

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет медико-фармацевтичних технологій
кафедра клінічної лабораторної діагностики

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки»**

Виконав: здобувач вищої освіти групи ЛД20(1,5д) 01
спеціальності 224 Технології медичної діагностики та
лікування

освітньої програми Лабораторна діагностика

Юлія ФЕРЕНЧУК

Керівник: доцент закладу вищої освіти кафедри клінічної
лабораторної діагностики, к.м.н., доцент

Ганна ЛИТВИНЕНКО

Рецензент: доцент закладу вищої освіти кафедри
фармакології та фармакотерапії

к.мед.н., доцент

Оксана РЯБОВА

Харків – 2023 рік

ЗМІСТ

ЗМІСТ.....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	4
I РОЗДІЛ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Загальна характеристика доброякісних та передракових захворювань шийки матки.....	7
1.2. Сучасні методи діагностики захворювань шийки матки	19
1.3. Методи цитологічної лабораторної діагностики передракових захворювань шийки матки.....	22
Висновок до розділу I.....	24
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	26
2.1. Цитологічні методи дослідження шийки матки.....	26
2.2. Рідинна цитологія.....	32
2.3. ВПЛ-тестування.....	36
2.4. Проведення ВПЛ-тесту у комплексі з цитологічним дослідженням.....	40
Висновок до розділу II.....	41
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	43
3.1. Характеристика досліджуваних цитологічних мазків методом традиційного цитологічного дослідження та методом рідинної цитології захворювань шийки матки	43
3.2. Дослідження наявності на ВПЛ методом ПЛР-реакції	45
3.3. Характеристика бактеріологічного дослідження мазків	46
Висновок до розділу III.....	47
ВИСНОВКИ.....	48
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	49
ДОДАТКИ.....	56

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ШМ – шийка матки

РШМ – рак шийки матки

МСКХ – міжнародна статистична класифікація хвороби

ФЗШМ – фонові захворювання шийки матки

ГКП – гістологічна класифікація пухлин

ВПЛ – вірус папіломи людини

ЦІН – цервікальна інтраепітеліальна неоплазія

ЦЕ – циліндричний епітелій

ЕК – епітеліальні клітини

ЦІН I – слабка дисплазія

ЦІН II – помірна дисплазія

ЦІН III – тяжка дисплазія

ДШМ – дисплазія шийки матки

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція

УЗД – ультразвукове дослідження

ІПСШ – інфекції, що передаються статевим шляхом

CIN – Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервікальна інтраепітеліальна неоплазія)

CIN2-3/CIS – важкі цервікальні інтраепітеліальні неоплазії, що включають преінвазивний рак

ВСТУП

Актуальність

У діагностиці захворювань шийки матки (ШМ) застосовуються різні методи, серед яких найбільш доступними для практики є клініко-візуальний метод, кольпоскопія, молекулярно-біологічне дослідження, цитологічне дослідження епітелія шийки матки та гістологічне дослідження прицільно забраного біоптата шийки матки. Поряд із цим, актуальними залишаються пошук та впровадження нових технологій ранньої діагностики новоутворень шийки матки.

За кількістю захворювань серед жіночого населення у світі рак шийки матки (РШМ) в 2022 р. займає четверте місце (6,5% - 13 випадків на 100 тис. жіночого населення) серед інших онкологічних захворювань. Частіше хворіють жінки у віці від 50 до 60 років. Високий рівень захворюваності часто поєднується з хронічними запальними захворюваннями внутрішніх статевих органів.

Щорічно в Україні реєструється близько 4 тисячі нових хворих і вмирає близько 2,5 тисячі хворих РШМ, серед них до 700 – жінки репродуктивного віку. Найчастіше хвороба поєднана зі збудниками генітальних інфекцій та виникає у віці після 35 років.

Згідно з даними зарубіжної літератури, папіломавірусна інфекція геніталій зустрічається у 44,3% жінок, які звертаються в гінекологічні клініки, а захворювання ШМ, часто асоційовані з ВПЛ – у 50-80 % пацієнток протягом життя та в 99,7 % випадків при підтвердженому раку ШМ.

У країнах Європи щорічно реєструється 554 тис. випадків захворювань, спричинених ВПЛ, у т.ч. цервікальних інтраепітеліальних неоплазій легкого ступеня (CIN I), генітальних бородавок, CIN середнього та важкого ступеня (CIN II та III) [19].

Цитологічні методи дослідження в діагностиці захворювань жіночих статевих органів загальновідомі та широко використовуються завдяки їх

доступності, високій ефективності та інформативності. Цитологічне дослідження дозволяє знизити захворюваність та смертність на рак шийки матки. Однак, даний традиційний цитологічний метод має певні недоліки, які частково пов'язані з неадекватним забором матеріалу та інтерпретацією цитологічної картини, хибнопозитивними та хибнонегативними висновками.

Враховуючи варіабельність результатів традиційних скринінгових досліджень із застосуванням ПАП-тесту, все частіше застосовується нова стандартизована технологія виготовлення цитологічного препарату.

За даними літератури відомо, що методика рідинної цитології зменшує число хибних результатів порівняно з ПАП-тестом, підвищує відсоток діагностованого цервікального раку і, незважаючи на певні фінансові затрати, є доцільною в обстеженні жінок груп ризику.

Мета дослідження – провести оцінку традиційного цитологічного дослідження та методу рідинної цитології у діагностиці захворювань шийки матки.

Завдання дослідження:

1. Оцінити цервікальні мазки із застосуванням традиційної цитології.
2. Оцінити цервікальні мазки за допомогою методу рідинного цитологічного дослідження.
3. Проведення ВПЛ у комплексі з полімеразної ланцюговою реакцією (ПЛР).
4. Оцінити результати клініко-лабораторних досліджень методом варіаційної статистики.

