

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 24.04.2025 / Стаття надійшла 24.04.2025 року
Accepted 14.08.2025 / Стаття прийнята до друку 14.08.2025 року

DOI 10.29254/2077-4214-2025-3-178-458-469

UDC 618.146-006.52-022.7-093/-098

Hyriavenko N. I., Lyndina Y. S., Shyrai A. M., Tsepochko D. G., Sikora K. O., Romaniuk A. M.

PATHOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CERVICAL SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL LESIONS

Sumy State University, Educational and Scientific Medical Institute (Sumy, Ukraine)

n.gyryavenko@med.sumdu.edu.ua

Squamous intraepithelial lesion (SIL) of the cervix is a precancerous condition that requires accurate diagnosis to prevent progression to invasive cancer. One practical approach to verifying such lesions is to combine morphological analysis with immunohistochemical methods, which improves diagnostic accuracy and identifies prognostically important criteria.

The study analysed cervical biopsy material obtained from 54 patients with a clinical diagnosis of dysplasia. The proteins p16 and Ki-67 were used as immunohistochemical markers. In 33 cases (61%), SIL was morphologically confirmed. Of these, 17 patients had low-grade lesions (LSIL), which mostly had negative or weakly positive p16 expression and limited Ki-67 accumulation in the lower third of the epithelium. High-grade lesions (HSIL) were recorded in 16 women, characterised by intense block expression of p16 and extensive Ki-67 labelling in 2/3 or the entire thickness of the epithelial layer. In 21 cases (39%), histological examination did not confirm the presence of SIL, indicating a risk of overdiagnosis based solely on clinical or cytological data.

The results confirm the usefulness of immunohistochemical verification as a tool for early diagnosis, lesion type differentiation, and informed clinical decision-making in the management of patients with suspected cervical dysplasia.

Key words: cervical dysplasia, immunohistochemical study, human papillomavirus (HPV), molecular-biological markers, cervical cancer.

Connection of the publication with planned research works.

This study was conducted within the framework of the planned research project of the Department of Pathological Anatomy at Sumy State University (state registration number 0119U100887) entitled "Modern perspectives on the morphogenesis of general pathological processes", as well as the research project (state registration number 0123U100111) entitled "Development of a method for diagnosing and predicting tumor progression using carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules and cyclooxygenases."

Introduction.

Squamous intraepithelial lesion (SIL, also referred to as cervical dysplasia) of cervix is a term used to describe abnormal epithelial cells identified in the cervical epithelium during biopsy examination [1, 2]. Persistent infection with human papillomavirus (HPV), particularly types 16 and 18, is the primary cause of the majority of cervical cancer (CC) cases [3]. According to the World Health Organization (WHO), cervical cancer ranks fourth among malignant neoplasms in women [4]. These rates remain significantly high, especially due to insufficient screening coverage and suboptimal vaccination rates [5].

The current classification of SIL is based on the Bethesda System (TBS), introduced in 1988, updated in 2012, and adopted by the WHO Classification of Tumors of Female Reproductive Organs [6]. This system employs a two-tiered grading of lesions used in both cytological and histological assessments of the cervix:

LSIL (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion): Corresponds histologically to cervical intraepithelial

neoplasia grade 1 (CIN I). It is most often associated with transient HPV infection, which typically resolves spontaneously in the majority of cases [7, 8].

HSIL (High-grade Squamous Intraepithelial Lesion): Encompasses CIN II and CIN III, and is more commonly linked with persistent infection by high-risk oncogenic HPV types (e.g., HPV-16, HPV-18) [9].

The higher the grade of dysplasia, the greater the risk of progression to carcinoma and the lower the likelihood of spontaneous regression [10].

SIL exhibits specific morphological and immunohistochemical features that aid in distinguishing it from other pathological processes [11]. Differential diagnosis is critical to avoid false-positive or false-negative results and to determine appropriate clinical management. A common challenge in the differential diagnosis of SIL lies in the misinterpretation of proliferative changes within the surface epithelium of the cervical transformation zone. When conventional microscopy fails to provide a definitive diagnosis, additional diagnostic modalities, particularly immunohistochemistry (IHC), are employed [12, 13].

In the diagnosis of SIL, the assessment of cyclin-dependent kinase inhibitor protein p16 expression and the proliferation marker Ki-67 is of particular importance [14]. The presence of atypical cells co-expressing both p16 and Ki-67 indicates dysregulation of the cell cycle, which contributes to more accurate identification of high-grade precancerous lesions [15].

The aim of the study.

To determine the histological and immunohistochemical characteristics (p16, Ki-67) of cervical SIL.

Object and research methods.

The study was conducted at the Department of Pathological Anatomy, Sumy State University. The clinical base included the Sumy Regional Clinical Oncology Dispensary and Verba-Medical LLC. The clinical, morphological, and immunohistochemical analyses were performed using biopsy specimens obtained from 54 patients with a clinical diagnosis of "cervical dysplasia." Data were collected from patient medical records and pathohistological reports.

Biopsy registration data were obtained from the Pathomorphological Research Center at the Department of Pathological Anatomy, Educational and Research Medical Institute, Sumy State University.

Cervical tissue samples were examined at both macroscopic and microscopic levels. Following surgery, the specimens were transferred to the Pathomorphological Research Center for macroscopic description. Tissue fragments were immediately fixed in 10% neutral buffered formalin (pH 7.0–7.2) for 24 hours, dehydrated in a graded series of ethanol, and embedded in paraffin using the carousel-type embedding apparatus "TM-4M" (Ukraine). The paraffin temperature during processing and embedding did not exceed 56°C. Strict adherence to time and temperature parameters, as well as uniformity in tissue thickness and density, was crucial for optimal embedding. Staining solutions and buffers were prepared following standard protocols. Sections 5 µm thick were cut from paraffin blocks using a rotary microtome, placed on glass slides, and stained with hematoxylin and eosin (H&E) using routine procedures. The stained sections were examined under a light microscope to assess overall morphological features.

Immunohistochemical (IHC) analysis of cervical tissue was also performed. Sections 4 µm thick were mounted on adhesive slides, followed by standard deparaffinization and rehydration using xylene and graded alcohols. Antigen retrieval was conducted in a water bath "WB-4" at 97–98°C using citrate buffer (pH 6.0). After retrieval, slides were cooled to room temperature for 30 minutes. Between steps, Tris-buffered saline (pH 7.4) was used for washing. The antigen-antibody reaction was visualized using the Ultra Vision Quanto Detection System HRP DAB Chromogen (Thermo Scientific, USA). This included blocking endogenous peroxidase activity with 3% hydrogen peroxide for 5–10 minutes, reducing nonspecific background staining using Ultra V Block, and enhancing the reaction with Primary Antibody Amplifier Quanto. Final visualization was performed with diaminobenzidine (DAB), followed by nuclear counterstaining with Mayer's hematoxylin.

Data processing was carried out using Microsoft Excel 2010 with the Attestat 12.0.5 add-in. Digital imaging and storage of stained sections were performed using the SEO Scan imaging system (Ukraine). All statistical calculations were performed using Microsoft Excel 2010 with the Attestat 12.0.5 extension.

Research results and their discussion.

In the course of this study involving patients with a clinical diagnosis of "cervical dysplasia", it was established that the age of the women ranged from 20 to 72 years, with a mean age of 35.2 years. Squamous intraepithelial lesions (SIL) were most frequently observed (46%) in the 30–40 age group (fig. 1).

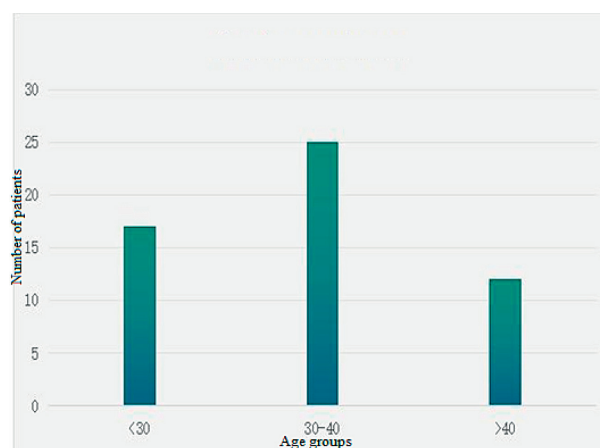


Figure 1 – Distribution of patients with SIL by age groups.

Histological examination of cervical biopsy specimens revealed that among 54 patients with clinically suspected cervical dysplasia, histological and immunohistochemical confirmation was obtained in only 33 cases (61%). Of these, low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) were diagnosed in 17 cases (52%) (fig. 2).

In 17 patients with histologically confirmed LSIL, dysplastic changes were identified in the basal layer of the squamous epithelium. These included cell proliferation, mild nuclear-to-cytoplasmic ratio alteration, hyperchromatic nuclei in the lower third of the epithelium, koilocytosis, disordered maturation, nuclear atypia, increased mitotic activity, hyperchromasia, anisocytosis, perinuclear halo formation, thickening of the cytoplasmic membrane, and the presence of binucleated or multinucleated cells (fig. 3).

To verify and classify the squamous intraepithelial lesions, immunohistochemical (IHC) analysis was performed. p16 protein expression (Clone MX007, Master Diagnostica) was negative in 6 (35%) cases and weak/indeterminate in 11 (65%) cases within the LSIL foci (fig. 4).

Ki-67 protein expression (Clone SP6, Thermo Scientific) showed positive nuclear staining in cells located in the lower third of the epithelial layer in LSIL lesions (fig. 5).

