ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Своєчасна та точна діагностика дисплазій шийки матки (ДШМ), які відносять до передракових процесів, і розробка заходів щодо попередження раку шийки матки (РШМ) є головними питаннями сучасного акушерства та гінекології, що являє собою не тільки медичну, але і соціально-демографічну проблему. За поширеністю РШМ посідає друге місце серед злоякісних новоутворень жінок, в Україні від даного захворювання щороку помирає близько 2500 жінок, причому 500 із них мають працездатний і репродуктивний вік (Г.О. Вакуленко, Л.М. Захарцева, Е.В. Коханевич, 2001; Н.И. Кондриков, 2008; M.S. Baggish, 2003).

Згідно рекомендацій ВООЗ серед найбільш пріоритетних напрямків зниження захворюваності та смертності від РШМ є рання діагностика, прогнозування клінічного перебігу та адекватне лікування жінок з передраковими захворюваннями і малоінвазивними формами РШМ (World Health Organization Classification of tumors of the breast and female genital organs: M. Wells, A.G. Ostor, C.P. Crum, 2003.).

Загальновідомим і доведеним фактом є асоціація РШМ з папіломавірусною інфекцією (ВПЛ). Проте, незважаючи на існування численних гіпотез, присвячених механізмам канцерогенезу, біологічні закономірності неопластичної трансформації у жінок з ДШМ на тлі ВПЛ залишаються невідомими (M.Goldstein, S.Watkins, 2008; Г.К. Степанковская, О.В. Федоренко, 2002). Також не існує єдиного погляду щодо алгоритму діагностичних заходів, термінів та методів об’єктивного моніторингу пацієнток з ВПЛ-ушкодженнями шийки матки (ШМ) та терапевтичної тактики ведення даної патології, що призводить, з одного боку, до прогресування захворювання з розвитком ДШМ та РШМ, а з іншого - до надмірного поширення хірургічних методів лікування ДШМ з небажаними наслідками для репродуктивної функції пацієнток.

Велика кількість робіт, присвячених вивченню локальної морфологічної картини захворювання, стану вагінального біоценозу, противірусного імунітету, причинних гормональних та проонкогенних факторів сприяли становленню сучасного уявлення щодо провідної ролі в патогенезі ДШМ і РШМ персистуючої інфекції ВПЛ високого канцерогенного ризику і інтеграції геному вірусу ВПЛ в геном епітеліальної клітини ШМ, що призводить до підвищення їх проліферативної активності та онкогенної мутації. Тому вивчення особливостей клінічного перебігу ВПЛ-інфекції на підставі аналізу експресії імуногістохімічних (ІГХ) маркерів клітинної проліферації та онкогенною трансформації на різних етапах розвитку ракових змін епітелію шийки матки (ЕШМ) має наявну перспективу (Л.И. Воробьева, А.Б. Винницкая, Ю.С. Доценко, Г.В. Евтушенко, 2000; В.К. Чайка, 2009; S.Hantz, S.Alain, 2006). Визначення імунофенотипу процесів в тканинах ШМ жінок, уражених ВПЛ високого канцерогенного ризику (ВПЛ ВКР), дозволить об’єктивно прогнозувати появу і подальший перебіг ДШМ, чітко виділити групу високого ризику виникнення злоякісного перетворення, визначити необхідний об’єм і передбачити ефективність лікування у кожному конкретному випадку.

У зв'язку з вищевикладеним стає очевидною необхідність подальшого вивчення етіологічних факторів, клінічних проявів, морфологічних і імуногістохімічних особливостей цервікального епітелію при ДШМ з ВПЛ-асоціацією, формування нових підходів до діагностики цього захворювання, прогнозування перебігу й оптимізації

методів його лікування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Представлена робота є фрагментом комплексної науково-дослідницької роботи кафедри акушерства і гінекології та патологічної анатомії і судової медицини ДЗ «Дніпропетровська медична академія» МОЗ України „Прогнозування, профілактика і лікування репродуктивної та перинатальної патології, асоційованої з урогенітальною інфекцією" (№ держ. реєстрації 0103V002385) та „Індивідуалізація лікування злоякісних пухлин з урахуванням біологічних показників активності пухлинного процесу та маркерів хіміогормонорезистентності" (№ держ. реєстрації 0101U001002).

Мета дослідження: Покращити ефективність терапії дисплазій шийки матки, асоційованих з ВПЛ-інфекцією, шляхом вдосконалення діагностичних та прогностичних критеріїв перебігу цієї патології на підставі комплексного клініко-імуноморфологічного дослідження з розробкою математичної моделі.

Завдання дослідження:

1. Визначити епідеміологічні особливості та головні фактори ризику виникнення дисплазії та раку шийки матки, асоційованих з ВПЛ-інфекцією, на підставі ретроспективного клініко-статистичного аналізу анамнестичних даних і сформувати групи проспективного дослідження.
2. Оцінити основні характеристики імунного статусу та вміст у крові гонадотропних і статевих гормонів у жінок із груп проспективного дослідження для встановлення інформативності цих показників в прогнозуванні перебігу дисплазій шийки матки з ВПЛ-асоціацією.
3. Дослідити рівні експресії маркерів до естрогенових і прогестеронових рецепторів, проліферації, онкогенної трансформації, диференціювання та васкулогенезу в біоптатах шийки матки жінок із груп проспективного дослідження для виявлення характерних імунофенотипів ВПЛ-асоційованих дисплазій шийки матки з різним перебігом.
4. Розробити математичну модель прогнозу клінічного перебігу та передбачення ефекту лікування ВПЛ-асоційованих дисплазій шийки матки з використанням визначених варіантів імунофенотипу.
5. Розробити раціональні підходи і практичні рекомендації щодо лікування та ведення пацієнток з ВПЛ-асоційованними дисплазіями шийки матки на підставі даних проспективного комплексного дослідження.

Об'єкт дослідження: пацієнтки з цервікальними інтраепітеліальними неоплазіями, асоційованими з ВПЛ.

Предмет дослідження: епідеміологічні, клініко-морфологічні, імуногістохімічні особливості диспластичних процесів епітелію шийки матки.

Методи дослідження: Для досягнення поставленої мети та вирішення завдань були використані мікробіологічні, цитологічні, кольпоскопічні, гістологічні, імунологічні та імуногістохімічні методи; також виконувалась статистична обробка отриманих результатів дослідження та метод математичного моделювання.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше запропоновані діагностичні і прогностичні ІГХ критерії диспластичних уражень ШМ, визначена можливість використання ІГХ показників в якості скринінгових і підтверджуючих методів при

ВПЛ-асоційованих ДШМ, що описано патентом України № 21282 від 04.08.2006р. Доведено, що ІГХ показники проліферації, онкогенної трансформації, диференціювання, васкулогенезу, рецепторів до естрогену та прогестерону є більш чутливими та специфічними для прогнозу клінічного перебігу ВПЛ-асоційованих ДШМ та передбачення відповіді на терапію, ніж звичайні кольпоскопічне, цитологічне і морфологічне дослідження, а також оцінка у крові рівнів гонадотропних і статевих гормонів та аналіз стандартної імунограми ($p<0,05$).

Вперше визначені «регресивний» (p16 (<5%), VEGF (-), Кі-67 (<5%), p63 (<10%), ER (≥10%) та PR (≥10%)) і «прогресивний» (p16 (≥5%), Кі-67 (≥5%), p63 (≥10%), VEGF (+), ER (<10%) та PR (<10%)) імунофенотипи ВПЛ-асоційованих ДШМ, що дає підставу для об'єктивного прогнозу їх перебігу у напрямку регресу або прогресу захворювання.

Вперше розроблено математичну модель прогнозування розвитку ДШМ з ВПЛ-асоціацією і передбачення ефективності терапевтичних заходів в залежності від його «регресивного» або «прогресивного» імунофенотипу, на підставі якої математично обґрунтовано диференційований індивідуальний підхід до ведення пацієнток з ВПЛ-асоційованими ДШМ I і II ступеня в залежності від експресії ІГХ маркерів (точність прогнозу регресу ураження 97,3%, точність прогнозу пролонгації – 91,2%). Доведена більша ефективність запропонованої комбінованої противірусної та імуномоделюючої медикаментозної терапії із застосуванням ізопринозину та інтерферону, в порівняні із стандартною монотерапією інтерфероном ($p<0,05$) у жінок з ВПЛ-асоційованими ДШМ I та II ступеня.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблена схема визначення «регресивного» і «прогресивного» імунофенотипів перебігу ВПЛ-асоційованих ДШМ повинна покращити діагностичну ситуацію через стратифікацію ризику для молодих жінок репродуктивного віку і прийняття важливих клінічних рішень, а саме, можливість проведення доцільної комбінованої терапії або необхідність хірургічної деструкції осередків диспластичного ураження.

Запропонована комбінована терапія рекомбінантним інтерфероном людини альфа-2β та препаратом «Ізопринозин» дає позитивний результат у 2/3 випадках ВПЛ-асоційованих ДШМ I і II ступеня тяжкості, дозволяє знизити частоту хірургічних методів лікування ВПЛ-асоційованих ДШМ та запобігає розвитку преінвазивних форм РШМ.

Впровадження результатів дослідження. Теоретичні положення і практичні рекомендації, висвітлені автором в дисертаційній роботі, використовуються в навчальному процесі на кафедрі акушерства і гінекології ДЗ «Дніпропетровська медична академія» МОЗ України для підготовки практичних занять та лекцій.