Об'єкт дослідження: Підготовлені марковані (штрихокодовані) препарати з відповідним супровідним документом, які були направлені в «Центр лабораторної медицини».

Предмет дослідження: Клітинний матеріал із перехідної зони ендцервіксу, який відокремлювали, центрифугували та після автоматичного нанесення клітинної суспензії на скло отримували препарати, які досліджували на дослідницькому мікроскопі "Olympus BX-15" (Японія).

Методи дослідження: В нашій роботі використовували цервікальні мазки, які оцінювали за допомогою методу рідинного цитологічного дослідження (ПАП-тест) та полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) на ВПЛ-інфікування.

Практичне значення: провести оцінку традиційного цитологічного дослідження та методу рідинної цитології у діагностиці захворювань шийки матки.

Практичне значення отриманих результатів. За отриманими результатами дослідження оцінили кількість і характер співпадінь і невідповідностей результатів двох цитологічних методик. Встановили, що отримання повноцінного матеріалу, підвищує якість приготування препаратів, що дозволяє значно підвищити якість діагностики.

Елементи наукових досліджень. Автором самостійно проведені дослідження, оцінена кількість і характер співпадінь і невідповідностей результатів двох цитологічних методик. Встановлено, що співпадиння результатів цитологічних заключень спостерігалось у 67,0% випадків.

Апробація результатів дослідження і публікацій. За темою кваліфікаційної роботи тези доповідей представлено в матеріалах та отримано сертифікат учасника (Додаток 1).

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається зі змісту, переліку умовних позначень, вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Текст викладений на 55 сторінках. У бібліографії подано 63 джерела наукової літератури, з них іноземних джерел – 25. Отримані дані проілюстровані рисунками.

РОЗДІЛ І

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Загальна характеристика доброякісних та передракових захворювань шийки матки

Доброякісні та передракові захворювання шийки матки займають важливе місце серед гінекологічних захворювань. Давно відомо, що патології шийки матки «молодіє» — все більше молодих жінок, які ще не народжували, звертаються до гінекологів за вирішенням делікатних проблем [34]. Не можна забувати ще один важливий факт: захворювання шийки матки переходять в онкологію, про існування якої навіть не підозрюють.

Серед найпоширеніших злоякісних новоутворень у жінок є рак шийки матки (РШМ). Причиною РШМ є вірус папіломи людини (ВПЛ). Онкогенні підтипи ВПЛ 16/18 виявляються у більшості хворих на РШМ. У 70-80% хворих на інвазивний РШМ діагностується плоскоклітинний рак, 10-20% - аденокарцинома і у 10% - низькодиференційований рак. Інші гістологічні типи злоякісних пухлин шийки матки становлять не більше 1%.

Рак шийки матки належить до потенційно запобіжних захворювань, що підлягають високоефективному та економічно доцільному скринінгу [10, 50].

Виділяють три ступені диференціювання РШМ:

G1 – високодиференційована

G2 – помірковано диференційована

G3 – низькодиференційована або недиференційована

Стадування раку шийки матки, встановлюється за клінічними даними на підставі наступних обстежень: огляд, пальпація, кольпоскопія, зішкріб цервікального каналу, гістероскопія, цистоскопія, ректоскопія, внутрішньовенна урографія, рентгенологічне дослідження органів грудної клітки та кісток скелета, при необхідності дані УЗД, КТ, МРТ, ПЕТ-КТ та лапароскопії.

Клінічна стадія РШМ визначається за морфологічною стадією, номенклатура TNM, що представлена в класифікації.

Класифікація РШМ по стадіях (FIGO) та поширеності пухлинного процесу (TNM).

- **TNM-FIGO**

- TX - Недостатньо даних для оцінки первинної пухлини

- T0 - Первинна пухлина не визначається

- Tis - Рак in situ, преінвазивний рак (ці випадки не входять до статистики захворюваності на рак шийки матки)

T1 - Стадія I Пухлина обмежена маткою (поширення на тіло матки не враховується).

(T1a – IA Діагноз ставиться тільки при гістологічному дослідженні).

T1a1 – IA1 Глибина інвазії не більше 3 мм (мікроінвазивний рак). Горизонтальне поширення має перевищувати 7 мм, інакше пухлина слід відносити до стадії IB.

T1a2 – IA2 Глибина інвазії більше 3 мм, але не більше 5 мм (вимірюється від базальної мембрани поверхневого або залізистого епітелію). Горизонтальне розповсюдження не повинно перевищувати 7 мм, інакше пухлина слід відносити до стадії IB.

T1b - IB Глибина інвазії понад 5 мм.

T1b1 - IB1 Розміри пухлини не більше 4 см.

T1b2 - IB2 Розміри пухлини понад 4 см.

T2 - Стадія II Пухлина, що поширилася за межі матки, без переходу на стінки тазу та ураження нижньої третини піхви.

T2a - IIA Без залучення параметра.

T2a1 - IIA1 Розміри пухлини не більше 4 см.

T2a2 - IIA2 Розміри пухлини більше 4 см.

T2b - IIB із залученням параметрів.

T3 - Стадія III Пухлина, що залучає стінки тазу (при ректальному дослідженні відсутній простір між пухлиною і стінкою тазу) або нижню

третину піхви, а також усі випадки раку шийки матки з гідронефрозом та ниркою, що не функціонує.

T3a - IIIA Залучення нижньої третини піхви.

T3b - IIIB Поширення на стінку таза або гідронефроз і нирка, що не функціонує.

Стадія IV Пухлина, що поширилася за межі тазу або проростає слизову оболонку сечового міхура або прямої кишки (бульозний набряк не дозволяє віднести пухлину до стадії IV).