High-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) were histologically and immunohistochemically confirmed in 16 patients (48%). These lesions exhibited extension of dysplasia into the intermediate epithelial

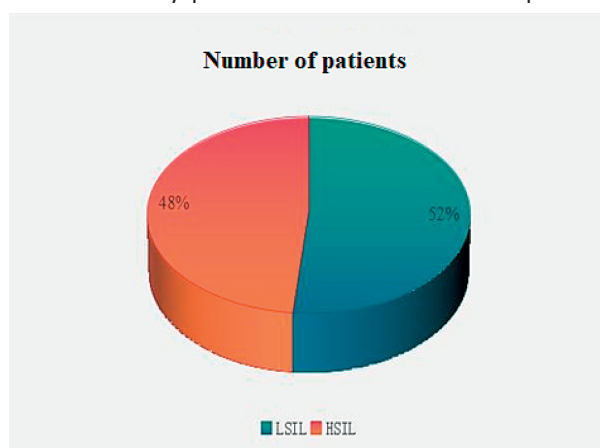


Figure 2 – Distribution of cases with the clinical diagnosis "Cervical dysplasia."

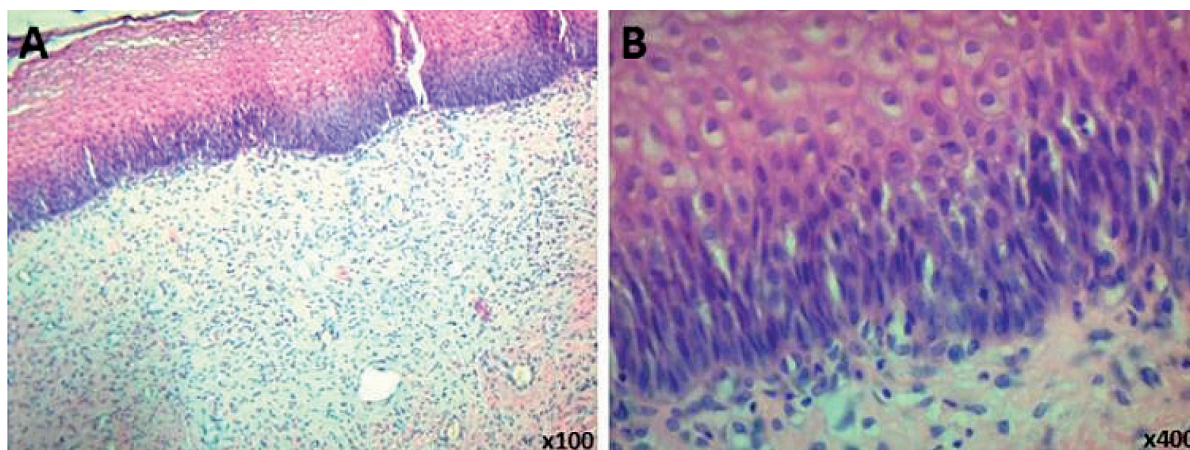


Figure 3 – Low-grade squamous intraepithelial lesion of the cervix (LSIL/CINI). Hematoxylin and eosin staining. Magnification A – $\times 100$, B – $\times 400$.

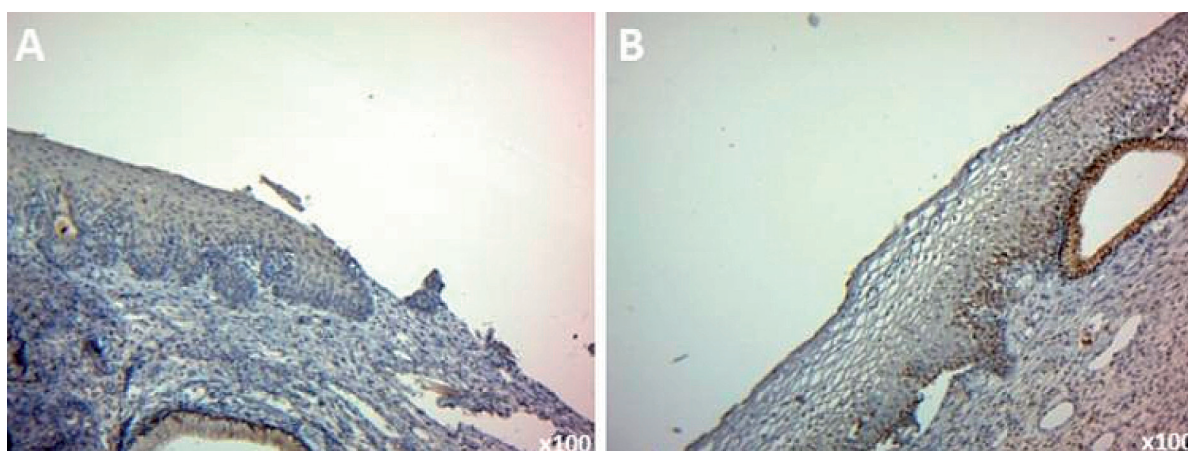


Figure 4 – Low-grade squamous intraepithelial lesion of the cervix (LSIL/CINI): A – Negative reaction in the focus of intraepithelial lesion; B – Weakly positive reaction in the focus of intraepithelial lesion. IHC study of p16 expression. Magnification: $\times 100$.

layers, with marked variability in cell and nuclear size, uneven chromatin distribution, and the presence of mitotic figures (including atypical ones) above the basal layer. In 2 cases (12%), the surface cell layer remained differentiated with isolated signs of koilocytosis, while in 14 cases (88%), the epithelial layer was affected throughout its entire thickness, showing nearly complete loss of differentiation, cell and nuclear pleomorphism, chromatin heterogeneity, disorientation of cells, and atypical mitotic figures (fig. 6).

IHC staining for p16 showed strong diffuse block-positive expression in HSIL lesions (fig. 7), while Ki-67 ex-

pression revealed nuclear positivity in 45-70% of cells involving two-thirds or the full thickness of the epithelium (fig. 8).

In 21 cases with a clinical diagnosis of cervical dysplasia, histological analysis of biopsy specimens revealed small, polygonal squamous epithelial cells with scant cytoplasm and scattered mitotic figures, but without evident polymorphism or atypia. These changes appeared suspicious but were not definitively diagnostic for SIL (fig. 9).

During immunohistochemical determination of the protein p16, we observed a negative reaction in the foci

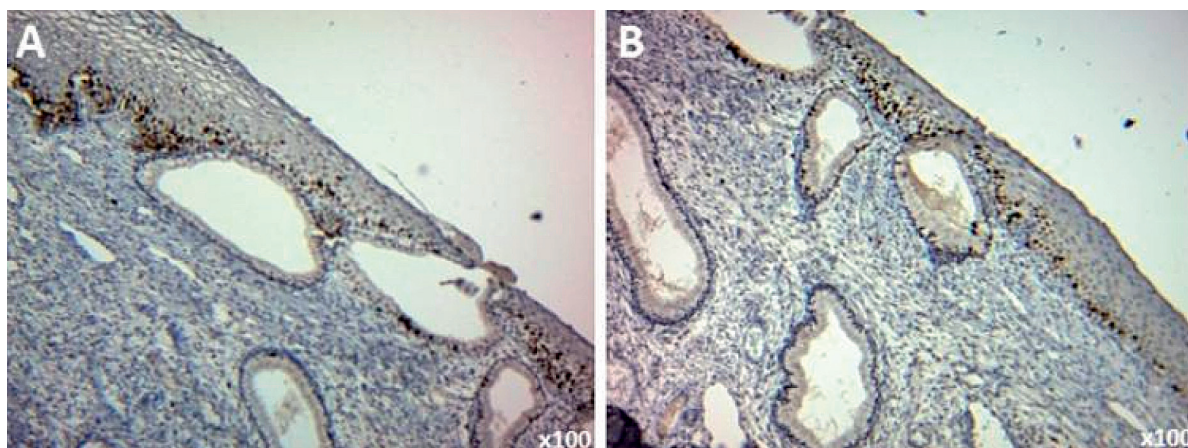


Figure 5 – Low-grade squamous intraepithelial lesion of the cervix (LSIL/CINI): A, B – Positive Ki-67 expression limited to the lower third of the epithelium. IHC study of Ki-67 expression. Magnification: $\times 100$.

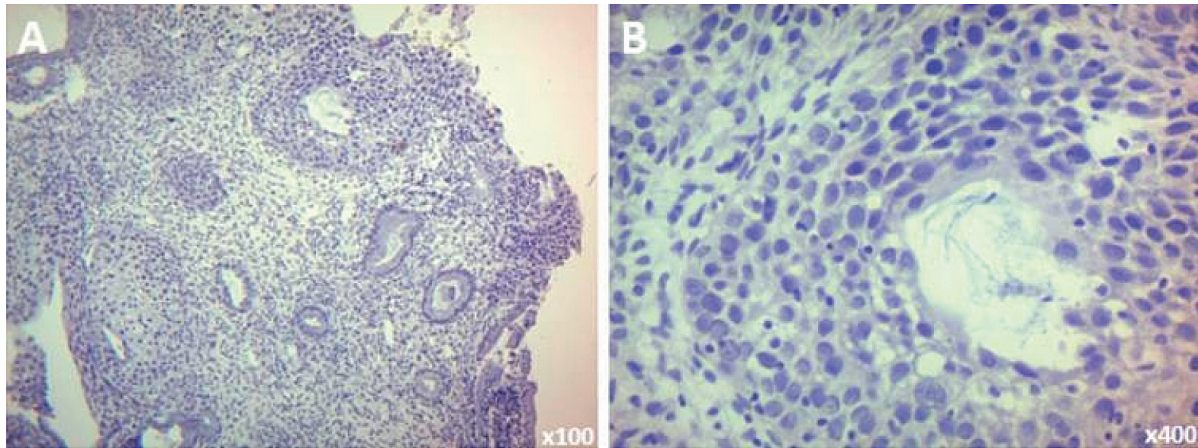


Figure 6 – High-grade squamous intraepithelial lesion of the cervix (HSIL/CINIII). Hematoxylin and eosin staining. Magnification: A – $\times 100$, B – $\times 400$.