Запропоновані автором методики впроваджені в роботу КЗ «Міський пологовий будинок №1» м. Дніпропетровськ, КЗ «Обласна клінічна лікарня ім. І.І.Мечнікова» м. Дніпропетровськ, КЗ «Міська клінічна лікарня №9», м. Дніпропетровськ, Дорожня клінічна лікарня станції м. Дніпропетровськ, Донецького регіонального центру охорони материнства та дитинства.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведені патентний та інформаційний пошук, збір, аналіз і обробка біопсійного та операційного матеріалу, виконано клінічне, кольпоскопічне та мікробіологічне дослідження 341 пацієнток з

взяттям прицільних біопсій або проведенням конізацій ШМ, проведено аналіз, статистичну обробку результатів дослідження та математичне моделювання, підібраний й оформлений ілюстративний матеріал. Дисертаційна робота є самостійним дослідженням автора з розробкою та втіленням оригінальних ідей та задумів. За допомогою наукового керівника складено програму дослідження та проведено основні етапи роботи. Результати роботи відображені в публікаціях, представлені на наукових з'їздах і конференціях. У роботах, виконаних у співавторстві, ідея й основні положення належать дисертантові. Співавторами здійснювалась допомога в отримані клінічних даних, надана консультація при проведенні ІГХ досліджень. У роботах, виконаних у співавторстві, реалізовані наукові ідеї здобувача. Дисертантом не були використані результати та ідеї співавторів публікацій.

Апробація роботи. Матеріали дисертації та її фрагменти були представлені й обговорені на II і III Всеукраїнських наукових конференціях "Карповські читання" (Дніпропетровськ, 2005; 2006), Українській школі-семінарі молодих вчених та фахівців патологоанатомів (Одеса, 2006), науково-практичній конференції асоціації акушерів-гінекологів (Дніпропетровськ, 2006), Російській науково-практичній конференції „Патология шейки матки и генитальные инфекции – от теории к практике" (Москва, 2007), регіональній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Сучасні підходи до діагностики і лікування передракових станів шийки матки» (Дніпропетровськ, 2010).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 7 наукових робіт, які повністю відображають зміст проведеного дослідження. Із них 5 статей видані у наукових фахових журналах (у тому числі 1 самостійно), 1 стаття – оглядова, 1 тези матеріалів наукових конференцій, 1 патент на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 165 сторінках друкованого тексту. Обсяг основного тексту складає 112 сторінок і включає вступ, огляд літератури, опис методів дослідження, три розділи власних досліджень, аналіз отриманих результатів, висновки, практичні рекомендації. Бібліографічний покажчик включає 191 наукових публікацій, у тому числі 61 на російській та українській і 130 на іноземних мовах.

Робота ілюстрована 28 таблицями, 27 рисунками і 20 діаграмами, що займають 34 повних сторінок.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. В роботі було проведено аналіз двох блоків клінічних спостережень - ретроспективний та проспективний. Перший включав клініко-статистичний аналіз результатів скринінгового дослідження 67246 жінок в Українсько-Американському центрі патології шийки матки КЗ "Міська клінічна лікарня №9" м.Дніпропетровська в період з 2000 по 2010 рр. Із них у 1880 пацієнток морфологічно була верифікована ДШМ різного ступеня тяжкості, у 199 спостереженні - преінвазивна форма РШМ (carcinoma in situ).

На *першому етапі* була детально вивчена епідеміологічна характеристика об'єкта дослідження та виділені провідні фактори ризику ДШМ та РШМ, що дозволило не тільки сформулювати основну концепцію дослідження, але також обрати

групи жінок для подальшого проспективного блоку клінічних спостережень.

Проспективне дослідження (*другий етап*) було проведене протягом 2004-2010 рр. на базі поліклініки ДЗ „Дніпропетровська медична академія” МОЗ України і охоплювало 341 пацієнтку репродуктивного віку (середній вік жінок склав 28,6±3,2 років), які пройшли скринінгове обстеження на наявність ВПЛ-інфекції методом ПЛР і дали офіційну згоду на участь у подальшому дослідженні. Серед них 110 жінок з негативним ВПЛ-тестом було включено до контрольної групи (група I), 231 – з позитивним тестом на ВПЛ ВКР були розбиті на підгрупи: групу II склали 105 жінок з ВПЛ-інфекцією без ДШМ; групу III - 76 пацієнток з ВПЛ-інфекцією та легкою ДШМ (I ступеня); групу IV - 50 жінок з ВПЛ-інфекцією та ДШМ середньої тяжкості (II ступеня); групу V - 46 пацієнток з важкою ДШМ (III ступеня) та преінвазивним РШМ.

На *третьому етапі* була вивчена ефективність медикаментозного впливу на ВПЛ-інфекцію інтерферону людини альфа 2β рекомбінантного, а також запропонованої нами схеми лікування (додаткове включення до вищезазначеного стандартного лікування противірусного препарату «Ізопринозин»). Для реалізації цього завдання ВПЛ-інфіковані жінки без ДШМ (група II) за підтвердженим узгодженням були розділені на підгрупи шляхом випадкового добровільного анонімного вибору (проста рандомізація): підгрупу IIа склали 50 жінок, які отримували лікування інтерфероном людини альфа 2β рекомбінантним за галузевим клінічним протоколом (Наказ МОЗ України № 676 від 31.12.2004), підгрупу IIб - 55 жінок, які отримували курс комбінованої терапії інтерфероном та ізопринозином.

На *четвертому етапі* була проведена перевірка робочої гіпотези ймовірності прогнозу ефективності медикаментозних заходів в регресі ВПЛ-асоційованих ДШМ та запобіганні преінвазивних та інвазивних форм РШМ на підставі даних експресії ІГХ маркерів онкогенної трансформації p16, васкулогенезу VEGF, проліферації Ki-67, диференціювання p63,естрогенових ER та прогестеронових PR рецепторів за оцінкою динаміки диспластичного процесу у ЕШМ: регрес, прогрес або без змін.

Клініко-лабораторні обстеження жінок проводили згідно з наказами МОЗ України № 503 від 28.12.2002 р. «Про удосконалення амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні», № 676 від 31.12.2004 р. «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги» та № 677 від 31.12.2004 «Про затвердження програми Скринінг патології шийки матки на 2005-2010 роки».

Кольпоскопічне дослідження проводилося із застосуванням кольпоскопу Kolposcop-E («Carl Zeiss», Німеччина) із оптичним збільшенням ×10, ×15. Використовували розширену методику візуалізації з послідовною обробкою ШМ 3% розчином оцтової кислоти і розчином Люголя (проба Шилера). Для інтерпретації результатів кольпоскопічного дослідження використовували міжнародну класифікацію кольпоскопічних термінів, прийняту на VII Всесвітньому конгресі з патології шийки матки і кольпоскопії (Рим, 1990).

Цитологічні методи дослідження. Цитологічне дослідження проводили за методом Папаніколау. Клітинний матеріал забирали з поверхні вагінальної частини ШМ та цервікального каналу щіточкою «цервікобраш» і штриховим рухом наносили мазок на скло з наступним фіксуванням сумішшю Нікіфорова (спірт з ефіром у співвід-

ношенні 1:1) протягом 30 хвилин. При визначені ступеня тяжкості дисплазії використовували цитологічну класифікацію дисплазій за Richart згідно наказу МОЗ України № 676 (від 31.12.2004 р.).

Бактеріоскопічне та бактеріологічне дослідження біопроб із піхви та цервікального каналу проводили в мікробіологічному відділі діагностичного центру КЗ «Дніпропетровська медична академія» МОЗ України шляхом вивчення мазків, забарвлених за Грамом нативно із визначенням основних морфологічних типів бактерій і ступеня заселення матеріалу мікроорганізмами, а також, засіву біопроби на елективні середовища. Ідентифікацію виділеного мікроорганізму здійснювали з використанням комп'ютерної програми "Crystal electronic", класифікували у відповідності з визначником Бергі. Концентрацію бактерій визначали згідно до наказу МОЗ України № 4 (1996) і виражали в колонієутворюючих одиницях на 1 мл (КУО/мл). Критерієм визначення етіологічної значимості збудників, що виявляються в цервікальному каналі, служив діагностичний титр > 10^3 КУО/мл. Показники 10^4 – 10^5 КУО/мл оцінювали як середній ступінь мікробного обсімінення, більше 10^5 - як високий (наказ МОЗ України № 535 "Про уніфікацію мікробіологічних (бактеріологічних) методів дослідження, які застосовуються у лікувально-профілактичих установах", 1985).

ВПЛ-тест. проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЦР) з електрофоретичною детекцією продуктів ампліфікації в агарозному гелі (тест-система "Амплисенс ВПЧ ВКР генотип) з визначенням ДНК вірусів папіломи людини високого канцерогенного ризику 16, 31, 33, 35, 18, 39, 45, 59, 52, 56, 58, 66 типів у матеріалі з екзо- та ендоцервіксу. Повторне обстеження на наявність ДНК ВПЛ (для контролю ефективності проведеного лікування) здійснювалось не раніше ніж через 5-6 тижнів після курсу лікування.

Дослідження імунного статусу включало визначення рівня поверхневих антигенів лімфоцитів CD_{3+}, CD_{4+}, CD_{8+}, CD_{16+}, CD_{22+}, CD_{95+} методом лазерної проточної цитофлюорометрії (EPICS XL Coulter, USA) із застосуванням моноклональних та поліклональних антитіл („Статус”, Росія); рівня імуноглобулінів (Ig) класів A, M, G методом імунотурбідіметрії на апараті "MICROLAB-200" (Нідерланди) рівня імунних комплексів за методом Ю.А. Гриневича, А.Н. Алфьорова (1981).