T4 - IVA Проростання сечового міхура або прямої кишки.

M1 - IVB Віддалені метастази.

Стан регіонарних лімфатичних вузлів

NX - Недостатньо даних для оцінки

N0 - Ознак ураження регіонарних лімфатичних вузлів немає

N1 - Метастази у регіонарних лімфатичних вузлах

Віддалені метастази

M0 Віддалені метастази відсутні

M1 - Є віддалені метастази

- У класифікації FIGO стадію 0 (Tis) не застосовують.
- Стадії IA1 та IA2 діагностують на підставі результатів гістологічного

дослідження операційних препаратів переважно після тонізації шийки матки. При тонізації має бути видалена вся змінена вагінальна частина шийки матки. Якщо пухлина визначається макроскопічно, слід відносити її до стадії T1b. Глибина інвазії визначається від базальної мембрани, незалежно від того, виходить пухлина з поверхневого епітелію або із залозистого. Виявлення пухлинних емболів у судинах не змінює стадію, але має бути відбито у висновку гістологічного дослідження, оскільки може вплинути на тактику лікування. Поширення на тіло матки не враховується, оскільки перехід пухлини на тіло матки до операції дуже важко виявити.

При залученні параметрія стадія III діагностується тоді, коли інфільтрат параметрії має вузлову форму і доходить до стінки таза. За інших випадках

діагностується стадія ІІb. Слід наголосити, що при гінекологічному дослідженні судити про природу інфільтрату (запальний або пухлинний) неможливо.

Ранніми клінічними проявами РШМ є ясні водянисті білі та «контактні» кров'янисті виділення зі статевих шляхів. У жінок репродуктивного періоду життя можлива поява ациклічних кров'янистих виділень із статевих шляхів, у постменопаузі – періодичних чи постійних. У запущених випадках утворюються ректо-вагінальні та сечопузирно-вагінальні нориці, можуть пальпуватися метастатично змінені пахові лімфатичні вузли, можлива поява набряку однієї з нижніх кінцівок. Здавлення сечоводів пухлинними інфільтратами веде до розвитку гідронефрозу та уремії [20].

Клініко-анатомічні форми РШМ:

- **Екзофітні** - мають вигляд "цвітної капусти", легко кровоточать при контакті. Вони іноді заповнюють весь просвіт піхви, поширення на склепіння при таких пухлинах настає пізніше.

- **Ендофітні** - не розростається на поверхні шийки матки, поринають в товщу останньої, інфільтрують підслизову тканину, утворюючи щільні вузли. Шийка матки гіпертрофована, має бочкоподібну форму, щільна, темно-червоного кольору, з вираженою мережею поверхнево розташованих капілярів. Пухлинний процес швидко поширюється на слизову оболонку вагінальних склепінь, проростає у стінку шийки матки і проникає спочатку в параметральну клітковину, потім на найближчі, а пізніше і на більш віддалені лімфатичні вузли.

- **Інфільтративно-виразкові** - зустрічаються частіше при запущених стадіях РШМ і є наслідком розпаду та некрозу пухлини замість шийки матки утворюється кровоточива кратероподібна виразка, що сяє в глибині вагінальних склепінь. Параметральна клітковина в подібних випадках надзвичайно швидко залучається до процесу, тому ця форма раку є найбільш злоякісною.

- **Змішані форми** – пряме зростання та лімфогенне метастазування, які у термінальній фазі захворювання поєднуються з гематогенними метастазами. Для прямого зростання пухлини найбільш характерно проростання зв'язкового апарату матки та просторів клітковини тазу.

Етапи лімфогенного матастазування РШМ:

I етап – замикальні, зовнішні та внутрішні клубові лімфовузли;

II етап - загальні клубові лімфовузли;

III етап - поперекові лімфовузли; ретроградні метастази: пахові, верхні та нижні сідничні лімфовузли.

Дисплазія та преінвазивний РШМ не мають патогномонічних клінічних проявів і діагностуються тільки морфологічно (рис. 1).



Рис. 1. Плоскоклітинна папілома шийки матки.

Преінвазивний РШМ може бути виявлений при гістологічному дослідженні на візуально незмінній шийці матки на фоні дисплазії (рис. 2).

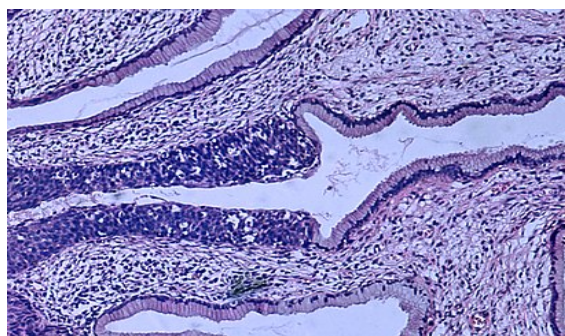


Рис. 2. Рак шийки матки.

До передракових станів відносять дисплазії епітелію (CIN або плоскоклітинні інтраепітеліальні ушкодження (ПІУ)), що передують інвазійному РШМ.

Дисплазія – це патологічний процес, при якому порушується здатність клітин до диференціювання, і в різних шарах епітелію з'являються клітини з різним ступенем атипії (ВООЗ). Основними цитологічними ознаками, що дозволяють провести диференціальну діагностику реактивних змін епітелію, дисплазії та раку,

є зміни в ядрах. Диспластичні зміни можуть виникати як у багатошаровому плоскому епітелії піхвової частини шийки матки, так і на ділянках плоскоклітинної метаплазії в зоні трансформації, а також у цервікальному каналі.