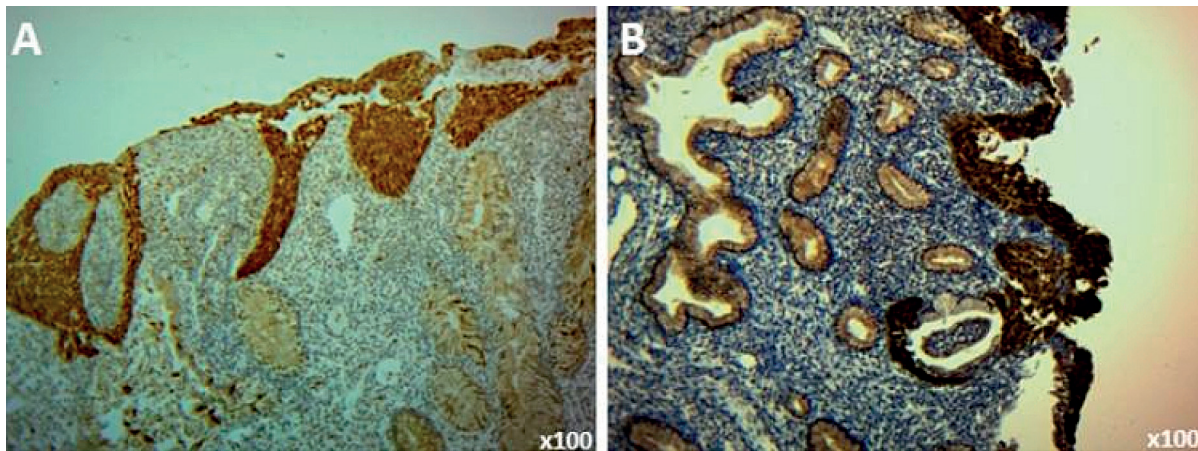


Figure 7 – High-grade squamous intraepithelial lesion of the cervix (HSIL/CINIII): A – Positive block reaction in the focus of intraepithelial lesion; B – Spreading to endocervical glands in the superficial layers. IHC study of p16 expression. Magnification: $\times 100$.

suspicious for SIL, while immunohistochemical determination of the protein Ki-67 was limited to solitary positive diffusely scattered cells (fig. 10). That is, squamous intraepithelial lesion of the cervix was not detected immunohistochemically in these cases, and these changes in the squamous epithelium correspond to immature squamous metaplasia.

Analyzing the obtained results, we established that the diagnosis of SIL was confirmed in 33 cases (61%) by histological and immunohistochemical examination. Low-grade squamous intraepithelial lesion of the cer-

vix (LSIL/CINI) was diagnosed in 17 women (52%) and was characterized by negative expression of p16 (35%) or had weakly positive or ambiguous expression of the p16 protein (65%) and positive nuclear reaction in the cells of 1/3 thickness of the epithelial layer in the focus of intraepithelial lesion. High-grade squamous intraepithelial lesion of the cervix (HSIL/CINIII) was diagnosed in 16 women (48%) and was characterized exclusively by pronounced diffuse positive block reaction of p16 in the focus of intraepithelial lesion and positive nuclear reaction in 45-70% of cells in 2/3 (3.7%) or the entire

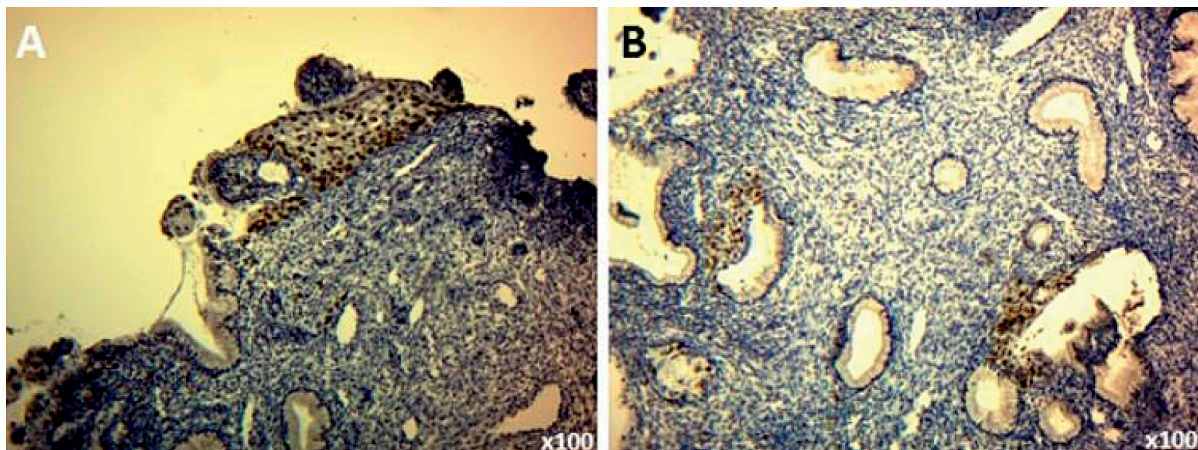


Figure 8 – High-grade squamous intraepithelial lesion of the cervix (HSIL/CINIII): A – Positive nuclear reaction in up to 65% of cells throughout the entire epithelial thickness in the focus of intraepithelial lesion; B – Spreading to endocervical glands in the superficial layers. IHC study of Ki-67 expression. Magnification: $\times 100$.

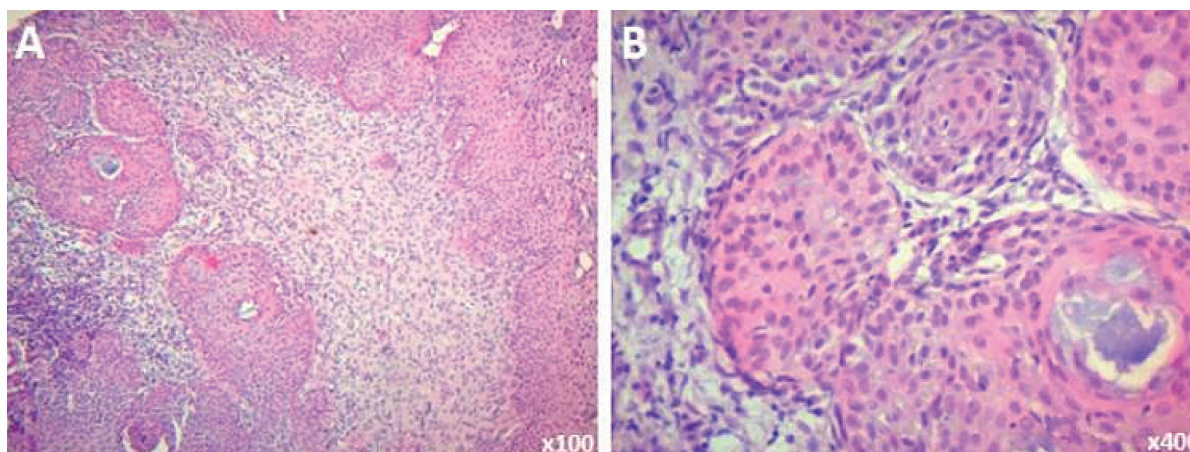


Figure 9 – Changes in the squamous epithelium of the cervix that are indeterminate for SIL. Hematoxylin and eosin staining. Magnification: A – $\times 100$, B – $\times 400$.

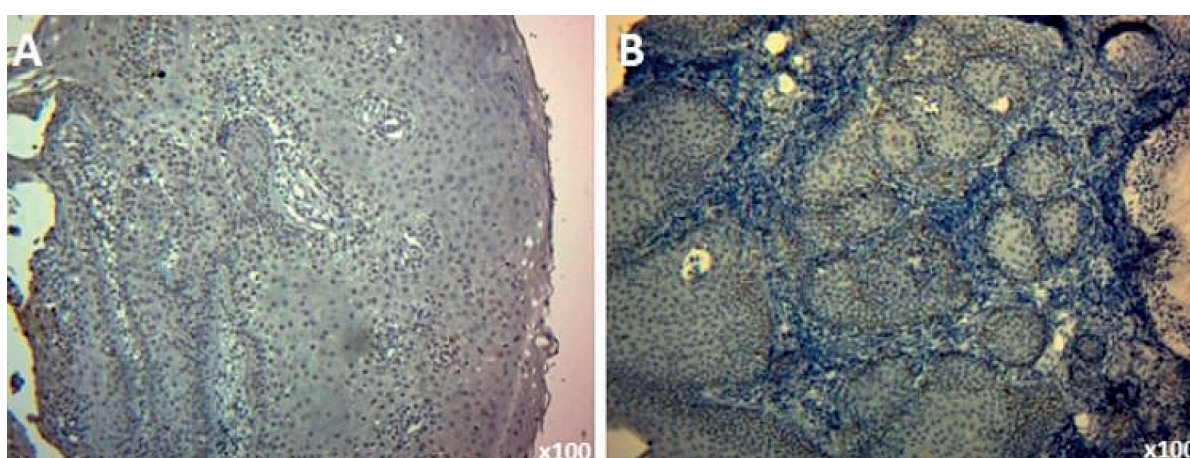


Figure 10 – Immature squamous metaplasia: A – Negative reaction in a focus suspicious for intraepithelial lesion. IHC study of p16 expression; B – Solitary positive diffusely scattered cells. IHC study of Ki-67 expression. Magnification: $\times 100$.

thickness of the epithelial layer (25.9%) in the focus of intraepithelial lesion. 21 case (39%) of morphologically unconfirmed clinical diagnosis of SIL shows the necessity of mandatory immunohistochemical verification to prevent inadequate treatment of women. The presence of squamous metaplasia in patients represents an area of high risk for HPV infection and HPV-associated carcinogenesis, thereby constituting a hotspot for the development of squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinoma [16]. At the same time, it is a physiological condition and should not be regarded as a direct precursor of cancer. Colposcopy may not always adequately identify squamous metaplasia and can sometimes mimic SIL, particularly its immature form [17, 18]. Immunohistochemical assessment with p16 expression analysis is an important diagnostic tool for detecting HPV-associated neoplastic conditions and for avoiding overdiagnosis. This importance is supported both by our findings and by studies of other authors [18-20]. The appropriate use of additional specific biomarkers is crucial for improving diagnostic accuracy. Furthermore, these recommenda-

tions should be implemented in gynecological practice to ensure optimal patient surveillance.