Концентрацію основних гормонів репродуктивної системи ФСГ, ЛГ, естрадіол і прогестерон визначали за допомогою імуноферментного методу (ALPCO Diagnostics, США). Забір крові проводили вранці натще з ліктьової вени на 3-5-й, 14-й і 21-й день менструального циклу.

Морфологічні та імуногістохімічні методи Морфологічні та імуногістохімічні дослідження біоптатів шийки матки (всього досліджено 682 цервікобіоптатів) було виконано на базі відділу імуноморфології діагностичного центру ДЗ «Дніпропетровська медична академія» МОЗ України.

Фрагменти екзоцервіксу із цервікального каналу, не відмиваючи водою, фіксували в 10% розчині нейтрального забуференного формаліну на протязі 12 годин з метою збереження цілісності антигенів клітин. Після фіксації і проводки за стандартним протоколом матеріал заливався у парафін. Парафінові зрізи після фарбування гематоксиліном-еозином, піддавалися ретельному мікроскопічному дослідженню згідно "Протоколів дослідження зразків від пацієнток із цервікальним раком" і наказу МОЗ України № 676 від 31.12.2004 р. за допомогою світлового мікроскопу Leica DMLS з

використанням об'єктивів ×10, ×20, ×40, ×100.

Для ІГХ дослідження парафінові зрізи зразків товщиною 4-6 мкм, що були отримані на мікротомі Microtom HM-340, наносили на адгезивні предметні скельця SuperFrostPlus та депарафінізовували з послідуючим проведенням теплового індукційного антигенного звороту (heat induction of epitope retrieval) в цитратному буфері з pH=6,0 в автоклаві (8 хвилин при температурі +121^{0}C).

Як первинні антитіла використовувалися моноклональні антитіла до маркерів Ki-67 (клон MIB-1, DAKO; клон SP6, LabVision), p63 (клон 4A4, DakoCytomation), p16^{INK4a} (kit №K5334, DakoCytomation), VEGF (клон VG1, DakoCytomation), рецепторів стероїдних гормонів: естрогену - ER (клон 1D5, DakoCytomation; клон SP1, LabVision) та прогестерону - PgR (клон PgR 636, DakoCytomation; клон SP2, LabVision). Титр антитіл підбирався індивідуально для кожного маркеру з використанням у якості розчинника Antibody Diluent (LabVision). Наступний етап ІГХ дослідження проводили з використанням системи візуалізації UltraVision LP (LabVision).

Клітини, позитивні у відношенні експресії маркерів вивчали як мінімум на 4-6 випадково обраних полях зору мікроскопу гістологічних зрізів з використанням об'єктивів ×100, ×200, ×400 та ×1000 (коли це було необхідно). Після підрахунку 300 гістологічно ідентифікованих об'єктів (ядер або клітин), обчислювали показники експресії за результатами всіх вивчених ділянок. Як позитивну враховували реакцію у нормальних клітинах епітеліального шару, а також диспластично змінених. Крім того експресія стероїдних гормонів та VEGF оцінювалась і в стромальному компоненті також, відповідно до рекомендацій інших авторів (С.В. Петров, Н.Т. Райхлин, 2004).

Стан естрогенових та прогестеронових рецепторів визначали за ступеням їх експресії в ядрах у епітелії і стромі з наступними діапазонами: негативна реакція – 0-10% позитивно забарвлених клітин; позитивна - більше 10% клітин з ІГХ міткою.

Індекси експресії Ki-67, p16^{INK4A}і p63 обчисляли як відсоток клітин з інтрануклеарною реакцією незалежно від інтенсивності забарвлення до загальної кількості клітин у середньому за результатами всіх вивчених ділянок, для Ki-67 і p16^{INK4A} негативною реакцією вважали менше 5% забарвлених клітин, для p63 негативною - менше 10% з ІГХ міткою.

При оцінці імуногістохімічного забарвлення з VEGF використовувався напівкількісний метод з розподілом на 4 категорії: 0 - негативна реакція (відсутність будь-якої позитивно забарвленої клітини - еквівалентно нормальному епітелію), + - слабке забарвлення (позитивно забарвлені дискретно розташовані клітини або забарвленість розповсюджена на весь епітелій, але інтенсивність її слабка), ++ - помірно виражене забарвлення (більша кількість позитивно забарвлених клітин) і +++ - інтенсивне забарвлення практично всіх клітини епітелію.

Статистична обробка результатів, отриманих у ході досліджень виконувалася на персональному комп'ютері Pentium IV методами варіаційної статистики і рангової кореляції з використанням програми електронних таблиць Microsoft Excel 2010 та статистичного пакету Statsoft Statistica 6.0. У кожній виборці проводили перевірку на характер розподілу ознак за допомогою критеріїв Шапіро-Уїлка та Колмогорова-Смірнова. Після підтвердження факту нормальності розподілу ознак і рівності дисперсій для порівняння груп та перевірки гіпотези про рівність центрів розподілу у вибірках, що представляли кількісні дані, одержані для різних референтних груп

(контролю та досліду), використовували непарний критерій Стьюдента. У випадку непідтвердження припущення про нормальність розподілу кіль кісних ознак, а також при порівнянні референтних груп за атрибутивними та дискретними ознаками використовувався непараметричний критерій $\chi 2$ з рівнем значущості α, заданого на рівні 95% достовірності (тобто α=0,05). Для порівняння досліджуваних груп використовували дисперсійний аналіз, двобічний критерій Стьюдента для незалежних перемінних з поправкою Бонфероні та критерій Ньюмена-Кейлса, критерій χ^2 з перетворенням таблиць спряженості та поправкою Йєйтса, точний критерій Фішера, критерій Манна-Уїтні Також було проведено параметричний кореляційний аналіз Пірсона та його непараметричний аналог Спірмена в залежності від типу даних.

Результати дослідження та їх обговорення. Відповідно до поставлених задач, після дослідження результатів обстеження 67246 жінок для подальшого клініко-статистичного аналізу було відібрано 1880 медичних карт з морфологічно підтвердженою ДШМ різного ступеня тяжкості та 199 – з первинно виявленою преінвазивною формою РШМ, що склали відповідно 1,18% та 0,3%. У 744 випадках (39,7%) була визначена ДШМ I ступеня, у 589 (31,3%) – II ступеня, та у 547 (29,0 %) – III ступеня. Майже однакова частота розподілу різних за тяжкістю стадій дисплазії в зазначеній селективній групі жінок, а також, відповідно - 1,1%, 0,9% та 0,8% в вибірковій когорті (67246 жінок), свідчить про те, що динаміка прогресування ДШМ має лінійну залежність з вірогідністю прогресу патологічного процесу від ДШМ-I до ДШМ-III на протязі 10-річного строку у кожної позитивної на ДШМ жінки.

За результатами обстеження 67246 жінок, їх частка з вперше виявленими РШМ на протязі 2000-2010 рр. мала тенденцію до зниження майже в три рази - з 50-60 випадків (2000-2001 рр.) до 20 (2007-2010 рр.) на 10000 жінок. Також спостерігалась позитивна тенденція і в частоті виявлення ДШМ, але, за даними динаміки частоти виявлення ДШМ та преінвазивного РШМ, зменшення частоти ДШМ відбулося за рахунок легких форм, тоді як частота виявлення ДШМ II ступеня і III ступеня за останні 10 років суттєво не змінилася. Зазначену тенденцію можна розцінювати як негативну, бо з одного боку, це свідчить про несвоєчасну діагностику початкових форм передракових захворювань, а з іншого – про недостатньо ефективний вплив лікувальних заходів на клінічний перебіг ДШМ.

Нами була відзначена тенденція до частішого виявлення carcinoma in situ у жінок після проведеного у минулому лікування з приводу ДШМ-III (2,6% випадків) і ДШМ-II (2,65%) у порівнянні з ДШМ-I (0,82%), проте ця різниця між групами хворих з ДШМ-II і ДШМ-III була статистично недостовірна, що не дозволяло використовувати загальноприйняті морфологічні критерії тяжкості ДШМ для оцінки індивідуального об'єктивного прогнозу перебігу захворювання (регресу або прогресу), а отже, і наслідків його лікування. Підтвердженням цьому є майже однакова вірогідність розвитку преінвазивного РШМ у жінок з ДШМ-I (відносний ризик 0,27), ДШМ-II (відносний ризик 0,33) і ДШМ-III (відносний ризик 0,37) за даними проведеної експертної оцінки медичних карт за 10-річний період. Певною мірою це зв'язано і з організаційно-технічними проблемами - нерегулярністю проходження цервікального скринінгу і ВПЛ-тестування більше, ніж у половині цих жінок за вищевказаний період.

Окремо слід зазначити, що після консервативного лікування ДШМ-І, частота подальшого виникнення carcinoma in situ була практично подібною (0,84%), як і після хірургічного лікування (0,8%), що свідчило про відсутність переваг останнього перед консервативними методами терапії, принаймні, при легких проявах ДШМ, і зайва інвазивна агресія в таких випадках не завжди виправдана, особливо враховуючи, що останніми роками спостерігається чітке зростання захворюваності ДШМ і преінвазивного РШМ у жінок молодого віку від 18 до 31 року з нереалізованою до кінця репродуктивною функцією.