Термін "дисплазія" для позначення великої групи епітеліальних уражень шийки матки запропонований J.W. Reagan в 1953 р. Дисплазія включає цитологічний і гістологічний спектр поразок, що займають проміжне положення між CIS і нормальним епітелієм шийки матки.

За ступенем атипії та вираженості клітинних змін дисплазію поділяють на 3 категорії – слабку, помірну та важку.

Термінологія, що включає 3 ступеня дисплазії та CIS, була прийнята та затверджена ВООЗ у 1972 р. як цитологічна та гістологічна класифікації. Для позначення морфологічної безперервності дисплазії та CIS у 1968 р. R.M. Richart запропонував термін CIN. CIN чи ЦИН поділяють на три категорії:

- ЦИН I (відповідає слабкій дисплазії);
- ЦИН II (відповідає помірній дисплазії);
- ЦИН III (відповідає важкій дисплазії та раку на місці (CIS)).

Об'єднання важкої дисплазії та CIS в одну категорію виправдане через складність їх диференціювання. Морфологічна класифікація змін шийки матки, що викликаються ВПЛ, запропонована M.N. Schiffman (1995). Вона відповідає цитологічній класифікаційній системі Bethesda:

- доброякісна атипія (запалення тощо);
- LSIL (Lowgrade Squamous Intraepitelial Lesions) – ППП низького ступеня, відповідає дисплазії легкого ступеня та ЦИН I (без койлоцитозу або з ознаками койлоцитозу);
- HSIL (Highgrade Squamous Intraepitelial Lesions) — ППП високого ступеня, що відповідає помірній дисплазії та вираженій дисплазії, ЦИН II, ЦИН III, CIS (інтраепітеліальний рак).

Класифікація папіломавірусної інфекції (ПВІ). Клініко-морфологічна класифікація ВПЛ-асоційованих уражень нижнього відділу статевих органів:

- Латентні форми (виявлення ДНК ВПЛ за відсутності клінічних, морфологічних чи гістологічних змін).
- Субклінічні форми (невидимі неозброєним оком і безсимптомні, що виявляються лише при кольпоскопії та/або при цитологічному або гістологічному дослідженні):
 - плоскі кондиломи (типова структура з безліччю койлоцитів).
 - малі форми (різні ураження багатошарового плоского та метапластичного епітелію з одиничними койлоцитами).
 - кондиломи, що інвертують (з локалізацією в криптах).
 - кондиломатозний цервіцит/вагініт.

Метаплазія - це зміна клітин шийки матки під впливом певних травмуючих факторів, при розвитку цього процесу відбувається заміщення диференційованих клітин, але тканинний тип зберігається. Після того, як негативні дії пройшли, тканина може відновити свою початкову структуру. Метаплазія шийки матки відноситься до передракових захворювань, при пізній діагностиці і відсутності лікування може призвести до онкологічних процесів, що далеко зайшли.

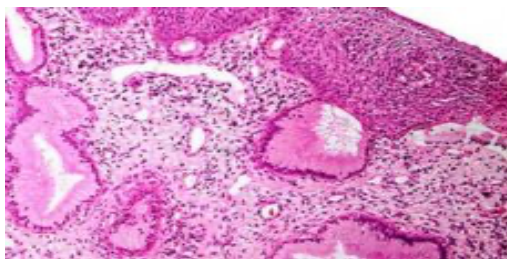


Рис. 3. Метаплазія шийки матки.

Фактори ризику розвитку метаплазії шийки матки:

- безладне статеве життя, часта зміна партнерів;
- незахищений секс;
- початок статевого життя раніше 16 років (до цього вік епітелій шийки тонкий та його легко травмувати);
- недотримання правил гігієни після статевого контакту;
- відсутність профілактичних оглядів гінекологом;
- часті аборти;

- пологи більше 2-х разів за останні 4 роки;
- вік старше 45 років;
- відсутність корекції гормональних порушень;
- шкідливі звички – алкоголь, куріння (більше 10 цигарок на день);
- шкідливі умови праці;
- погана екологія;
- канцерогени у їжі;
- спадковість (родичі з онкологічними захворюваннями)

Форми метаплазії шийки матки:

- Незріла плоскоклітинна метаплазія шийки матки – це початковий етап зміни будови клітин. У мазку можуть виявлятися поодинокі клітини з нечіткими контурами, які мають менші розміри та розташовуються хаотично. У клітинах відбувається переміщення елементів, змінюється цитоплазма, у ядрі порушується мітоз. На даному етапі прогноз найбільш сприятливий, можливе медикаментозне лікування патології [34, 28].

- Плоскоклітинна метаплазія шийки матки – відбувається заміщення клітин, але вони візуально не відрізняються від тих, які мають бути на даній ділянці, але розташовані клітини незвично. При цій формі метаплазії багат шаровий епітелій розташовується серед циліндричних клітин у верхній частині цервікального каналу. Патологічні тканини необхідно видаляти, інакше можливий розвиток онкологічного процесу.

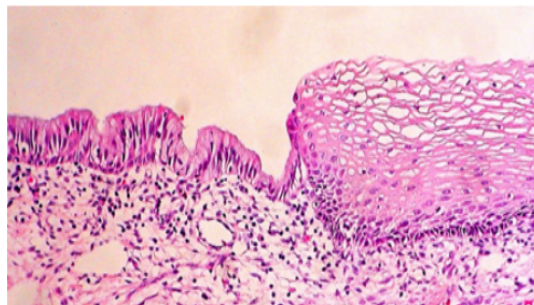


Рис. 4. Плоскоклітинна метаплазія шийки матки.

Плоскоклітинна метаплазія, захисний механізм, при якому залозистий епітелій в ектопічній зоні вагінальної частини шийки матки заміщується багат шаровим плоским епітелієм (фізіологічний процес).