Conclusions.

The study of morphological and immunohistochemical characteristics of cervical squamous intraepithelial lesions is of significant importance, as it offers new opportunities for improving early diagnosis, identifying high-risk patient groups, and achieving more accurate grading of pathological processes. Immunohistochemical analysis can serve as a valuable tool in differential diagnosis and early stratification of disease severity, which in turn may not only enhance the effectiveness of preventive strategies but also help optimize patient management approaches. Ultimately, this can contribute to reducing the incidence and mortality of cervical cancer among women.

Prospects for further research.

To investigate additional immunohistochemical markers with the aim of applying them in the differential diagnosis of conditions that require distinction from SIL.

**ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЛОСКОКЛІТИННИХ
ІНТРАЕПІТЕЛІАЛЬНИХ УРАЖЕНЬ ШИЙКИ МАТКИ**

Сумський державний університет, Навчально-науковий медичний інститут (м. Суми, Україна)

n.gyryavenko@med.sumdu.edu.ua

Плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження шийки матки (SIL) є передраковим процесом, який потребує чіткої діагностики для попередження прогресування до інвазивного раку. Одним із ефективних підходів до верифікації таких уражень є поєднання морфологічного аналізу з імуногістохімічними методами, що дозволяє підвищити точність діагностики та визначити прогностично важливі критерії.

У межах дослідження було проаналізовано біопсійний матеріал шийки матки, отриманий від 54 пацієнток з клінічним діагнозом дисплазії. В якості імуногістохімічних маркерів використовували білки p16 та Ki-67. У 33 випадках (61%) SIL був морфологічно підтверджений. Із них у 17 пацієнток виявлено ураження низького ступеня (LSIL), що здебільшого мали негативну або слабо позитивну експресію p16 і обмежене накопичення Ki-67 в нижній третині епітелію. Високоступеневе ураження (HSIL) зафіксовано у 16 жінок, яке характеризувалося інтенсивною блочною експресією p16 та розширеним маркуванням Ki-67 у 2/3 або всій товщі епітеліального шару. У 21 випадку (39%) гістологічне дослідження не підтвердило наявності SIL, що свідчить про ризик гіпердіагностики за результатами лише клінічних або цитологічних даних.

Отримані результати підтверджують доцільність імуногістохімічної верифікації як інструменту ранньої діагностики, диференціації типу ураження та прийняття обґрунтованих клінічних рішень при веденні пацієнток із підозрою на диспластичні процеси шийки матки.

Ключові слова: дисплазія шийки матки, імуногістохімічне дослідження, вірус папіломи людини, молекулярно-біологічні маркери, рак шийки матки.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота виконана у рамках планової наукової теми кафедри патологічної анатомії СумДУ (номер державної реєстрації 0119U100887) «Сучасні погляди на морфогенез загальнопатологічних процесів» та науково-дослідної роботи (номер державної реєстрації 0123U100111) «Розробка методу діагностики та прогнозування перебігу пухлин з використанням молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену та циклооксигенази».

Вступ.

Плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження шийки матки (squamous intraepithelial lesion, SIL, дисплазія шийки матки) – термін, який використовують для опису аномальних клітин, які виявляються у епітелії шийки матки (ШМ) під час біопсійного дослідження [1, 2]. Тривала персистенція папіломавірусної інфекції (ВПЛ), в основному вірусів 16 і 18 типу, є причиною більшості випадків раку шийки матки (РШМ) [3]. За даними ВООЗ, він займає четверте місце серед злоякісних новоутворень у жінок [4]. Ці показники є достатньо високими, особливо через недостатній рівень скринінгу та вакцинації [5].

Сучасна класифікація плоскоклітинних інтраепітеліальних уражень базується на термінології Bethesda System (TBS), яка була запропонована у 1988 році, оновлена в 2012 році та прийнята Всесвітньою класифікацією пухлин жіночих статевих органів [6]. Ця система передбачає дворівневий поділ уражень, що використовується при цитологічному та гістологічному дослідженні ШМ:

LSIL (Low-grade squamous intraepithelial lesion) – плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження низького ступеня. Гістологічно відповідає CIN I (цервікальна інтраепітеліальна неоплазія 1 ступеня). Найчастіше асо-

ціюється з транзитною (тимчасовою) ВПЛ-інфекцією, яка в більшості випадків регресує самостійно [7, 8].

HSIL (High-grade squamous intraepithelial lesion) – плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження високого ступеня. Об'єднує CIN II і CIN III (цервікальну інтраепітеліальну неоплазію 2–3 ступеня). Частіше асоціюється з персистуючою ВПЛ-інфекцією високого онкогенного ризику (ВПЛ-16, 18 та ін.) [9].

Чим вищий ступінь дисплазії, тим більша ймовірність її прогресування до карциноми і тим менша ймовірність повернення до норми [10].

SIL має певні морфологічні та імуногістохімічні особливості, які допомагають відрізнити її від інших патологічних процесів [11]. Диференційна діагностика важлива для уникнення хибнопозитивних або хибно-негативних діагнозів та вибору правильної тактики лікування. Іноді проблемою в диференціальній діагностиці SIL є неадекватна інтерпретація проліферативних змін у поверхневому епітелії зони трансформації шийки матки. У випадку, коли мікроскопія не дає достатньої відповіді використовують додаткові методики дослідження, а саме імуногістохімічне дослідження (ІГХ) [12, 13]. У діагностиці SIL важливе значення надається дослідженню експресії інгібітору циклінзалежної кінази протеїну p16 та показника проліферації Ki-67 [14]. Атипові клітини, які одночасно експресують білок p16 та маркер проліферації Ki-67, вказують на порушення регуляції клітинного циклу. Їхнє виявлення забезпечує більш точну діагностику онкопатології високого ступеня тяжкості [15].

Мета дослідження.

Визначити гістологічні та імуногістохімічні особливості (p16, Ki-67) SIL шийки матки.

Об'єкт і методи дослідження.

Робота виконана в Сумському державному університеті на кафедрі патологічної анатомії. Клінічною базою слугував Сумський обласний клінічний онколо-

гічний диспансер та ТОВ Верба-медікал. Основу клініко-морфологічного та імуногістохімічного дослідження роботи склав біопсійний матеріал, отриманий від 54 пацієнти з клінічним діагнозом «Дисплазія шийки матки». Вивчалися дані з історій хвороб та дані з патогістологічних заключень.

У роботі використані дані журналів реєстрації результатів біопсій Наукового центру патоморфологічних досліджень кафедри патологічної анатомії НН МІ Сумського державного університету.

Проводили дослідження тканини шийки матки на макроскопічному та мікроскопічному рівні. Після операції матеріал був направлений в Науковий центр патоморфологічних досліджень, де відбувався макроскопічний опис. Шматочки тканини негайно фіксували в 10%-му нейтральному забуференому (рН=7,0-7,2) розчині формаліну протягом 24 годин з наступним зневодненням у спиртах зростаючих концентрацій заливанням у парафін в апараті карусельного типу «ТМ-4М» (Україна). Температура парафіну при проводці і заливці не перевищувала 56°C. Важливою умовою успішної заливки матеріалу було дотримання часових та температурних параметрів. Крім того, ми прагнули до того, щоб одночасно заливати однакові за товщиною і щільністю шматочки тканини. Приготування барвників, буферних розчинів і забарвлення препаратів проводили за загальноприйнятими методиками. З парафінових блоків на ротаційному мікротомі готували зрізи завтовшки 5 мкм, які розміщували на предметне скло і забарвлювали розчинами гематоксиліну та еозину за стандартною методикою. Під світловим мікроскопом зрізи досліджували для виявлення загальної морфологічної картини.

Проводили імуногістохімічне дослідження тканини шийки матки. На адгезивні скельця розміщували зрізи товщиною 4 мкм, виготовлені з парафінових блоків, які підлягали стандартній депарафінізації та зневодненню у ксилолі та спиртах зростаючих концентрацій. Демаскування антигенів проводили у водяній бані «ВБ-4» при температурі 97-98°C. Для демаскування використовували цитратний (рН 6,0) буфер. Після цього етапу посудину зі скельцями охолоджували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Між етапами ІГХ використовували промивний буфер (трис-сольовий буфер з рН 7,4). Реакцію антиген-антитіло візуалізували з використанням системи детекції «Ultra Vision Quanto Detection System HRP DAB Chromogen» (Thermo scientific), США, яка включала блокування ендогенної активності пероксидази перекисем водню (обробляли зрізи водним розчином 3% перекису водню протягом 5-10 хвилин), блокування неспецифічного фонових фарбування з використанням «Ultra V block», посилення реакції «Primary Antibody Amplifier Quanto». Кінцеву візуалізацію проводили діамінобензидином (ДАБ) з дофарбовуванням ядер гематоксиліном Маєра.