При аналізі вікової структури захворюваності на ДШМ та преінвазивний РШМ ми з'ясували, що більшість жінок з ДШМ на момент обстеження знаходилися в активному репродуктивному віці, переважно у віці 25-31 рр., а серед жінок з преінвазивним РШМ переважала частка осіб у віці після 39 років. Але звертає на себе увагу значна кількість випадків РШМ у жінок також у віці 32-38 рр. Слід підкреслити, що практично кожна четверта жінка (23,3%) з досліджених груп не народжувала.

З 2079 обстежених хворих з ДШМ і преінвазивним РШМ в 1261 (60,7%) випадку були анамнестичні вказівки на генітальні інфекції: бактерійний вагіноз – у 206 пацієнток (9,9%), вульво-вагінальний кандідоз – в 263 (12,6%), неспецифічні вульвовагинальні інфекції – в 159 (7,6%). Цервікальний хламідіоз спостерігався у 116 (5,6%) жінок, генітальний герпес - у 332 (16%), трихомоніаз – у 83 (4%), гонорея – у 43 (2%). У 185 (8,9%) хворих в анамнезі було ЗЗОМТ. Але ми не отримали прямий кореляційний зв'язок між ДШМ і наявністю будь-якої іншої, окрім ВПЛ, інфекцією ШМ і піхви, більш того, майже в кожному другому-третьому випадку (41%) ДШМ була виявлена у жінок з вагінальним нормоценозом.

Відсоток жінок, обстежених на ВПЛ-тест методом ПЛР з року в рік збільшувався, але взагалі це стосувалось лише жінок з диспластичними та неопластичними ураженнями ШМ, обстеження яких на ВПЛ в останні 3-4 роки склало 100%. Але в загальній популяції обстеження жінок на ВПЛ-тест залишається украй низьким (1,3-2,4% протягом 2000-2010 рр.). Слід зауважити, що тестування на ВПЛ-інфекцію не входить до галузевих стандартів скринінгових програм ранньої діагностики передракових захворювань та РШМ, тому це питання ще не вирішене у масштабі України і не має нормативної бази.

В дослідженій виборці жінок з ДШМ та преінвазивним РШМ різні типи ВПЛ знайдені у 1505 (72,4%) жінок, відповідно у 574 (27,6%) жінок ВПЛ-тест був негативний. Відмінності в частоті виявлення ВПЛ у жінок залежно від градації ступеня тяжкості ДШМ і РШМ були неістотні ($p > 0,05$), що свідчило про єдину етіологічну причину як передракових захворювань ШМ, так і РШМ.

Переважним типом вірусу в обстежених був ВПЛ 16, він виявлявся у 876 (58,2%) пацієнтів. За ним слідував ВПЛ 18, який був виявлений у 215 (14,3%) жінок, 45-й тип - в 116 випадках (7,7%). Таким чином, не дивлячись на те, що ВПЛ 16 типа має первинне значення в епідеміології ДШМ і РШМ, не менше значну роль в цьому відіграють і типи ВПЛ 18 і 45. Значно рідше зустрічалися інші типи ВПЛ: 31 – в 47 випадках (3,1%) обстежених, 33 – в 41 (2,7%), 58 – в 32 (2,1%), 59 – в 21 (1,4%) відповідно. Частота виявлення інших типів ВПЛ ВКР (56, 51, 39 і 68) в загальній сукупності була менше 3,5%. Інші відомі типи ВПЛ ВКР (52, 35, 73, 82 тощо) в проведеному дослідженні не зустрічалися. Імовірно, ризик інфікування одним штамом ВПЛ ВКР

не знижує ризик інфікованості філогенетично родинним типом вірусу, оскільки у 322 (21,4%) пацієнток при обстеженні було виявлено два і більше типів ВПЛ ВКР. Найчастіше зустрічалося поєднання 16-го і 18-го типів - в 244 (16,2%).

Не дивлячись на те, що ВПЛ-інфекція і ДШМ часто була виявлена на тлі ектопії циліндричного епітелію і інших захворювань ШМ (рубцева деформація, цервіцити, поліпи й ін.) вищезгадані фонові захворювання ШМ найімовірніше не є промоторами трансформації в інтраепітеліальну неоплазію, оскільки відносні ризики прогресу ДШМ і виникнення преінвазивного РШМ при цих захворюваннях були низькими ($p>0,05$) і у більшої частини обстежених жінок диспластичні зміни були виявлені при цитологічному та морфологічному дослідженні біоптату візуально інтактної ШМ (58,8%).

В ході аналізу показників імунограми CD3, CD4, CD8, ЦІК, IgA, IgM, IgG у ВПЛ-інфікованих жінок без ДШМ (група II) і при різних ступенях їх тяжкості (групи III-IV) в порівнянні з рівнями здорових жінок (група I) статистично достовірної різниці виявлено не було ($p>0,05$). Отримані результати свідчать про відсутність суттєвого впливу ВПЛ-інфекції на імунний статус жінок, що, можливо, пов’язано з притаманними цій інфекції відомими особливостями: переважно місцеве ураження епітелію ШМ, відсутність вірусемії і низька імуногенність в цілому. Цілком логічно, що можливість прогнозування перебігу ВПЛ-інфекції за даними стандартної імунограми сумнівна.

При дослідженні концентрації гонадотропних і статевих гормонів у сироватці крові обстежених жінок з ВПЛ інфекцією при різних ступенях ДШМ, їх середні значення у фолікулярну та лютеїнову фази не відрізнялися вірогідно від концентрації вказаних гормонів у відповідні фази менструального циклу у здорових жінок контрольної групи. Таким чином, незалежно від ступеня тяжкості ДШМ, нами не було виявлено у досліджених жінок наявності гіперестрогенії, як і недостатності лютеїнової фази. Це також дає можливість стверджувати, що ДШМ з ВПЛ асоціацією не є гормонзалежним процесом.

В результаті проведеного ІГХ дослідження з детекцією ER в матеріалі ШМ ми визначили, що у жінок контрольної групи (група I) реакція до ER, як у незміненому епітелії, так і у стромі була позитивна у 100% випадків, що пояснюється відомим фактом естрогенозалежності ЕШМ. При цьому кількість клітин з інтрануклеарною ІГХ міткою в базальному шарі перевищувала число позитивно забарвлених клітин у парабазальному шарі. Цікаво, що базальні клітини були ER(+) без кореляції з фазою менструального циклу. Парабазальні клітини демонстрували позитивну реакцію з ER у фолікулярній фазі. Напроти, у лютеіновій фазі парабазальні клітини у більшості випадків були ER(-). У всіх випадках позитивної реакції на ER в епітелії, стромальні клітини також були ER(+), причому інтенсивність реакції в підлеглих тканинах була вищою, ніж у епітеліальному шарі, що свідчить про їх більшу естрогенозалежність. Стромальні клітини були ER(+) в усіх випадках, незалежно від фази менструального циклу, а кількість клітин підлеглої тканини з позитивним забарвленням дорівнювала 20-40%. Інфікування ВПЛ ВКР без ДШМ (група II), суттєво не вплинуло на розподіл експресії ER в епітелії та стромі ($p>0,05$). Але експресія естрогенових рецепторів при диспластичних та неопластичних процесах ШМ на тлі ВПЛ ВКР виявляється значно рідше, ніж в нормальному епітелії, сягаючи мінімальних значень при преінвазивних

формах РШМ. У порівнянні з випадками ДШМ-І (група ІІІ) при ДШМ-ІІ (група IV) позитивна реакція з ER була визначена у меншій кількості випадків (14,0±1,2 проти 40,8±2,9, $p<0,05$),

В нашому дослідженні були також підраховані чутливість, специфічність, НПЧ та ППЧ для негативного ER-забарвлення в епітелії, як маркера ступеня диспластичних трансформацій при наявності ВПЛ ВКР інфекції (від 61,3 для ДШМ І до 100 для ДШМ ІІ і ІІІ) при високій чутливості (73,6-92,7).

Дослідження експресії PgR у матеріалі ШМ жінок з ВПЛ, асоційованою з ДШМ визначило чітку закономірність, яка полягала в значній редукції рівня експресії PgR при диспластичних та неопластичних процесах у порівнянні з контролем. Так, встановлено що позитивна реакція з PgR у контрольній групі виявляється майже в 3 рази частіше ніж у жінок з ДШМ І (група ІІІ), та приблизно в 4 разів – ніж з ДШМ ІІ (група IV), ДШМ ІІІ та РШМ (група V) ($p<0,05$). З'ясувалось, що зменшення кількості клітин з ІГХ міткою було суттєво помітно лише у жінок на тлі ВПЛ-інфікування ДШМ, при цьому різниця у рівнях експресії PgR між ДШМ-І (група ІІІ), ДШМ-ІІ (група IV) та ДШМ-ІІІ і неопластичними ушкодженнями (група V) була майже непомітна, що підкорялось закономірності, яку ми визначили для експресії ER в аналогічних групах пацієнток.

В дослідженні були також підраховані чутливість і специфічність для негативного результату експресії PgR як маркера прогнозу диспластичних трансформацій, завдяки обчисленню яких ми вправі зробити висновок, що негативне PgR-забарвлення є чутливим маркером прогресу ДШМ-І до диспластичної трансформації епітелію ШМ переважно з низьким ступенем диференціювання та преінвазивного РШМ.

ІГХ розбіжності у експресії рецепторів естрогену та прогестерону дозволили нам виділити два ІГХ варіанти ДШМ не залежно від ступеня тяжкості ураження. Перший варіант характеризується збереженням ER та PgR, а відповідно, це більш диференційовані клітини. При другому варіанті спостерігається втрата ER та PgR, тобто їх дедиференціювання і прогресування захворювання з можливістю злоякісної онкотрансформації.