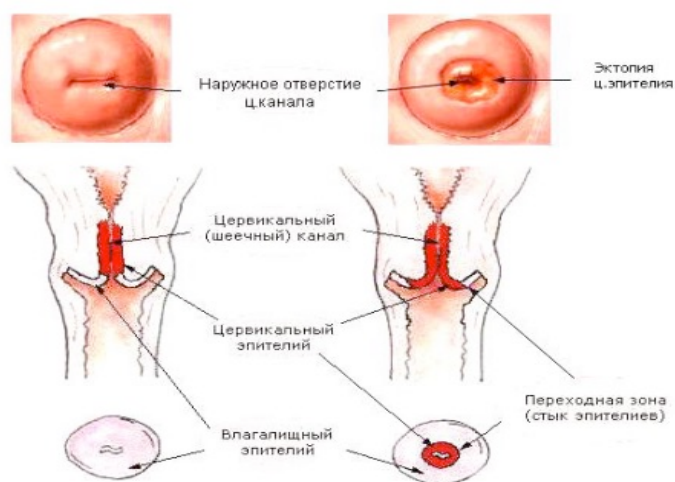


Рис. 5. Зона стику в обл. зовнішнього зіву і на екзоцервіксі (ектопія).

Метаплазований плоский епітелій розвивається не з зрілих циліндричних, а з підлягають так званих резервних клітин. Резервноклітинна гіперплазія є першим етапом плоскоклітинної метаплазії (рисунок 6). Під шаром циліндричних клітин з'являються один, два та більше шарів клітин гермінативного типу, які нагадують клітини базального шару плоского епітелію без чітких клітинних меж.

Клітини незрілого метапластичного епітелію нагадують парабазальні клітини, але розташовуються переважно розсіяно і рідше пухкими скупченнями. У міру дозрівання клітин (зріла плоскоклітинна метаплазія) з'являються клітини з цитоплазматичними відростками—павукоподібні клітини. Форма клітин поступово наближалася до овальної, визначався розподіл цитоплазми: внутрішня частина світлішала, а зовнішня темніла. Зрілі метапластичні клітини практично не відрізняються від парабазальних, проміжних та поверхневих клітин нативного багат шарового плоского епітелію [5].

Плоскоклітинна метаплазія може супроводжуватись розвитком патологічного зроговіння. У препаратах при цьому, крім метаплазованих клітин, виявляють ознаки гіперкератозу або паракератозу. Укрупнення та гіперхромія ядер метаплазованих клітин, відмінність розмірів ядер у межах однієї структури,

нерівномірний розподіл хроматину, наявність ядерців є ознаками атипії та позначаються терміном «атипова плоскоклітинна метаплазія». Такий варіант плоскоклітинної метаплазії може стати джерелом дисплазії.

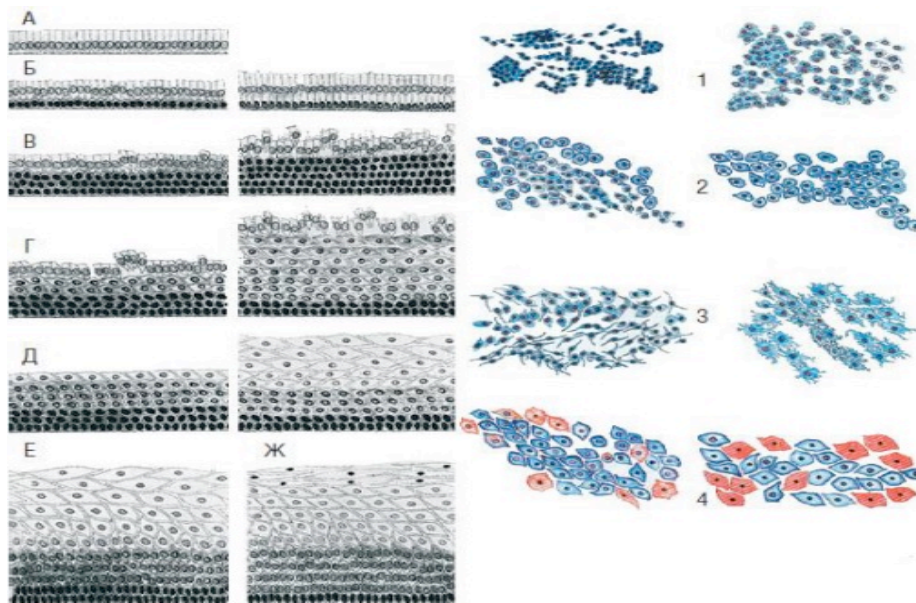


Рис. 6. Схема етапів розвитку плоскоклітинної метаплазії.

А - циліндричний епітелій. Б - під шаром циліндричного епітелію утворюється шар циліндричних (резервних) клітин. В - резервні клітини розмножуються, циліндричні злущуються з поверхні. Г - етап незрілої плоскоклітинної метаплазії: визначаються чіткі межі резервних клітин та поступово формується 3–4 шари клітин, подібних до багат шарового плоского неороговеального епітелію. Д - етап дозріваючої плоскоклітинної метаплазії: на поверхні епітеліального пласта подібні до проміжних клітин плоского епітелію. Е - етап зрілої плоскоклітинної метаплазії: клітини на поверхні епітеліального пласта подібні до проміжних клітин плоского епітелію. Ж - етап зрілої плоскоклітинної метаплазії: клітини на поверхні епітеліального пласта практично не відрізняються від «природних» клітин поверхневого шару плоского епітелію (1 – проліферація резервних клітин; 2 – незріла плоскоклітинна метаплазія; 3 – дозріває плоскоклітинна метаплазія; 4 – зріла плоскоклітинна метаплазія).