Обробка даних проводилася за допомогою програми Microsoft Excel 2010 з додатком Attestat 12.0.5. Отримання та зберігання знімків препаратів проводили за допомогою цифрової системи виведення зображення «SEO Scan» (Україна). Математичні розрахунки проводили за допомогою програми Microsoft Excel 2010 з додатком Attestat 12.0.5.

Результати дослідження та їх обговорення.

У результаті досліджень пацієнток з клінічним діагнозом «Дисплазія шийки матки», ми встановили, що вік жінок коливається від 20 до 72 років (середній вік

– 35,2 року). Частіше (46%) SIL спостерігався у віковій групі 30-40 років (рис. 1).

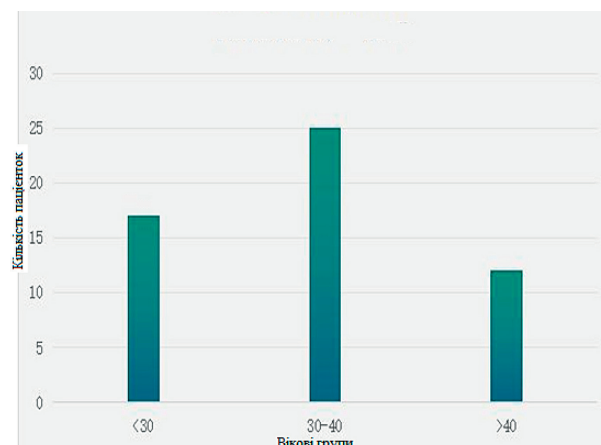


Рисунок 1 – Розподіл пацієнток з SIL за віковими групами.

Під час гістологічного дослідження біопсійного матеріалу шийки матки ми встановили, що серед 54 пацієнток із клінічним запідозреним діагнозом «Дисплазія шийки матки» гістологічне та імуногістохімічне підтвердження було отримано лише у 33 (61%) випадках. При цьому LSIL було діагностовано у 17 (52%) випадках (рис. 2).

При гістологічному дослідженні тканини шийки матки у 17 пацієнток в епітелії були виявлені наявні диспластичні зміни у базальному шарі плоского епітелію у вигляді проліферації клітин з нерізким порушенням ядерно-цитоплазматичного співвідношення, гіперхромними ядрами клітин в нижній третині епітелію, койлоцитозом, порушення дозрівання клітин, ядерна атипія, і підвищення мітотичної активності шийки матки, гіперхромазія, анізоцитоз, перинуклеарне гало, потовщення цитоплазматичної мембрани, утворення дво- та багатоядерних клітин (рис. 3).

Для верифікації плоскоклітинного інтраепітеліального ураження та визначення його типу було проведено ІГХ. Імуногістохімічне визначення білка p16 (Clone MX007, Master Diagnostica) у 6 (35%) випадках виявило негативну реакцію у вогнищі інтраепітеліального ураження та у 11 (65%) випадках – слабку і неоднозначну реакцію (рис. 4).

Імуногістохімічне визначення білка Ki-67 (Clone SP6, Thermo Scientific) виявило позитивну ядерну ре-



Рисунок 2 – Розподіл випадків з клінічним діагнозом «Дисплазія шийки матки».

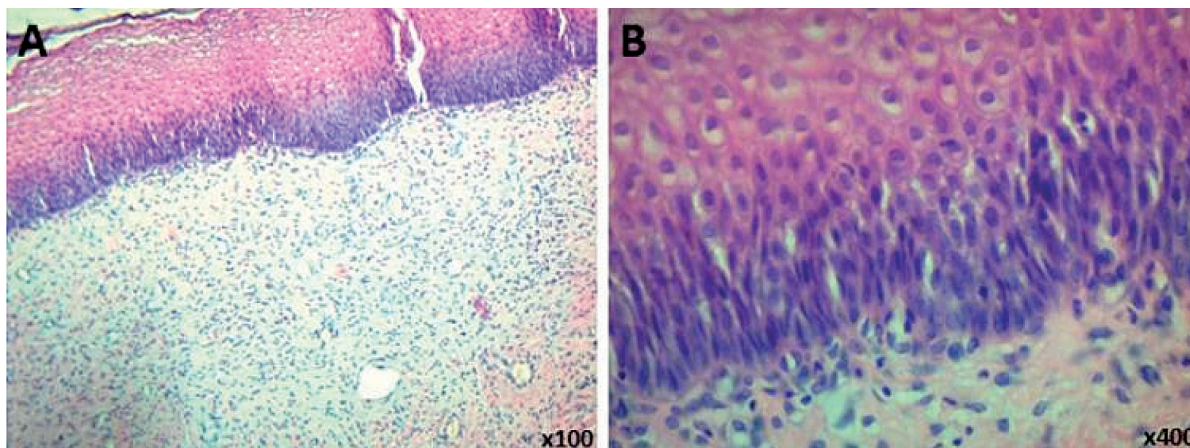


Рисунок 3 – Плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження шийки матки низького ступеня (LSIL/CINI). Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36.: А – x100, В – x400.

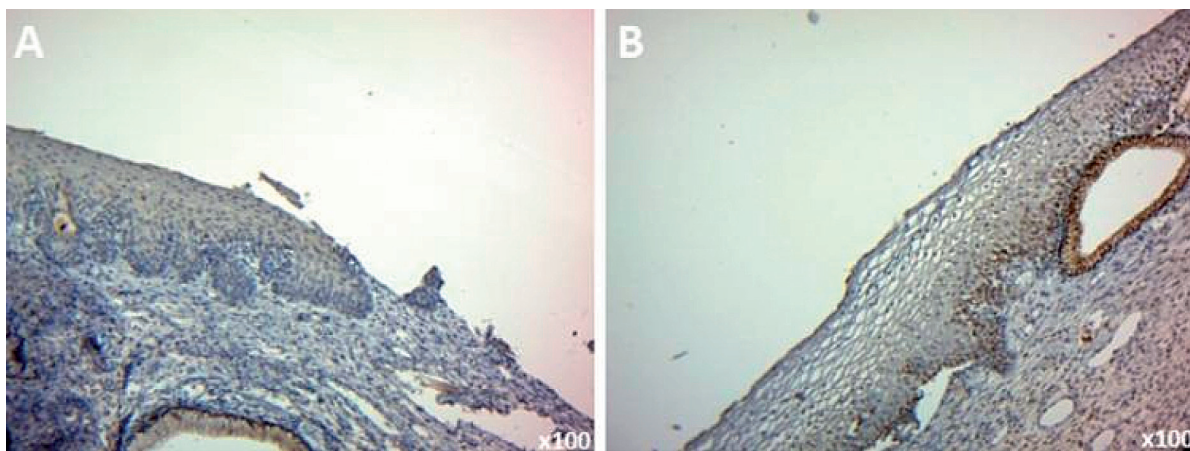


Рисунок 4 – Плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження шийки матки низького ступеня (LSIL/CINI): А – негативна реакція у вогнищі інтраепітеліального ураження; В – слабо позитивна реакція у вогнищі інтраепітеліального ураження. ІГХ дослідження експресії p16. 36.: x100.

акцію у клітинах 1/3 товщі епітеліального пласта у вогнищі інтраепітеліального ураження (рис. 5).

У 16 (48%) пацієнток при гістологічному дослідженні було запідозрено та імуногістохімічно підтверджено HSIL. При цьому ознаки дисплазії поширювалися на проміжний епітелій (відмічалися варіабельність розмірів клітин і ядер, неоднорідний розподіл хроматину і наявність фігур мітозу, іноді атипових (над базальним шаром, що проходить у проміжний шар). У 2 випадках (12%) поверхневий шар клітин залишався диференційованим, із поодинокими ознаками койлоцитозу, а у 14 випадках (88%) враження епітелію спостерігалось

у всій товщі епітеліального пласта та характеризувався майже повним порушенням диференціації, зміною розмірів клітин і ядер, гетерогенністю хроматину, порушенням орієнтації клітин й атиповими фігурами мітозу (рис. 6).

Імуногістохімічне визначення білка p16 показало виражену дифузну позитивну блочну реакцію у вогнищі інтраепітеліального ураження (рис. 7), а імуногістохімічне визначення білка Ki-67 – позитивну ядерну реакцію до 45-70% клітин у 2/3 або у всій товщі епітеліального пласта вогнища інтраепітеліального ураження (рис. 8).

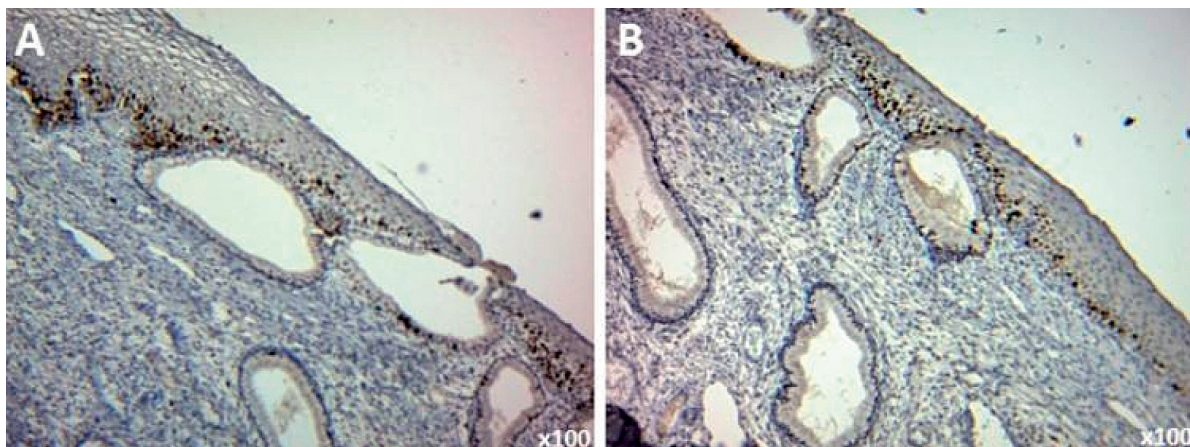


Рисунок 5 – Плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження шийки матки низького ступеня (LSIL/CINI): А, В, – позитивна експресія Ki-67 поширюється на нижню третину епітелію. ІГХ дослідження експресії Ki-67. 36.: x100.