Онкопротеїн $p16^{INK4a}$ є природно ядерним протеїном. У жінок з ВПЛ без ДШМ (група ІІ) поряд з переважно негативним статусом щодо експресії цього маркера в ЕШМ зустрічалися також випадки фокальної (тільки у цитоплазмі) ІГХ реакції слабкої інтенсивності, переважно в клітинах базального та парабазального шарів ЕШМ, яку ми розцінювали як позитивну реакцію, або у ядрах і цитоплазмі одночасно (змішана позитивна реакція). При ДШМ І (група ІІІ) ми спостерігали два варіанти ІГХ реакції – фокальний та негативний. Кількість випадків з негативною реакцією статистично вагомо перевищувала варіанти ушкоджень з фокальним типом забарвлення більше ніж у 2,5 рази ($p<0,05$). Кількість забарвлених клітин складала 20-35%. У групі ІІІ з негативним $p16^{INK4a}$ статусом поряд зі спостереженнями, в яких ми не виявляли ІГХ забарвлення, спостерігались випадки зі слабкою ІГХ реакцією менш, ніж 5% клітин базального шару. Група IV характеризувалася різними варіантами по відношенню кількості $p16^{INK4a}$(+). На відміну від групи з ДШМ І ступеня (група ІІІ), у пацієнток цієї групи, ми спостерігали всі варіанти забарвлення, а саме негативний, фокальний

та дифузний. Кількість випадків з дифузною реакцією була більше, ніж кількість спостережень з фокальним типом реакції на 10%, а з негативною експресією - майже у 3,5 рази більшою ($p<0,05$). Відмічено той факт, що у IV групі спостережень з дифузним типом забарвлення, у більшості випадків ми виявляли переважно цитоплазматичну реакцію в клітинах нижніх двох третин або нижньої половини епітеліального шару. У ДШМ II (група IV), які були віднесені нами до ушкоджень з фокальним типом забарвлення, кількість $p16^{INK4a}$(+) клітин коливалась у діапазоні від 20% до 40%, і ці клітини розташовувалися переважно у нижніх шарах епітелію. У випадках, які були віднесені до ушкоджень з негативним статусом, відмічались реакції в окремих клітинах (від 2% до 5%) базального шару із слабкою інтенсивністю забарвлення. Найбільш виражені позитивні реакції на $p16^{INK4a}$ спостерігались у жінок віднесених до групи V з ДШМ III ступеня та преінвазивного РШМ. Кількість випадків із дифузною реакцією вірогідно перевищувала число випадків з фокальною та негативною реакцією (в 4 та 24 рази відповідно). У переважній більшості випадків з дифузним типом реакції визначалась інтенсивна змішана реакція в клітинах всієї товщі епітелію. Середня кількість позитивних клітин склала 92%. Таким чином, експресія білка $p16^{INK4a}$ значно зростала з підвищенням ступеня диспластичних змін в епітеліальних клітинах, уражених ВПЛ, що підтверджує дані про те, що $p16^{INK4a}$ є маркером завершеності процесів онкотрансформації.

При оцінці ІГХ реакцій з Кі-67 підраховували індекс проліферації (ІП). Кількість Кі-67(+) ядер у ЕШМ жінок контрольної групи (група I) не перевищувала 3%. При наявності ВПЛ інфекції, але без ДШМ (група II) кількість Кі-67(+) клітин коливалась від 5% до 12%. При ДШМ I ступеня (група III) кількість Кі-67(+) ядер коливалась від 5% до 20%, розташовувались вони переважно в парабазальному шарі, окремі клітини з інтрануклеарною реакцією зустрічались і в базальному шарі. Середнє значення ІП при ДШМ I (група III) достовірно перевищувало відповідне значення в нормальному епітелії (група I) ($p<0,05$). IV групу дослідження із спостереженнями ДШМ II ступеня у порівнянні з групою III характеризувало значне збільшення ІП з аналогічним зростанням інтенсивності ІГХ мітки. Позитивно забарвлені клітини займали від третини до двох третин товщі епітеліального шару ШМ. Кількість клітин з Кі-67(+) реакцією значно коливалась і складала 8-50%. Для даного ступеня ДШМ характерним було зростання числа Кі-67(+) ядер у різних шарах ЕШМ, при цьому основна маса клітин, що містили ІГХ мітку, локалізувалась у центральних ділянках епітеліального шару. ІП у переважній більшості випадків ДШМ II у жінок з групи III складав 15% - 40%. Зустрічались окремі випадки, в яких ІП був більшим за 50% поряд із спостереженнями, де ІП не перевищував 10%, а інтенсивність реакцій розцінювалась як помірна. При наявності ДШМ III (група V) кількість клітин з позитивною ядерною реакцією на Кі-67 значно збільшувалась. Позитивно забарвлені клітини займали майже всю товщу ЕШМ, кількість клітин з Кі-67(+) реакцією склала 69%.

При оцінці ІГХ реакцій з p63 (маркер базального диференціювання), крім кількісної оцінки рівня експресії також враховували розподіл забарвлених клітин у шарах епітелію, що досить показово відображало рівень базальноклітинної гіперплазії та порушення процесів диференціювання багатошарового плоского епітелію. У жінок з ВПЛ-інфекцією без дисплазії (група II) кількість епітеліоцитів з наявністю ядерної експресії онкопротеїна p63 майже у 2 рази перевищувала її у здорових жінок (група I)

та складала близько 15%. В усіх випадках експресія p63 спостерігалась у базальному шарі, що вказувало на наявність початкових процесів онкотрансформації ще до виникнення цитологічних та гістологічних ознак дисплазії. При ДШМ I з ВПЛ (група III) індекс експресії p63 більш ніж у 3 рази перевищував цей показник у жінок контрольної групи. Частота p63(+) ядер коливалась від 20% до 40%, усі вони переважно розташовувалися в базальному та парабазальному шарах. У жінок з наявністю ДШМ II з ВПЛ (група IV) відзначено ще більше зростання експресії онкопротеїну p63, середній рівень якого (55,2±1,4%) був у 1,5 рази більше аналогічного показника при ДШМ I з ВПЛ (група III) та майже у 9 разів ($p<0,05$) – у здорових жінок (група I). Для даного ступеня дисплазії характерним було зростання числа p63(+) ядер у різних шарах ЕШМ: 70-75% клітин з інтрануклеарною реакцією розташовувалися в нижній третині ЕШМ, біля 20-25% – в середній третині і 5% – у поверхні. При ДШМ III з ВПЛ (група V) позитивно реагуючі клітини до маркеру p63 зустрічались у всіх шарах епітелію, але найбільш висока інтенсивність реакції нами була визначена головним чином у базальному та парабазальному шарах. Кількість диспластично змінених клітин з ядрами, в яких експресувався p63, склала в середньому 76,4±2,2% і таким чином свідчила про значні порушення диференціювання ЕШМ при даному типу дисплазії.

При аналізі результатів дослідження експресії VEGF (фактор росту ендотелію судин), від якого залежить ріст та подальша прогресія диспластичних процесів ЕШМ, встановлено, що у здорових жінок (група I) та жінок з ВПЛ без ДШМ (група II) в жодному з випадків ми не спостерігали експресії VEGF. При ДШМ I с ВПЛ (група III) у більшості випадків специфічне VEGF забарвлення не спостерігалось, або було незначним, що дало нам підстави для віднесення цього ознаку до негативного статусу. В окремих спостереженнях цієї групи ми виявили помірне, з ділянками інтенсивного, забарвлення до VEGF ядер та цитоплазми окремих зон ЕШМ, яке умовно віднесли до позитивного статусу. В жодному випадку ДШМ I з ВПЛ не спостерігалось інтенсивної тотальної реакції в ЕШМ. У пацієнток з ДШМ II з ВПЛ (група IV) в більшості спостережень, як і при ДШМ I, не визначив наявність реакцій в клітинах ЕШМ. В той же час, у підлеглих тканинах спостерігалось забарвлення помірної та слабкої інтенсивності в усіх ушкодженнях, реакція в стромі була завжди вище, ніж в епітелії.

Помірна та інтенсивна експресія VEGF спостерігалась лише у жінок з ДШМ III (група V). У більшості випадків помірне та інтенсивне забарвлення було характерним для базального та парабазального шарів епітелію. Загалом, позитивна експресія VEGF у цієї групи жінок спостерігалася у 42%.

Таким чином, при дослідженні випадків з ВПЛ ВКР без ДШМ найбільш характерним був наступний імунофенотип: негативна експресія $p16^{INK4a}$, VEGF, низький рівень проліферативної активності та експресії p63, переважно позитивна експресія ER та в меншій мірі PgR. Імовірно, що подібний імунофенотип, на наш погляд, притаманний більш уповільненому перебігу захворювання з низьким ризиком розвитку диспластичних змін у ЕШМ, відносно сприятливим прогнозом і вірогідністю спонтанної елімінації ВПЛ-інфекції. Такий імунофенотип ми визначили як **«регресивний»**. У жінок з дисплазією I ступеня тяжкості регресивний імунофенотип був характерним для більш як половини випадків диспластичних ушкоджень епітелію ШМ, але близько у 40% жінок ми спостерігали інші результати експресії цих маркерів: фокальний або дифузний тип експресії онкопротеіна p16, помірна експресія Кі 67 та p53,

слабка експресія VEGF, зниження експресії рецепторів стероїдних гормонів, причому в переважній більшості цих випадків ми спостерігали сполучення кількох нехарактерних варіантів експресії різних маркерів. Імовірно, що такий імунофенотип вказує на зростання активності проліферативних та мутагенних процесів у ЕШМ внаслідок їх ВПЛ-інфікування і високий ризик прискореної трансформації легких дисплазій в більш тяжкі форми і неоплазію. Такий імунофенотип ми визначили як **«прогресивний»**.