Місце з'єднання оригінального багат шарового плоского та циліндричного епітеліїв називають оригінальним плоскоклітинно-циліндричним стиком. Нова лінія плоскоклітинно-циліндричного стику розміщується ближче до зовнішнього зіву шийки матки і проксимальніше оригінального плоскоклітинно-циліндричного стику.

- Плоскоклітинна метаплазія з дискаріозом - дана форма є зрілою, в цьому випадку спостерігається неправильне поділ ядра, а також утворення аномальних клітин схожої форми, клітинні елементи розташовані правильно,

цитоплазма не змінена, визначається неправильний поділ у ядрі у вигляді атипових мітозів - дискаріоз.

Основними причини захворювань шийки матки у жінок, є:

- гормональний дисбаланс;
- інфекційні захворювання (найчастіше патологія виникає через онкогенний підтип вірусу папіломи людини (ВПЛ-16 та ВПЛ-18));
- часті аборти або важкі пологи;
- зниження імунітету;
- наявність запального процесу в органах репродуктивної системи.

До доброякісних патологічних процесів шийки матки відносяться такі стани, при яких зберігається нормоплазія епітелія, тобто проходить правильне мітотичне ділення епітеліальних клітин, їх диференціювання, дозрівання, ексфоціація. Найбільш небезпечною для жіночого здоров'я вважається **дисплазія шийки матки**, оскільки саме вона може переростати у злоякісні новоутворення.

При *дисплазії у шийці матки* з'являються змінені епітеліальні клітини.

Виділяють три стадії дисплазії шийки матки, які розрізняються залежно від шару, в якому з'являються атипові клітини та від глибини патологічного ураження тканини:

- легка дисплазія, I стадія, CIN 1 – характеризується слабо вираженою зміною в нижньому шарі епітелію, зміни поширюються на третину товщини шару епітелію;
- помірна дисплазія, II стадія, CIN 2 – супроводжується швидкою появою атипових клітин у двох третинах шару епітелію;
- тяжка дисплазія, III стадія, CIN 3, – патологічно змінені клітини присутні у всіх шарах епітелію, але не є опиняються в навколишніх тканинах (м'язи, судини).

Дисплазія шийки матки – це зміни слизової оболонки шийки матки та піхви, проте, на відміну від ерозії, при дисплазії є пошкодження будови клітин, тобто вже має місце патологічна зміна тканин (рис.7).

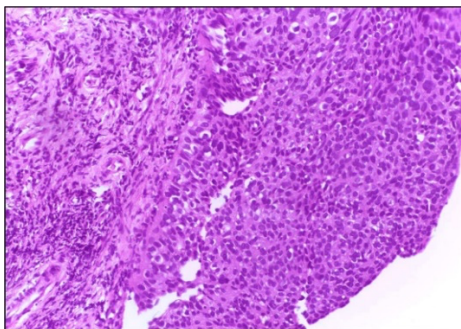


Рис. 7. Дисплазія шийки матки.

Дисплазія часто стає наслідком ектопії або ерозії шийки матки, ураження епітелію вірусом папіломи людини. Вона може також розвиватися на тлі інфекційних та венеричних захворювань, вагініту, кольпіту, вагінозу тощо.

До факторів, що підвищують ризик розвитку дисплазії, також відносять:

- ранній початок сексуального життя та ранні пологи (до 16 років);
- безладні статеві зв'язки (особливо без бар'єрної контрацепції);
- велика кількість абортів;
- куріння;
- зниження імунітету, нестача вітамінів.

Виділяють три типи дисплазії, що відрізняються за ступенем тяжкості (1-го, 2-го і 3-го ступеня). Дуже часто хвороба протікає приховано.

Для діагностики застосовується біопсія, кольпоскопія, ендоцервікальний кюретаж, гістологічне дослідження, цервікоскопія та ін. [66].

Цервіцит – це запалення слизової оболонки шийки матки – надзвичайно розповсюджене гінекологічне захворювання. Розрізняють ендоцервіцит та екзоцервіцит. Поширеність цієї патології значною мірою зумовлена причиною її виникнення – захворювання нерідко є наслідком інфекцій, що передаються статевим шляхом (ІПСШ), передусім хламідійної інфекції (ХІ) та гонореї.

Види ендоцервіциту:

- Специфічний. Розвивається через потрапляння статевим шляхом інфекцій: грибка, хламідіозу, гонореї, трихомоніазу.
- Неспецифічний. З'являється внаслідок порушень роботи мікрофлори у піхві.

Ендоцервіцит шийки матки не передається статевим шляхом, а розвивається внаслідок бактеріального вагінозу.

Основними причинами ендоцервіциту – є розвиток мікробів в організмі, це:

- кліткових мікробів: хламідій, мікоплазм, уреоплазм;
- збудників специфічного виду: бактерій трихомонозу, інфекцій гонокока;
- мікрофлори піхви з патологіями, дріжджових грибків;
- вірусів: герпесу, цитомегаловірусу.

Фонові хвороби не вважаються злоякісними утвореннями, але в багатьох випадках можуть сприяти їх розвитку.

Проблема фонових, передракових і злоякісних захворювань жіночих статевих органів є надзвичайно важливою. Поки що остаточно не з'ясовані причини виникнення та механізми розвитку злоякісних новоутворень, тому діагностика патологічного процесу на стадії передракових захворювань залишається основним методом профілактики онкологічної патології.