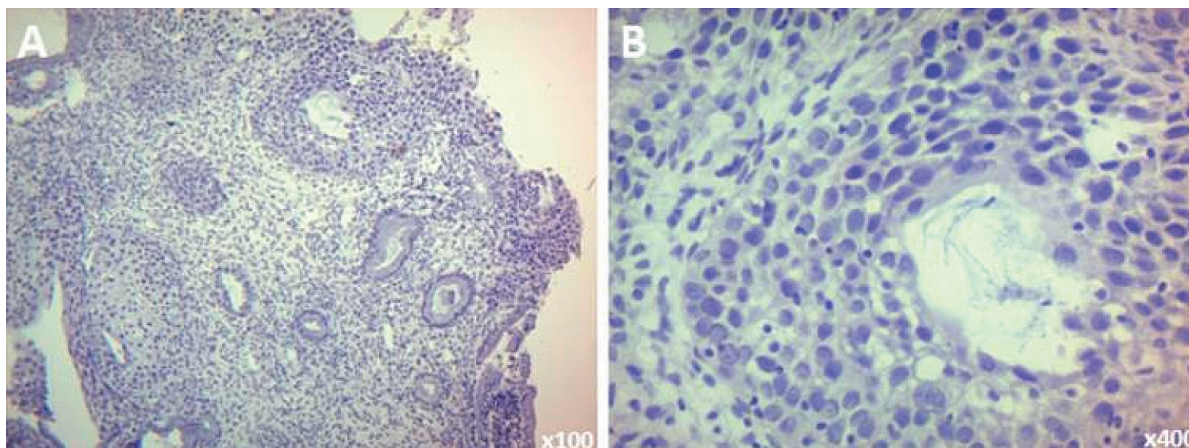


Рисунок 6 – Плоскоклетинне інтраепітеліальне ураження шийки матки високого ступеня (HSIL/CINIII). Забарвлення гематоксиліном та еозином. 36.: А – x100, В – x400.

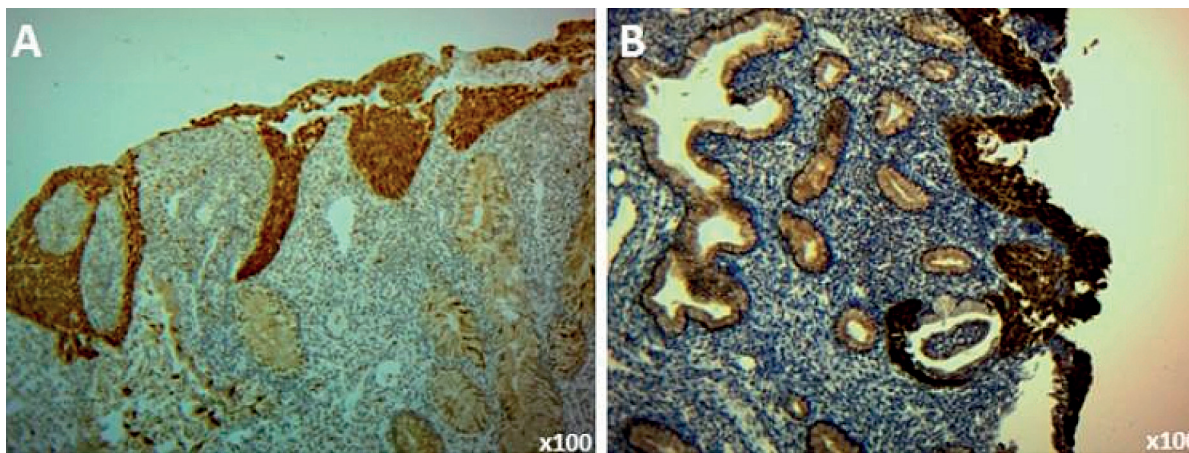


Рисунок 7 – Плоскоклетинне інтраепітеліальне ураження шийки матки високого ступеня (HSIL/CINIII): А – позитивна блочна реакція у вогнищі інтраепітеліального ураження; В – розповсюдження по ендцервікальним залозам в поверхневих відділах. ІГХ дослідження експресії p16. 36.: x100.

У 21 випадку пацієнток з клінічним діагнозом «Дисплазія шийки матки» при гістологічному дослідженні біопсійного матеріалу ми побачили, що клітини плоского епітелію були більш дрібні, не містили глікогену, склалися з полігональних клітин з мізерною цитоплазмою, з наявними поодинокими фігурами мітозу, проте явища поліморфізму та атипії були відсутні. Ці зміни були підозрілими, але невизначеними щодо SIL (рис. 9).

При проведенні імуногістохімічного визначення білка p16 ми спостерігали негативну реакцію у підозрілих щодо SIL вогнищах, а імуногістохімічне визначення білка Ki-67 обмежувалося поодинокими позитивними дифузно розсіяними клітинами (рис. 10). Тобто, плоскоклетинного інтраепітеліального ураження шийки матки в межах цих випадків імуногістохімічно не виявлено та ці зміни в плоскому епітелії відповідають незрілій плоскоклетинній метаплазії.

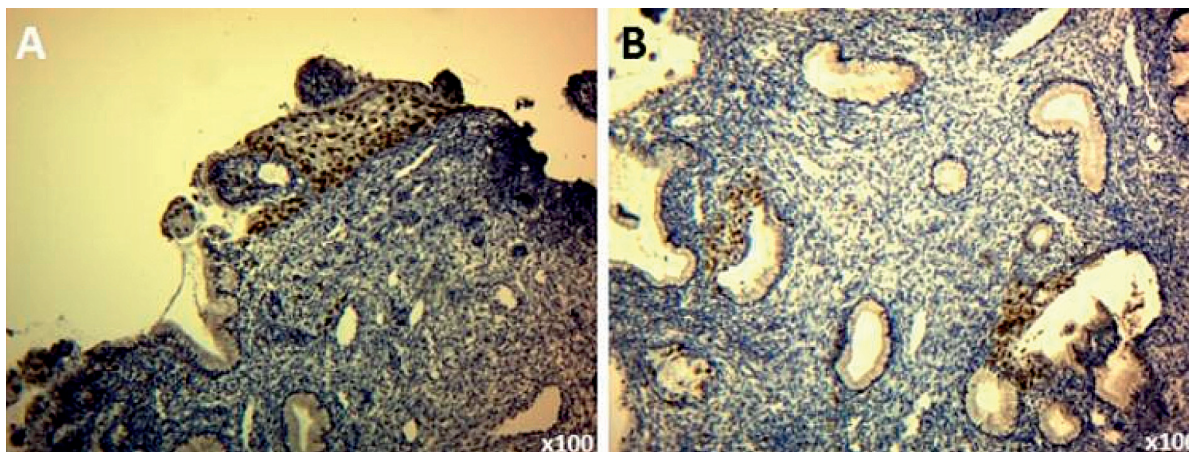


Рисунок 8 – Плоскоклетинне інтраепітеліальне ураження шийки матки високого ступеня (HSIL/CINIII): А – позитивна ядерна реакція до 65% клітин у всій товщі епітеліального пласта у вогнищі інтраепітеліального ураження; В – розповсюдження по ендцервікальним залозам в поверхневих відділах. ІГХ дослідження експресії Ki-67. 36.: x100.

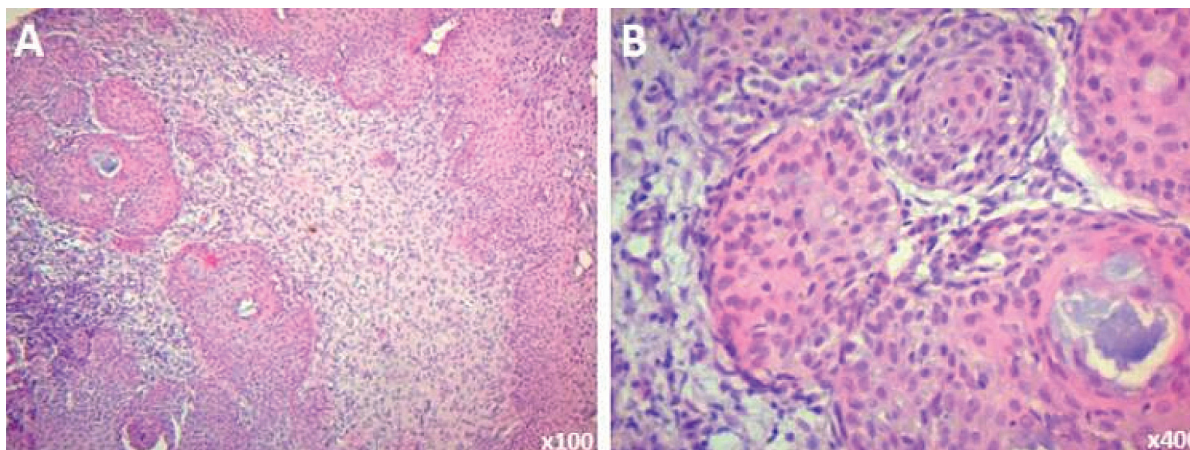


Рисунок 9 – Зміни в плоскому епітелії шийки матки, що є невизначеними щодо SIL. Забарвлення гематоксилином та еозиним. 36.: А – x100, В – x400.