З метою вирішення задачі прогнозування перебігу ДШМ з ВПЛ-асоціацією нами була здійснена спроба розробки комп'ютерної математичної моделі із використанням пакету статистичних програм Statistica 7.0 (StatSoft Inc., USA). Було побудовано дві окремі моделі, засновані на даних обстеження 76 жінок групи III з ДШМ I з ВПЛ (модель 1), 50 жінок групи IV з ДШМ II з ВПЛ (модель 2) та відносних ризиків переходу їх у ДШМ III та преінвазивний РШМ (група V – 46 жінок).

Як метод моделювання була обрана множинна бінарна логістична регресія, оскільки вона є оптимальною для прогнозування бінарних перемінних (регрес/прогрес, або видужання/не видужання) та дає можливість точно оцінити ризики прогресування або регресу передракових процесів ЕШМ. Як залежна перемінна, було обрано одужання наприкінці спостереження (1 – одужання, 0 – пролонгація хвороби). В якості критеріїв були обрані наступні 4 ІГХ показники - експресія ER, експресія $p16^{INK4a}$, експресія p63, експресія Ki-67. При будуванні математичних моделей був прийнятий рівень статистичної значущості $p<0,05$.

При інтерпретації результатів математичної моделі для ДШМ I параметри $p16^{INK4a}$, ER та p63 були більш інформативними, ніж Ki-67 (найменше відношення шансів). Так, зменшення експресії естрогенових рецепторів і підвищення експресії $p16^{INK4a}$, p63 та Ki-67 асоційовано з підвищеним ризиком прогресування ДШМ I (легкого ступеня) і неодужанням жінок групи I. Рівень статистичної значущості P для побудованої моделі становив <0,0001.

Отже, побудована математична модель дозволила з імовірністю 94,7% прогнозувати регрес ДШМ I з ВПЛ або повного одужання, та з імовірністю 84,2% прогнозувати пролонгацію хвороби у цього контингенту хворих. Загальна точність прогнозування за допомогою побудованої моделі склала 89,47%.

При інтерпретації результатів математичної моделі для ДШМ II параметри $p16^{INK4a}$, ER та p63 були більш інформативними, ніж Ki-67. Зменшення експресії естрогенових рецепторів і підвищення експресії $p16^{INK4a}$, p63 та Ki-67 було асоційовано з підвищеним ризиком прогресу неоплазії ШМ, або нездужання. Рівень статистичної значущості P для побудованої моделі становив 0,0017, що говорить про вірогідність та дієздатність логістичної регресії для прогнозування одужання.

Отже, побудована математична модель дозволила з імовірністю 71,4% прогнозувати регрес захворювання, або одужання, та з імовірністю 97,7% прогнозувати пролонгацію хвороби у жінок з ДШМ II з ВПЛ. Загальна точність прогнозування за допомогою побудованої моделі склала 94,0%.

Таким чином, за допомогою побудованих моделей для ДШМ I і II вдалося достатньо об'єктивно і ефективно прогнозувати перебіг ДШМ на тлі ВПЛ-інфекції, як у бік регресу захворювання, так і у бік прогресу і пролонгації неоплазії ЕШМ. Так, загальна точність прогнозування для ДШМ I з ВПЛ склала 89,47%, для ДШМ II з ВПЛ

– 94,0%. Проведені дослідження і математичне моделювання дозволили нам запропонувати робочу гіпотезу, що ефект медикаментозної терапії можливо очікувати лише у жінок з регресивною моделлю ІГХ фенотипу перебігу ДШМ, в той час як при прогресивній моделі перебігу неоплазії, як при ДШМ І, так і при ДШМ ІІ доцільним варіантом терапії може бути тільки хірургічна деструкція ділянки інтраепітеліального диспластичного ураження.

Для визначення оптимальної схеми лікування ДШМ асоційованих з ВПЛ-інфекцією нами проведено вивчення впливу лікування із застосуванням препарату інтерферону та ізопринозину на повноту та терміни елімінації ВПЛ ВКР за результатами ВПЛ-тесту у інфікованих жінок, які не мали цитологічних і морфологічних ознак ДШМ. Згідно цього завдання 105 жінок, які при розподілі за критерієм наявність/відсутність ДШМ увійшли до групи ІІ (ДШМ без ВПЛ), були поділені наступним чином: до підгрупи ІІа було включено 50 ВПЛ-інфікованих жінок, які отримували лікування інтерфероном рекомбінантним людини альфа 2β за схемою галузевого клінічного протоколу (Наказ МОЗ України №676), до підгрупи ІІб - 55 жінок, які за по інформованим узгодженням отримували курс запропонованої нами комбінованої терапії, що включала поряд з препаратом інтерферону противірусний препарат «Ізопринозин». Курс лікування інтерфероном проводився протягом 10 діб у вигляді щоденних інтрацервікальних ін’єкцій препарату інтерферону альфа-2b рекомбінантного.

Курс лікування ізопринозином, що являє собою імуномодулятор з противірусними властивостями, складався з перорального прийому препарату по 1000 мг 4 рази на добу також протягом 10 діб. Ефективність лікування оцінювали за результатами тестування на ВПЛ ВКР через 1 місяць, а у разі відсутності позитивної динаміки - через 1 місяць після повторного аналогічного курсу терапії. Згідно отриманих результатів проведеного дослідження, одного курсу терапії інтерфероном протягом 10 діб недостатньо для знищення збудника і навіть повторний курс терапії не вирішує цю проблему, бо інфікованими ВПЛ ВКР після закінчення лікування залишається досить значна частка жінок – 44%.

Застосування комбінації препаратів інтерферону і ізопринозину (підгрупа ІІб) в лікуванні ВПЛ-інфекції виявилося більш ефективним у порівняні з монотерапією інтерфероном (підгрупа ІІа), про що свідчить достатньо високий відсоток випадків (87,3%) повної елімінації збудника вже після 1 курсу лікування, та практично повного одужання у 92,7% після 2 курсу терапії.

Вірогідної різниці ($p>0,05$) в досліджених показниках імунітету при лікуванні інтерфероном (група ІІа) і в комбінації інтерферону з ізопринозином (група ІІб) виявлено не було. Це стосувалось як гуморальної, так і місцевої ланки імунітету. Таким чином, ефект лікування, що спостерігався у досліджених нами жінок був більш пов'язаний з прямою противірусною дією обох препаратів, а не з імуномодулюючим їх впливом.

Для визначення впливу запропонованої нами терапії у жінок репродуктивного віку аналогічна схема комбінованої противірусної і імуномодулюючої терапії проведена у жінок з різними ступенями ДШМ. У якості критеріїв ефективності такого медикаментозного лікування ДШМ, поряд з ВПЛ-тестом, застосовано критерії цитологічного і морфологічного стану епітелію ШМ, визначення ІГХ маркерів.

За результатами цитологічного і морфологічного дослідження матеріалу ШМ

проведеного через місяць після курсу лікування за запропонованою нами схемою відбулось повне одужання у 56 (73,7%) жінок із слабкою (група III) та у 22 (44%) жінок з помірною ДШМ (група IV). Не було відмічено і рецидиву захворювання в наступні 12 місяців спостереження за даною групою хворих.

Слід зауважити, що незважаючи на те, що ефективність терапії була майже в 1,6 рази вище в групі з ДШМ I ніж ДШМ II, у 3 (3,9%) жінок групи III, не зважаючи на проведене лікування, спостерігався перехід ДШМ легкої у категорію помірної, в той час як перехід ДШМ помірної (група IV) в тяжке ураження ЕШМ відбулося лише в 1 (2%) випадку. В той же час, при наявності ДШМ II (група IV) після лікування ми спостерігали у частки жінок (12%) перехід помірної форми ДШМ в категорію слабкої.

Аналіз ефективності медикаментозної терапії був проведений і у ракурсі визначених нами різних імунофенотипів ДШМ – «регресивного» і «прогресивного». Серед вилікуваних хворих, у яких ДШМ після лікування за даними морфологічного дослідження біоптату ШМ були не виявлені, в переважній більшості (96,4-98,2%) зустрічалися варіанти «регресивного» імунофенотипу. В той же час, у пацієнток з «прогресивним» імунофенотипом відсоток одужавших жінок був незначним - від 1,8% до 9,1%, в залежності від рівня експресії окремих ІГХ маркерів.

Таким чином, робоча гіпотеза щодо прогнозування результатів медикаментозного лікування на підставі визначення імунофенотипу ДШМ у жінок репродуктивного віку була підтверджена клінічними результатами лікування, при цьому точність прогнозу позитивного результату лікування при «регресивному» імунофенотипі склала з поправкою на помилковохибні результати – 97,3%, а точність прогнозу негативного результату при «прогресивному» імунофенотипі - 91,2%.