1.2. Сучасні методи діагностики захворювань шийки матки

Однією з найважливіших проблем в гінекології є рання діагностика початкових форм раку шийки матки та лікування фонових та передракових захворювань [33]. У діагностиці передракових захворювань та раку шийки матки (РШМ) застосовуються різні методи, але найбільш доступними для практики вважають – це клініко-візуальний метод (кольпоскопія), потім полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), молекулярно-біологічні методи виявлення ПВІ, цитологічне дослідження мазків та гістологічне дослідження прицільно взятого біоптату шийки матки.

Кольпоскопія – відноситься до ранньої діагностики РШМ, яка включає огляд та оцінку стану поверхні піхвової частини шийки матки. За допомогою кольпоскопії при збільшенні зображення в 7,5 – 40 разів можливо більш детально вивчити шийку матки, виявити фонові процеси (дисплазію, лейкоплакію) і початкові прояви РШМ. Для дослідження зони трансформації епітелію

використовують проведення проби з оцтовою кислотою і Шиллер-тесту (йодної проби). Атипія при РШМ виявляється по характерній звитості судин, менш інтенсивному фарбуванню патологічних йоднегативних вогнищ.

Розширена кольпоскопія дає можливість виявити ділянку трансформації і зробити прицільну біопсію шийки матки для гістологічних дослідження. Ножова біопсія шийки матки з вишкрібанням цервікального каналу обов'язкова при підозрі на цервікальний рак. Для визначення ступеня інвазії раку проводиться конізація шийки матки – конусоподібне висічення. Вирішальним і остаточним методом в діагностиці РШМ є морфологічна інтерпретація результатів біопсії. Кольпоскопічний метод, відповідно до міжнародних стандартів, не відноситься до скринінгових методів дослідження. При 88,4% чутливості кольпоскопія має низьку прогностичну цінність (64,6%). Найбільш специфічними ознаками цервікальної неоплазії під час проведення кольпоскопії є ацетобілий епітелій, мозаїка та пунктація, атипова зона трансформації. Тому з позицій діагностичної значущості та доцільності кольпоскопія може розглядатися у двох аспектах: як досить точний та обов'язковий метод при виконанні прицільної біопсії; як метод динамічного спостереження в ході консервативного лікування доброякісних процесів та деяких варіантів дисплазії (CIN I та CIN II) на тлі запальних процесів [4, 6].

Відповідно до міжнародної кольпоскопічної термінології, до **нормальної кольпоскопічної картини** відносяться такі стани:

- * оригінальний плаский (сквамозний) епітелій;
- * циліндричний епітелій;
- * нормальна зона трансформації.

Ненормальні кольпоскопічні картини як у зоні трансформації, так і за її межами (піхва, екзоцервікс) можуть являти собою такі стани:

- 1) *ацетобілий епітелій*: а) плаский; б) мікропапілярний;
- 2) *пунктуація* (ніжна і груба);
- 3) *мозаїка* (ніжна і груба);
- 4) *лейкоплакія* (тонка і товста);
- 5) *йоднегативна зона*; 6) *атипічні судини* [36].

Біопсія шийки матки – це гістологічне дослідження з наявністю патологічних змін шийки матки, виявлених на підставі РКС.

Біопсію слід проводити під контролем кольпоскопії із найбільш зміненої ділянки шийки матки. Зразок тканини повинен включати поверхневий епітелій і строму, що підлягає. Взяття матеріалу допускається за допомогою радіохвильових апаратів (Сургітрон та ін) або ножової біопсії. За показаннями проводиться вишкрібання цервікального каналу шийки матки.

Показання до конусоподібної біопсії шийки матки такі:

- зона поразки не візуалізується під час кольпоскопії при наявності аномальних даних цитології;
- незадовільні результати кольпоскопії при підозрілих у відношенні ЦІН даних кольпоскопії чи цитології;
- виявлення ЦІН при дослідженні матеріалу, отриманого в результаті вишкрібання слизової оболонки цервікального каналу;
- розбіжність даних цитології і гістології в біопсійному матеріалі;
- підозра на інвазію, чи мікроінвазія аденокарцинома "in situ" у матеріалі біоптату [36].

Ендоцервікальний кюретаж - вишкрібання слизової оболонки цервікального каналу з лікувально-діагностичною метою. На аналіз береться слизова оболонка, що вистилає поверхню каналу шийки матки. Місце забору тканин обробляється антисептиком. Отримані тканини вирушають до лабораторії на гістологічне дослідження [36].

- МРТ малого таза (МРТ інформативніше КТ при оцінці глибини інвазії та переходу пухлини на параметрій та суміжні органи; точність визначення глибини інвазії за допомогою МРТ становить 71-97%);

- КТ малого тазу, черевної порожнини та заочеревинного простору (при виявленні метастазів у лімфатичних вузлах інформативність КТ та МРТ однакова);

Цервікоскопія є основним інструментальним методом діагностики гіперплазії ендцервіксу, яка має підтвердитись гістологічно. Залозиста гіперплазія ендоскопічно виявляється потовщенням складок слизової оболонки, посиленням

судинного малюнка, достатком слизу у цервікальному каналі. Гістологічно атипова гіперплазія проявляється наявністю гіперхромних та поліморфних ядер залозистого епітелію осередкового характеру без інфільтративного зростання залозистого епітелію, низькою мітотичною активністю. Для аденоматозної гіперплазії характерні мікрополіпоподібні розростання без ознак проліферації [2].

Трансвагінальна ехографія (ТВ ЕхоГ) та доплерографія, що дозволяє суттєво переглянути стан шийки матки [3, 4]. При ТВ ЕхоГ гіперплазія ендоцервіксу проявляється збільшенням його товщини в межах 8-12 мм, середньою ехогенністю, однорідною структурою або наявністю дрібних кіст, помірною васкуляризацією (рис.8) [3].



Рис. 8. Трансвагінальна ехографія поліпа шийки матки (стрілка).