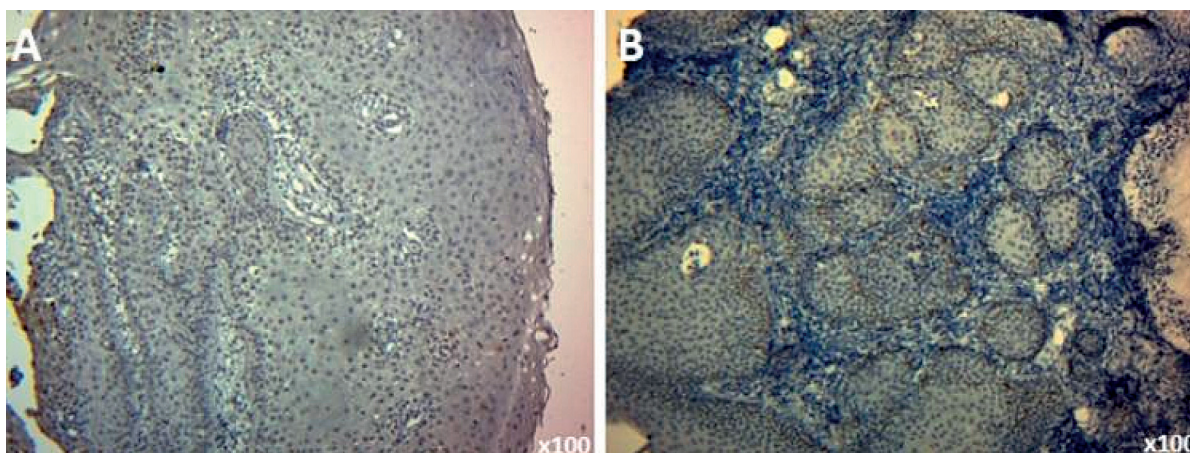


Рисунок 10 – Незріла плоскоклітинна метаплазія: А – негативна реакція у підозрілому щодо інтраепітеліального ураження вогнищі. ІГХ дослідження експресії p16; В – поодинокі позитивні дифузно розсіяні клітини. ІГХ дослідження експресії Ki-67. 36.: x100.

Аналізуючи отримані результати нами встановлено, що діагноз SIL при гістологічному та імуногістохімічному дослідженні був підтверджений у 33 випадках (61%). Плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження шийки матки низького ступеня (LSIL/CINI) було діагностовано у 17 жінок (52%) та характеризувалося негативною експресією p16 (35%) або мали слабо позитивну чи неоднозначну експресію білка p16 (65%) та позитивну ядерну реакцію у клітинах 1/3 товщі епітеліального пласта у вогнищі інтраепітеліального ураження. Плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження шийки матки високого ступеня (HSIL/CINIII) було діагностовано у 16 жінок (48%) та характеризувалося виключно вираженою дифузною позитивною блочною реакцією p16 у вогнищі інтраепітеліального ураження та позитивною ядерною реакцією до 45-70% клітин у 2/3 (3,7%) або у всій товщі епітеліального пласта (25,9%) у вогнищі інтраепітеліального ураження. 21 випадок (39%) морфологічно непідтвердженого клінічного діагнозу SIL показує необхідність обов'язкової імуногістохімічної верифікації для попередження неадекватного лікування жінок. Наявність плоскоклітинної метаплазії у пацієнток є ділянкою високого ризику для інфекції ВПЛ та пов'язаного з нею канцерогенезу, і таким чином становить гарячу точку для розвитку плоскоклітинного внутрішньоепітеліального ураження та плоскоклітинного раку [16]. Водночас вона є фізіологічним станом і не виступає безпосереднім попередником раку. Кольпоскопія може не завжди адекватно ідентифікувати плоскоклітинну метаплазію, іноді імітуючи SIL, зокре-

ма її незрілу форму [17, 18]. Імуногістохімічне дослідження з визначенням p16 є важливим діагностичним інструментом для виявлення неопластичних станів, асоційованих із ВПЛ, та дозволяє уникнути гіпердіагностики. Це підтверджується як результатами наших досліджень, так і даними інших авторів [18-20]. Додаткове застосування специфічних біомаркерів має принципове значення для підвищення точності діагностики. Крім того, необхідно впровадити ці рекомендації у практичну діяльність гінекологів з метою забезпечення оптимального нагляду за пацієнтками.

Висновки.

Дослідження морфологічних та імуногістохімічних особливостей плоскоклітинних інтраепітеліальних уражень шийки матки є досить важливим, оскільки відкриває нові можливості для вдосконалення ранньої діагностики, визначення груп підвищеного ризику, а також точнішої градації патологічного процесу. Імуногістохімічне дослідження може слугувати в диференційній діагностиці та ранньому визначенні градації захворюваності, що в свою чергу допоможе, не лише підвищити ефективність профілактичних заходів, а й оптимізувати тактику ведення пацієнток. Як наслідок, це сприятиме зниженню захворюваності та смертності від раку шийки матки серед жінок.

Перспективи подальших досліджень.

Вивчити імуногістохімічні маркери, з метою їх використання для диференційної діагностики станів, які потребують розмежування від SIL.

References / Література

1. Crum CP, Nucci MR, Lee KR, editors. Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier; 2018. Chapter, Cervical squamous neoplasia. p. 298–374. DOI: [10.1016/B978-1-4377-0764-9.00013-5](https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-0764-9.00013-5).
2. Adiga D, Eswaran S, Pandey D, Sharan K, Kabekkodu SP. Molecular landscape of recurrent cervical cancer. Crit Rev Oncol Hematol. 2021;157:103178. DOI: [10.1016/j.critrevonc.2020.103178](https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2020.103178).
3. Ghosh S, Jayaram P, Kabekkodu SP, Satyamoorthy K. Targeted drug delivery in cervical cancer: Current perspectives. Eur J Pharmacol. 2022;917:174751. DOI: [10.1016/j.ejphar.2022.174751](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.174751).
4. Global Medical Knowledge Alliance. Likuvannia raku shyjky matky – novyj pidkhdid pokrashchuie vyzhyvanist i znyzhuie ryzyk retsydyvu. Global Medical Knowledge Alliance; 2024. Dostupno: <https://gmka.org/uk/news/proryv-u-likuvanni-raku-shyjky-matky-novyj-pidhid-znyzhuie-smertnist-na-40-i-ryzyk-retsydyvu-na-35/>. [in Ukrainian].
5. Gelband H, Jha P, Sankaranarayanan R, Horton S, editors. Cancer: Disease Control Priorities. 3rd Edition (Volume 3). Washington (DC): The World Bank; 2015. 360 p.
6. Alrajjal A, Pansare V, Choudhury MSR, Khan MYA, Shidham VB. Squamous intraepithelial lesions (SIL: LSIL, HSIL, ASCUS, ASC-H, LSIL-H) of Uterine Cervix and Bethesda System. Cytojournal. 2021;18:16. DOI: [10.25259/Cytojournal_24_2021](https://doi.org/10.25259/Cytojournal_24_2021).
7. Huang EC, Tomic MM, Hanamornroongruang S, Meserve EE, Herfs M, Crum CP. p16ink4 and cytokeratin 7 immunostaining in predicting HSIL outcome for low-grade squamous intraepithelial lesions: a case series, literature review and commentary. Mod Pathol. 2016;29(12):1501-1510. DOI: [10.1038/modpathol.2016.141](https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.141).
8. Ince U, Aydın O, Peker O. Clinical importance of “low-grade squamous intraepithelial lesion, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL-H)” terminology for cervical smears 5-year analysis of the positive predictive value of LSIL-H compared with ASC-H, LSIL, and HSIL in the detection of high-grade cervical lesions with a review of the literature. Gynecol Oncol. 2011;121(1):152-6. DOI: [10.1016/j.ygyno.2010.12.004](https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2010.12.004).
9. Lawson JS, Glenn WK, Heng B, Ye Y, Tran B, Lutze-Mann L, et al. Koilocytes indicate a role for human papilloma virus in breast cancer. Br J Cancer. 2009;101(8):1351-6. DOI: [10.1038/sj.bjc.6605328](https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605328).
10. Torous VF. Challenging lesions in cervical cytology: The elusive HSIL. Cytopathology. 2024;35(1):48-59. DOI: [10.1111/cyt.13303](https://doi.org/10.1111/cyt.13303).
11. Tainio K, Athanasiou A, Tikkinen KAO, Aaltonen R, Cárdenas J, Hernández, et al. Clinical course of untreated cervical intraepithelial neoplasia grade 2 under active surveillance: systematic review and meta-analysis. BMJ. 2018;360:k499. DOI: [10.1136/bmj.k499](https://doi.org/10.1136/bmj.k499).
12. Mureşan D, Rotar IC, Apostol S, Coroiu G, Stamatian F. HPV immunohistochemical testing and cervical dysplasia. Clujul Med. 2016;89(2):236-40. DOI: [10.15386/cjmed-653](https://doi.org/10.15386/cjmed-653).
13. Martin CM, O'Leary JJ. Histology of cervical intraepithelial neoplasia and the role of biomarkers. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2011;25(5):605-15. DOI: [10.1016/j.bpobgyn.2011.04.005](https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2011.04.005).
14. Tamminen E. Fine structure and enzyme histochemistry of stratified squamous epithelium in the human uterine cervix with reference to the epidermis in the female thigh. Acta Obstet Gynecol Scand Suppl. 1970;8(8):1-67. DOI: [10.3109/00016347009155070](https://doi.org/10.3109/00016347009155070).
15. del Pino M, Garcia S, Fusté V, Alonso I, Fusté P, Torné A, et al. Value of p16(INK4a) as a marker of progression/regression in cervical intraepithelial neoplasia grade 1. Am J Obstet Gynecol. 2009;201(5):488.e1-7. DOI: [10.1016/j.ajog.2009.05.046](https://doi.org/10.1016/j.ajog.2009.05.046).
16. Alrajjal A, Pansare V, Choudhury MSR, Khan MYA, Shidham VB. Squamous intraepithelial lesions (SIL: LSIL, HSIL, ASCUS, ASC-H, LSIL-H) of Uterine Cervix and Bethesda System. Cytojournal. 2021;18:16. DOI: [10.25259/Cytojournal_24_2021](https://doi.org/10.25259/Cytojournal_24_2021).
17. Iovan L, Liliac IM, Istratie-Ofiteru AM, Rosu CG, Mogoanta L. Clinical and Morphological Study of Cervical Squamous Intraepithelial Lesions. Curr Health Sci J. 2023;49(2):220-229. DOI: [10.12865/CHSJ.49.02.220](https://doi.org/10.12865/CHSJ.49.02.220).
18. Darragh TM, Colgan TJ, Thomas Cox J, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization project for HPV-associated lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. Int J Gynecol Pathol. 2013;32(1):76-115. DOI: [10.1097/PGP.0b013e31826916c7](https://doi.org/10.1097/PGP.0b013e31826916c7).
19. Kamal M. Cervical Pre-cancers: Biopsy and Immunohistochemistry. Cytojournal. 2022;19:38. DOI: [10.25259/CMAS_03_13_2021](https://doi.org/10.25259/CMAS_03_13_2021).
20. Liu J, Su S, Liu Y. The value of Ki67 for the diagnosis of LSIL and the problems of p16 in the diagnosis of HSIL. Sci Rep. 2022;12(1):7613. DOI: [10.1038/s41598-022-11584-z](https://doi.org/10.1038/s41598-022-11584-z).

ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЛОСКОКЛІТИННИХ ІНТРАЕПІТЕЛІАЛЬНИХ УРАЖЕНЬ ШИЙКИ МАТКИ

Гирявенко Н. І., Линдіна Ю. М., Ширай А. М., Цепочко Д. Г., Сікора К. О., Романюк А. М.

Резюме. Плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження шийки матки (SIL) – передраковий стан. Цей термін використовують для опису аномальних клітин, які виявляються на поверхні шийки матки під час гістологічного дослідження біопсійного та операційного матеріалу. Основним етіологічним фактором є персистентна інфекція ВПЛ. Захворювання може тривалий час перебігати безсимптомно. Імуногістохімічні та морфологічні дослідження особливостей SIL є вкрай актуальними, оскільки це дозволяє вдосконалити методи ранньої діагностики та визначити групи ризику.

Мета дослідження: визначити гістологічні та імуногістохімічні особливості (p16, Ki-67) SIL шийки матки.

Об'єкт і методи. За основу клініко-морфологічного та імуногістохімічного дослідження роботи було взято біопсійний матеріал, який ми отримали від 54 пацієнток з клінічним діагнозом «Дисплазія шийки матки». Для аналізу використовувалися молекулярно-біологічні маркери: p16 та Ki-67. Оцінку проводили відповідно до загальноприйнятих методик та протоколу виробника.

Результати. У ході гістологічного та імуногістохімічного дослідження біопсійного матеріалу шийки матки нами встановлено, що серед 54 пацієнток діагноз SIL був підтверджений у 33 випадках (61%). Плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження шийки матки низького ступеня (LSIL/CINI) було діагностовано у 17 жінок (52%) та характеризувалося негативною експресією p16 (35%) або мали слабо позитивну неоднозначну експресію білка p16 (65%) та позитивну ядерну реакцію у клітинах 1/3 товщі епітеліального пласта у вогнищі інтраепітеліального ураження. Плоскоклітинне інтраепітеліальне ураження шийки матки високого ступеня (HSIL/CINII) було діагностовано у 16 жінок (48%) та характеризувалося виключно вираженою дифузною позитивною блочною реакцією p16 у вогнищі інтраепітеліального ураження та позитивною ядерною реакцією до 45-70% клітин у 2/3 (3,7%) або у всій товщі епітеліального пласта (25,9%) у вогнищі інтраепітеліального ураження. Клінічний діагноз SIL у 21 випадку (39%) морфологічно не підтверджено.

Висновки. При імуногістохімічному дослідженні LSIL p16 зазвичай був негативним або неоднозначним. Спостерігалася позитивна реакція Ki-67 в 1/3 товщі епітеліального пласта. При визначенні білка p16 у HSIL – виражена дифузна позитивна ядерно-цитоплазматична реакція у вогнищі інтраепітеліального ураження (блочна реакція). У HSIL була помітна експресія Ki-67 у верхніх шарах епітелію, що вказувало на значно вищу

проліферативну активність. Тоді як при інших ураженнях шийки матки p16 був негативним, а фарбування за Ki-67 відсутнє або мінімальне.

Імуногістохімічне дослідження може слугувати в диференційній діагностиці та ранньому визначенні градації захворюваності, що в свою чергу допоможе не лише підвищити ефективність профілактичних заходів, а й оптимізувати тактику ведення пацієнтів. Як наслідок, це сприятиме зниженню захворюваності та смертності від раку шийки матки серед жінок.

Ключові слова: дисплазія шийки матки, імуногістохімічне дослідження, вірус папіломи людини, молекулярно-біологічні маркери, рак шийки матки.

PATHOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CERVICAL SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL LESIONS

Hyriavenko N. I., Lyndina Y. S., Shyrai A. M., Tsepochko D. G., Sikora K. O., Romaniuk A. M.

Abstract. Squamous intraepithelial lesion (SIL) of the cervix is considered a precancerous condition. This term is used to describe abnormal cells found on the cervical surface during histological examination of biopsy and surgical specimens. The primary etiological factor is persistent human papillomavirus (HPV) infection. The disease may remain asymptomatic for a prolonged period. Immunohistochemical and morphological investigations of SIL are of great relevance, as they allow for the improvement of early diagnostic methods and the identification of high-risk groups.

Aim of the study. To determine the histological and immunohistochemical characteristics (p16, Ki-67) of cervical SIL.

Object and methods. The study was based on clinical, morphological, and immunohistochemical analysis of biopsy specimens obtained from 54 patients clinically diagnosed with «cervical dysplasia.» Molecular-biological markers p16 and Ki-67 were used for analysis. Evaluation was conducted in accordance with standardized protocols and manufacturer's instructions.

Results. Histological and immunohistochemical analysis of cervical biopsy specimens confirmed the diagnosis of SIL in 33 out of 54 patients (61%). Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL/CIN I) was diagnosed in 17 women (52%) and was characterized by negative p16 expression (35%) or weakly positive and equivocal p16 staining (65%), along with positive nuclear Ki-67 reactivity in cells confined to the lower one-third of the epithelial thickness at the site of the lesion. High-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL/CIN III) was diagnosed in 16 women (48%) and was characterized by a strong, diffuse, block-type p16 positivity within the lesion and nuclear Ki-67 expression in 45–70% of cells within two-thirds (3.7%) or the full thickness (25.9%) of the epithelium. In 21 cases (39%), the clinical diagnosis of SIL was not morphologically confirmed.

Conclusions. Immunohistochemical analysis of LSIL typically showed negative or equivocal p16 expression and Ki-67 positivity limited to the lower third of the epithelium. In HSIL, p16 showed strong, diffuse nuclear-cytoplasmic staining (block-positive pattern) at the site of the lesion. Ki-67 expression in HSIL was prominent in the upper layers of the epithelium, indicating significantly increased proliferative activity. In contrast, in non-SIL cervical lesions, p16 expression was negative and Ki-67 staining was absent or minimal.

Immunohistochemical studies can serve as valuable tools in differential diagnosis and early grading of cervical pathology, thereby enhancing the effectiveness of preventive strategies and optimizing patient management. Consequently, this may contribute to a reduction in both the incidence and mortality of cervical cancer among women.

Key words: cervical dysplasia, immunohistochemical study, human papillomavirus (HPV), molecular-biological markers, cervical cancer.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Hyriavenko N. I.: <https://orcid.org/0000-0002-9805-014X>^{ABCDEF}

Lyndina Y. S.: <https://orcid.org/0000-0002-2132-0965>^{ABDF}

Shyrai A. M.: <https://orcid.org/0009-0006-5665-3993>^{BDF}

Tsepochko D. G.: <https://orcid.org/0009-0004-8290-2354>^{BDF}

Sikora K. O.: <https://orcid.org/0000-0002-4147-6879>^{ABDF}

Romaniuk A. M.: <https://orcid.org/0000-0003-2560-1382>^{ABCDEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The Authors declare no conflict of interest. / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Hyriavenko Natalia Ivanivna / Гирявенко Наталія Іванівна

Sumy State University, Educational and Scientific Medical Institute / Сумський державний університет, Навчально-науковий медичний інститут

Ukraine, 40000, Sumy, 31 Sanatorna str. / Адреса: Україна, 40000, м. Суми, вул. Санаторна 31

Tel.: +380997466578 / Тел.: +380997466578

E-mail: n.gyryavenko@med.sumdu.edu.ua

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статистичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Received 20.04.2025 / Стаття надійшла 20.04.2025 року

Accepted 15.08.2025 / Стаття прийнята до друку 15.08.2025 року