«Прогресивний» статус імунофенотипу притаманний персистенції ВПЛ-інфекції з інтеграцією ДНК вірусу у геном цервікального епітелію з його нестабільністю і накопиченням мутантних клітин. Консервативна терапія з застосуванням імуномодуляторів і противірусних засобів при цих станах майже не впливає на позитивну ремодуляцію уражених клітин. Виправданою терапією при «прогресивному» імунофенотипі у жінок з ДШМ як легкими, так і помірними її проявами залишається лише хірургічна деструкція осередку інтраепітеліального диспластичного ураження.

Так, у зв’язку з відсутністю або незначного ефекту від консервативного лікування у 20 (26,3%) досліджених жінок з легкою і у 28 (56%) – з помірною ДШМ (відповідно групи III і IV) було здійснено хірургічну деструкцію або ексцизію ШМ. Таким чином, частота хірургічного лікування ДШМ у групі IV була у 2,1 рази вище ніж у жінок групи III ($p<0,05$), і в той же час, консервативна терапія дозволила уникнути оперативного втручання майже у 2/3 жінок с легкою та половині жінок з помірними ураженнями ЕШМ на тлі ВПЛ-інфікування.

Визначений нами «регресивний» тип імуноморфотипу, на нашу думку, свідчить про переважно епісомальну форму ВПЛ-інфікування без значної втрати контролю за процесами проліферації і апоптозу уражених клітин. Лікувальний ефект консервативного лікування при цих станах ми пов’язуємо перш за все з елімінацією вірусу і зниженням вірусної напруги, і як слідство, зменшення ризику інтеграції ВПЛ у геном хазяїна з накопиченням мутантних епітеліоцитів. Методом вибору лікування при «регресивному» імунофенотипі у жінок з ДШМ як легкими, так і помірними її проявами, може бути консервативний шлях з застосуванням противірусних і імуномоделюючих

препаратів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі подано нове рішення актуальної задачі сучасної гінекології – підвищення якості діагностики і лікування передракових захворювань шийки матки у жінок репродуктивного віку. На підставі вивчення клініко-анамнестичних даних, стану імунної системи, гормонального гомеостазу, цитологічних і морфологічних особливостей епітелію шийки матки з ВПЛ-інфікуванням та імуногістохімічного дослідження маркерів естрогенових і прогестеронових рецепторів, проліферації, онкогенної трансформації, диференціювання, неоваскулогенезу розроблено новий методичний підхід до прогнозування клінічного перебігу та вибору методів лікування диспластичних уражень шийки матки асоційованих з ВПЛ-інфекцією в залежності від їх імунофенотипу, що сприяло зниженню частоти пролонгації і рецидивів передракових захворювань та підвищенню якості профілактики раку шийки матки.

1. На підставі клініко-статистичного аналізу результатів скринінгового дослідження 67246 жінок встановлено, що розповсюдженість ДШМ склала 12 випадків на 1000 (1,18%), преінвазивних форми РШМ – 3 випадки на 1000 жінок фертильного віку (0,3%), до того ж ризик розвитку РШМ на протязі наступних 10 років мала кожна друга жінка з ДШМ III ступеня та кожна третя – з ДШМ I-II. При цитологічному і морфологічному дослідженні біоптату візуально інтактної шийки матки були визначені диспластичні зміни у 58,8% жінок вперше і у 14,1% пацієнток, які проходили лікування з приводу ДШМ в минулому, що свідчить про недосконалість існуючих діагностичних критеріїв та недостатню ефективність лікувально-профілактичних заходів. У 72,4% пацієнток ДШМ та преінвазивний РШМ асоціювалися з ВПЛ-інфекцією, частіше 16 типу (58,2% випадків), 18 типу (14,3%) і 45-й типу (7,7%). Відмінності по частоті виявлення ВПЛ в групах жінок з ДШМ і РШМ були несуттєві ($p>0,05$), що свідчить про єдину вірусну природу, як ДШМ, так і РШМ, а також необхідність включення в схеми їх лікування ефективних противірусних препаратів.

2. Показники стандартної імунограми CD3, CD4, CD8, ЦІК, IgA, IgM, IgG та середні концентрації гонадотропних і статевих гормонів у фолікулярну та лютеїнову фази не мали статистично достовірної різниці у контрольної групи жінок без ВПЛ-інфекції, у пацієнток з ВПЛ без ДШМ та в підгрупах з ВПЛ-асоційованими ДШМ різного ступеня ($p>0,05$), що говорить про недостатню значущість цих показників, як критеріїв прогнозу клінічного перебігу ВПЛ-асоційованих ДШМ та оцінки ефективності їх терапії.

3. В епітелії шийки матки з ВПЛ-інфікуванням спостерігалися процеси прогресивної деградації естрогенових і прогестеронових рецепторів відповідно в 2,5 та 3 рази при ДШМ I, в 7,1 та 4,5 рази при ДШМ II, в 15,4 та 5,1 рази при ДШМ III у порівняні з інтактним епітелієм контрольної групи жінок без ВПЛ ($p<0,05$). Також для більшості жінок з ДШМ на тлі ВПЛ був характерним імунофенотип з високою фокальною або дифузною експресією онкопротеїну p16 (≥5%), підвищеною експресією Ki-67 (≥5%) і p63 (≥10%), позитивною експресією VEGF, який був визначений як «прогресивний», тобто пов'язаний із зростанням активності проліферативних та мутагенних процесів у епітелії шийки матки. Протилежний імунофенотип з параметрами експресії p16

(<5%), VEGF (негативна), Кі-67 (<5%), p63 (<10%), ER (≥10%) та PR (≥10%), що найбільш характерний для випадків ВПЛ-інфікування без передракових змін епітелію, був визначений як «регресивний», тобто притаманний уповільненому перебігу захворювання з відносно сприятливим прогнозом.

4. Математична модель перебігу ДШМ I і II ступеня на тлі ВПЛ-інфекції з урахуванням визначених імунофенотипів ДШМ дозволила сформувати прогноз регресу ураження (точність 97,3%), пролонгації інтраепітеліальної неоплазії (точність 91,2%) і з'ясувати, що ефект медикаментозної терапії можливо очікувати лише у жінок з «регресивною» моделлю імуногістохімічного фенотипу перебігу ДШМ, в той час як при «прогресивній» моделі, як ДШМ I так і ДШМ II доцільним підходом терапії може бути тільки хірургічна деструкція ділянки інтраепітеліального диспластичного ураження.

5. Результати лікування легкої і помірної ДШМ у жінок з ВПЛ-інфекцією із застосуванням противірусних і імуномоделюючих препаратів корелюють з визначеними імунофенотипами: при «регресивному» типі позитивний терапевтичний ефект спостерігався у 97,3% випадків наявності ДШМ I і у 95,4% - ДШМ II, в той час, як при «прогресивному» - відповідно у 2,7% і 4,6%. Застосування комбінації препаратів інтерферону і ізопринозину в лікуванні ВПЛ-інфекції виявилося більш ефективним (елімінація збудника після першого курсу лікування у 87,3% випадках, після повторного – у 92,7%) в порівняні з монотерапією інтерфероном (відповідно у 26% і 44%). Доведено, що обидва препарати суттєво не вплинули на гуморальну і місцеву ланку імунітету ($p>0,05$) у досліджених жінок, тому позитивний ефект лікування є наслідком прямої противірусної їх дії.

6. При відсутності або незначному ефекті від консервативного лікування у 20 (26,3%) досліджених жінок з легкою і у 28 (56%) – з помірною ДШМ було здійснено хірургічну деструкцію або ексцизію шийки матки: частота хірургічного лікування у пацієнток з ДШМ II була у 2,1 рази вище порівняно з ДШМ I ($p<0,05$), і в той же час при диференційованому підході до пацієнток з «прогресивним» і «регресивним» імунофенотипами ДШМ, консервативна терапія дозволила уникнути оперативного втручання майже у 2/3 жінок с легкою та половині жінок з помірними ураженнями епітелію шийки матки на тлі ВПЛ-інфікування без подальших рецидивів.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У всіх жінок репродуктивного віку з ВПЛ ВКР при цитологічних ознаках наявності дисплазії шийки матки під час цервікального скринінгу с метою уточнення тяжкості ураження, визначення ризику його прогресу, виду і об'єму лікувальних заходів окрім морфологічного дослідження біоптату шийки матки *доцільно*, а при рецидиві захворювання незалежно від періоду ремісії, або у разі зростання ступеня тяжкості дисплазії (від легкої до помірної чи тяжкої дисплазії), відсутності ефекту від проведеного лікування – *обов'язково*, проводити імуногістохімічне дослідження з маркерами Кі-67, p16, p63, ER, PR та VEGF з визначенням імунофенотипу диспластичних уражень.

2. У випадку отримання «регресивного» імунофенотипу з параметрами експресії p16 (<5%), VEGF (негативна), Кі-67 (<5%), p63 (<10%), ER (≥10%) та PR (≥10%))

прогноз перебігу захворювання вважати сприятливим і використовувати медикаментозне лікування з застосуванням противірусних і імуномоделюючих препаратів з обов'язковим контролем ефекту лікування через 5-6 тижнів. При наявності «прогресивного» варіанту (фокальна та дифузна експресія онкопротеіну p16 (≥5%), підвищена експресія Кі-67 (≥5%), p63 (≥10%), позитивна експресія VEGF, зниження експресії ER (<10%) та PR (<10%)) – прогноз перебігу захворювання вважати несприятливим і застосовувати методи хірургічної деструкції осередків інтраепітеліального диспластичного ураження шийки матки незалежно від його ступеня тяжкості.

