19(1):271. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5492-9>. PMID: 30917784; PMCID: PMC6437959.
14. Liou S, Nilforoushan N, Kang Y, Moatamed NA. p16 is superior to Stathmin-1 and HSP27 in identifying cervical dysplasia. *Diagn Pathol.* 2021;16(1):85. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13000-021-01144-w>. PMID: 34544445; PMCID: PMC8451080.
15. Дисплазія шийки матки. Клініка доктора Медведєва [Інтернет]. 2022 [цитовано 2025 Бер 19]. Доступно: <https://klinika.medvedev.ua/cervical-dysplasia-kdm/>
16. Кухарук ВР. Алгоритми генерування імуногістохімічних зображень / Algorithms for Immunohistochemical Images Generating [кваліфікаційна робота]. Тернопіль; 2020. 74 с.
17. Qiu S, Wang Q, Jiang H, Feng L. Immunohistochemistry staining of E6/E7 and p16/Ki-67 can help improve the management of patients with cervical intraepithelial Neoplasia after cold knife conversion. *Diagn Pathol.* 2024;19(1):97. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13000-024-01523-z>. PMID: 38992635; PMCID: PMC11238443.
18. Xing Y, Wang C, Wu J. Expression of geminin, p16, and Ki67 in cervical intraepithelial neoplasm and normal tissues. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(26): e7302. DOI: <https://doi.org/10.1097/md.0000000000007302>. PMID: 28658133; PMCID: PMC5500055.

THE ROLE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS IN THE DIAGNOSIS OF CERVICAL DYSPLASIA

Yu. Oliferuk, A. Berbets

**Bukovinian State Medical University
(Chernivtsi, Ukraine)**

Summary.

Immunohistochemical analysis is a pivotal diagnostic method for detecting precancerous lesions and cervical carcinoma by evaluating the expression of p16INK4a and Ki-67 biomarkers. The detection of these proteins in tissue samples enhances the accuracy

of differential diagnosis, enabling the distinction between reactive changes and dysplastic or neoplastic processes, thereby optimizing therapeutic decision-making.

Relevance of the topic. Cervical intraepithelial neoplasia (CIN) is a precancerous condition characterized by pathological alterations in epithelial cells. Without timely diagnosis and intervention, CIN may progress to invasive cervical carcinoma (ICC) [1]. Nearly all cervical cancer cases are associated with sexually transmitted human papillomavirus (HPV). According to the World Health Organization (WHO), cervical cancer accounts for over 300,000 deaths annually, with the majority occurring in low- and middle-income countries (e.g., India, Nigeria, Bangladesh) [2]. HPV is detectable in 99% of cervical cancer cases, with HPV subtypes 16 and 18 responsible for approximately 70% of these cases [3,4]. The interval of 10-20 years between the onset of precancerous cervical lesions (CIN) and the development of invasive carcinoma provides a critical opportunity for screening, diagnosis, and treatment of precancerous conditions. According to WHO estimates, 2022 saw approximately 20 million new cancer cases and nearly 10 million cancer-related deaths globally. Projections indicate that by 2050, the annual number of new cancer cases will rise to 35 million, reflecting a 77% increase compared to 2022 [5]. During wartime in Ukraine, an increase in cervical cancer incidence has been observed. Chronic stress, sleep disturbances, and exposure to airborne pollutants resulting from explosions may compromise immune function, creating favorable conditions for cervical carcinogenesis. The WHO underscores the importance of advanced diagnostic techniques, including immunohistochemistry, in the global strategy for cervical cancer prevention and control. Conventional cytological methods (Pap test) and histopathological examination do not always provide definitive conclusions regarding the grade of cervical intraepithelial neoplasia or its risk of progression. The diagnosis of intraepithelial neoplasia is highly dependent on subjective factors, including the physician's expertise, sample quality, and technical aspects of tissue processing, which may contribute to misinterpretation of cytological and histological findings. Immunohistochemistry plays a crucial role in the diagnosis and risk stratification of cervical dysplasia, holding substantial clinical, scientific, and societal relevance. This method improves diagnostic precision, facilitates personalized treatment strategies, and contributes to reducing cervical cancer-related mortality. Immunohistochemical analysis of the tumor suppressor protein p16INK4a (cyclin-dependent kinase inhibitor 4A) enables the identification of neoplastic foci, delineation of tumor margins, and correlation between its overexpression and the severity of epithelial abnormalities. Another key marker is the nuclear proliferation antigen Ki-67, which is expressed during active cell cycle phases (G1, S, G2, and M), serving as an indicator of cellular proliferation [8]. Thus, immunohistochemistry is an essential component of contemporary diagnostic and management protocols for cervical pathology. This review examines well-established biomarkers with proven diagnostic utility in cervical precancerous lesions.

Objective: To evaluate the role of immunohistochemical analysis in diagnosing cervical intraepithelial neoplasia, based on current medical literature, and to emphasize the diagnostic significance of immunohistochemical markers (p16 and Ki-67) in differentiating grades of dysplasia. Furthermore, this study assesses the prognostic value of these markers in predicting the risk of malignant transformation in cervical epithelial cells.

Conclusion. Immunohistochemical analysis is pivotal in the diagnosis and prognostic assessment of cervical pathologies, enabling accurate grading of dysplasia and estimation of its progression risk to invasive carcinoma. The p16 and Ki-67 biomarkers demonstrate high sensitivity and specificity in detecting cellular abnormalities associated with the persistence and integration of human papillomavirus.

Keywords: Cervical Dysplasia; Human Papillomavirus; Immunohistochemical Study; Tumour Suppressor Proteins; p16INK4a; Ki-67.

Контактна інформація:

Оліферук Юлія Сергіївна – лікар акушер-гінеколог медичного приватного центру «Панацея» (м. Чернівці, Україна)

e-mail: uliaoliferuk079@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-2770-7172>

Бербець Андрій Миколайович – доктор медичних наук, завідувач кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

e-mail: andriy.berbets@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9027-5256>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57204095952>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/D-6526-2017>

Contact Information:

Yuliia Oliferuk – Obstetrician-Gynecologist at the private medical center «Panacea». (Chernivtsi, Ukraine).

e-mail: uliaoliferuk079@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-2770-7172>

Andrii Berbets – Dr. Med. Sci, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

e-mail: andriy.berbets@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9027-5256>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57204095952>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/D-6526-2017>



Надійшло до редакції 27.03.2025 р.
Підписано до друку 25.09.2025 р.