3. При виборі засобів консервативного лікування рекомендується віддавати перевагу комбінації препаратів – ізопринозину з інтерфероном рекомбінантним людини альфа 2β - як найбільш ефективної. Лікування здійснювати на протязі 10 діб одним або двома курсами (в залежності від терапевтичного ефекту) за наступною схемою:

- інтрацервікальні ін'єкції інтерферону альфа-2b рекомбінантного один раз на добу на протязі 10 діб на один курс лікування.
- ізопринозин 1000 мг 4 рази на добу на протязі 10 днів на один курс лікування.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Шпонька О.В. Прогнозування ризику онкотрансформації та результатів медикаментозної терапії у жінок із дисплазією епітелію шийки матки / О.В. Шпонька // Медичні перспективи. – 2010. - Т. 15, № 1. – С. 1-4. *(Особистий внесок: робота виконана самостійно)*.
2. Шпонька О.В. Досвід медикаментозного лікування високо онкогенної ВПЛ-інфекції шийки матки / В.О.Потапов, О.В Шпонька // Здоровье женщины.- 2010.- №7 (53).- С. 198-200. *(Особистий внесок: методика, лікування хворих, статистична обробка матеріалу)*.
3. Шпонька О.В. Експресія рецепторів естрогену і прогестерону в цервікальних інтраепітеліальних неоплазіях / О.В. Дорохова, О.В. Шпонька, О.І. Ханіна // Морфологія. - 2007. - Т. 1, № 2. - С. 41-46. *(Особисто здобувачем виконано клінічну частину, проаналізовано результати морфологічного дослідження, статистична обробка даних).*
4. Шпонька Е.В. Прогностическое значение экспрессии p16INK4a, Ki67, p53, VEGF в цервикальных интраэпителиальных неоплазиях / Е.В. Дорохова, Е.В. Шпонька, В.А. Потапов // Патология шейки матки и генитальные инфекции – от теории к практике: Сб. науч. тр. (мат-лы Рос. науч.-практ. конф.).- Москва, 2007.- С. 25. *(Особисто здобувачем виконано клінічну частину, проаналізовано результати імуноморфологічного дослідження, статистична обробка даних)*.
5. Шпонька О.В. Прогностичне та діагностичне значення експресії VEGF при диспластичних та неопластичних процесах шийки матки / О.В. Дорохова, О.В. Шпонька, В.О. Потапов та ін. // Патологія. - 2006. - Т. 3, № 3. - С. 32-36. *(Пошукувачем особисто проведено аналіз отриманих даних та сформульовано загальні висновки)*.
6. Шпонька О.В. Прогностичне та діагностичне значення експресії маркерів біологічних властивостей тканин при диспластичних та неопластичних процесах шийки матки / І.С. Шпонька, О.В. Дорохова, О.В. Шпонька // Медичні перспек-

тиви. - 2005. - Т. Х, № 4.- С. 8-16. *(Пошукувачем особисто проведений літературний огляд).*

7. Пат. 21282 Україна, МПК А61В5/00. Спосіб прогнозування клінічного перебігу диспластичних і неопластичних процесів шийки матки / І.С.Шпонька, О.В.Шпонька, О.В.Дорохова, О.І.Ханіна, Б.Ю.Корнілов (Україна) - № 200608740; Заявл. 04.08.2006; Опубл. 15.03.2007. Промислова власність. Офіційний бюлетень.- 2007.- № 3.- 6 с. *(Особисто здобувачем проведена оцінка ступеня уражень ЕШМ, обробка та аналіз результатів дослідження).*

АНОТАЦІЯ

Шпонька О.В. Діагностика, прогноз та лікування дисплазій шийки матки, асоційованих з папіломавірусною інфекцією у жінок репродуктивного віку – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.01 – акушерство та гінекологія. – Науково-дослідний інститут медичних проблем сім'ї Донецького національного медичного університету ім. М. Горького МОЗ України, Донецьк, 2012.

В дисертації поглиблені та деталізовані данні стосовно епідеміологічних, клініко-морфологічних, імуногістохімічних особливостей диспластичних процесів ЕШМ, що допомагає розширити уявлення про біологічні властивості епітеліальних пухлин цієї локалізації, наведені та теоретично обґрунтовані причини онкогенної трансформації ЕШМ під впливом ВПЛ-інфекції, необхідність застосування в терапії диспластичних ушкоджень легкого та помірного ступеня не тільки противірусних, але і імуномоделюючих препаратів. Запропоновані діагностичні ІГХ критерії ДШМ з визначенням можливості їх використання в якості скринінгових і підтверджуючих методів при ВПЛ-інфікувані. Визначені «регресивний» та «прогресивний» імунофенотипи ВПЛ-асоційованих ДШМ, що дало підставу для розробки математичної моделі прогнозування перебігу захворювання і передбачення ефективності терапевтичних заходів в залежності від імунофенотипу. Доведена більша ефективність запропонованої комбінованої противірусної та імуномоделюючої медикаментозної терапії із застосуванням ізопринозину та інтерферону, в порівняні із стандартною монотерапією інтерфероном ($p<0,05$) у жінок з ВПЛ-асоційованими ДШМ І та ІІ ступеня.

Ключові слова: дисплазія шийки матки, вірус папіломи людини високого канцерогенного ризику, імуногістохімічні маркери, ізопринозин.

АННОТАЦИЯ

Шпонька О.В. Диагностика, прогноз и лечение дисплазии шейки матки, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией у женщин репродуктивного возраста - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 - акушерство и гинекология. - Научно-исследовательский институт медицинских проблем семьи Донецкого национального медицинского университета им. М.Горького МЗ Украины, Донецк, 2012.

В диссертации углублены и детализированы данные по эпидемиологическим,

клинико-морфологическим, иммуногистохимическим особенностям диспластических процессов ЭШМ, что поможет расширить представление о биологических свойствах эпителиальных опухолей этой локализации, приведены и теоретически обоснованы причины онкогенного трансформации ЭШМ под влиянием ВПЧ-инфекции, необходимость применения в терапии диспластических повреждений легкой и средней степени не только противовирусных, но и иммуномодулирующих препаратов.

Определено, что наличие ВПЧ-инфекции существенно не влияет на иммунный статус женщин в связи с преимущественно местным поражением эпителия шейки матки, отсутствием вирусемии и низкой иммуногенностью папилломавирусов в целом и показатели стандартной иммунограммы имеют недостаточную значимость для прогноза клинического течения и оценки эффективности терапии ДШМ на фоне ВПЧ-инфекции. Также диспластические поражения ЭШМ не являются гормонзависимыми. Средние концентрации гонадотропных и половых гормонов в сыворотке крови женщин в фолликулярную и лютеиновую фазы достоверно не отличаются от их уровня у здоровых женщин ($p>0,05$). Поэтому предложены и обоснованы диагностические ИГХ критерии ДШМ с определением возможности их использования в качестве скрининговых и подтверждающих методов при ВПЧ-инфицировании. Определены «регрессивный» и «прогрессивный» иммунофенотипы ВПЧ-ассоциированных ДШМ, что дало основание для разработки математической модели прогнозирования течения заболевания и предсказания эффективности терапевтических мероприятий в зависимости от иммунофенотипа. Доказана большая эффективность предложенной комбинированной противовирусной и иммуномодулирующего медикаментозной терапии с применением изопринозина и интерферона, в сравнении со стандартной монотерапией интерфероном ($p<0,05$) у женщин с ВПЧ-ассоциированными ДШМ I и II степени.

Ключевые слова: дисплазия шейки матки, вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска, иммуногистохимические маркеры, изопринозин.

SUMMARY

Shponka O.V. Diagnosis, prognosis and treatment of HPV-associated cervical dysplasia in fertile females – Manuscript.

The thesis for scientific degree of candidate of medical sciences in speciality 14.01.01 – Obstetrics and Gynecology. – Scientific Research Institute for medical problems of family, Donetsk National Medical University named after M. Gorky, Donetsk, 2012.

The thesis is focused on reviewing and collecting epidemiological, clinical, morphological and immunohistochemical data on dysplastic cervical lesions, which aids in understanding of biological properties of cervical cancer. Also, we review the biological basis for HPV-associated oncogenic transformation of cervical epithelium and advocate the use of immunomodulators in addition to antiviral therapy for the treatment of mild and moderate dysplastic cervical lesions. We suggest the immunophenotype-based schema for diagnosing cervical dysplasia,

which can be used as a screening, as well as a confirmatory test for HPV-infection. We also identified the two major immunophenotypic patterns of HPV-associated cervical dysplasia - the so called “regressive” and “progressive” ones. We used the above division as a basis for the differential approach to the treatment of HPV-associated cervical dysplasia, as well as the basis for predicting prognosis and treatment efficacy. We demonstrated the benefits of combined immunomodulating and antiviral treatment with isoprinosine and interferon, over the standard monotherapy with interferon ($p<0,5$) in patients with HPV-associated cervical dysplasia of grade I and II.

Key words: cervical dysplasia, human papillomavirus of high oncogenic potantial, immunohistochemical markers, isoprinosine.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ER - естрогенові рецептори
PgR - прогестеронові рецептори
VEGF - фактор росту ендотелію судин
ВПЛ ВКР - віруси папіломи людини високого канцерогенного ризику
ДШМ – дисплазія шийки матки
ЗЗОМТ - запальні захворювання органів малого тазу
ІГХ – імуногістохімія/імуногістохімічний
ІП - індекс проліферації
ЕШМ - епітелій шийки матки
ПЛР - полімеразна ланцюгова реакція
РШМ - рак шийки матки
ШМ - шийка матки