При **УЗД** діагностують поліпи шийки матки виглядають як гіперехогенні утворення еліптичної форми(розміром 3-8 мм), що розширюють шийку матки (мал. 4), що поширюються на середню та верхню третини шийки матки, розташовані на рівні 1, підвищеної ехогенності. Довгі ніжки поліпа можуть давати трилінійну структуру всередині ендоцервікального каналу. Поліпи, розташовані в нижній третині шийки матки, візуалізуються у 30% випадків [23].

1.3. Методи цитологічної лабораторної діагностики передракових захворювань шийки матки

Найбільш точна *скринінг-діагностика* преінвазійних і ранніх інвазійних захворювань шийки матки досягається шляхом цитологічного дослідження мазка

по Папаніколау (точність діагностики — 85 %). На скло наносять мазок, взятий окремо з екто- і ендоцервіксу за допомогою спеціальних шпательів, описуючи ними при цьому дугу в 360°, і фіксують у спиртовому розчині. Матеріал отримують із 3-х ділянок: (з поверхні піхвової частини шийки; з ділянки на межі плаского багатошарового епітелія із слизовою оболонкою цервікального каналу; з нижньої третини ендоцервікса) [37, 39]. Підготовлені марковані препарати з відповідним супровідним документом відправляють у цитологічну лабораторію.

Перевагами методу рідинної цитології є:

- повне збереження всіх відібраних клітин;
- можливість консервування і зберігання зразків протягом тривалого часу (4 тиж – при кімнатній температурі та 6 тиж – у холодильнику);
- зменшення кількості непридатних для оцінки препаратів;
- моношарове розташування клітин;
- відсутність у препаратах детриту, елементів крові, запалення тощо;
- збереження архітекτονіки клітинних структур;
- можливість поетапного приготування препаратів для цитоморфології, імуноцитохімії, молекулярних методик.

При дослідженні мазка по Папаніколау може виявлятися атипія, але не дисплазія (у випадках супутніх вагініту, цервіциту, папіломавірусній інфекції) [35].

В Україні найбільш поширеною є класифікація результатів цитологічного дослідження за Папаніколау, яка включає п'ять основних класів:

1-й клас — нормальна цитологічна картина, не викликає підозрінь.

2-й клас — зміна морфології клітин, обумовлена запальним процесом у піхві і/або шийці матки.

3-й клас — виявляються одиничні клітини з аномалією ядер і цитоплазми, однак остаточний діагноз встановити не вдається. Потрібне повторення цитологічного дослідження або гістологічне дослідження для більш детального вивчення патологічно зміненої тканини.

4-й клас — є окремі клітини з явними ознаками злоякісності (аномальна цитоплазма, змінені ядра, збільшення маси ядер тощо).

5-й клас — для мазка характерне велике число типово ракових клітин [39].

У більшості країн світу для інтерпретації цервікальних мазків впроваджено термінологічну систему Бетесда, яка враховує роль ВПЛ у канцерогенезі. Згідно з цією класифікацією, початковим компонентом інтерпретації мазків є оцінка адекватності зразка, оскільки його якість впливає на чутливість цитологічного методу. Препарати, в яких відсутні клітинні ознаки неоплазії, ідентифікуються як негативні щодо інтраепітеліального ураження або злоякісності.

Комплекс цитоморфологічних показників, на якому базується диференційна цитологічна діагностика диспластичних змін ЦЕ ШМ, може бути доповнений дослідженням ЯУР, структурні особливості яких та варіабельність їх прояву є відображенням ступеня функціональної активності досліджуваних клітин.

Результати різних досліджень показали, що ВПЛ-тестування на 30% більш чутливо, ніж цитологія, для виявлення цервікальної інтраепітеліальної неоплазії 2-го ступеня (ЦІН 2) і на 22% - для ЦІН 3. Негативні результати ВПЛ-тесту забезпечують кращу прогностичну значимість щодо прогнозу розвитку РШМ в порівнянні з нормальними результатами цитології (традиційної / рідинної) [34].

Однак включення ВПЛ-тестування в цервікальний скринінг має свої недоліки: в силу більш низької специфічності (особливо в молодому віці) даного тесту, підвищується відсоток необґрунтованих обстежень і втручань. Для вирішення питання підвищення специфічності сьогодні рекомендовано використовувати тести, що дозволяють виявляти не просто інфікування вірусом, а наявність інтегрованої стадії, продукції онкобілків E6 / E7 [34].

Висновок до першого розділу

1. Для профілактики передракових станів шийки матки необхідно усувати фактори ризику.
2. Найефективнішим методом первинної профілактики є вакцинація проти ВПЛ (тетравалентна вакцина гардасил та бівалентна церварікс). Вторинна профілактика проводиться на етапі діагностики та лікування передракових станів.
3. При дисплазії у шийці матки з'являються змінені епітеліальні клітини.

4. Доведено, що вірус папіломи людини (ВПЛ) ініціює розвиток цервікальної інтраепітеліальної неоплазії (CIN) та раку шийки матки.
5. Захворювання шийки матки зустрічаються у 10-15% жінок репродуктивного віку, причому у 80% випадків – це фонові і передракові процеси, а в 72 - 100% – має місце поєднання захворювань шийки матки зі збудниками генітальних інфекцій.
6. Метаплазія шийки матки відноситься до передракових захворювань, при пізній діагностиці і відсутності лікування може призвести до онкологічним процесам, що далеко зайшли.

РОЗДІЛ II

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Цитологічні методи дослідження шийки матки

Цитологічне дослідження шийки матки або мазок по Папаніколау - це сучасний метод дослідження, що дозволяє виявити передракові та ракові зміни шийки матки на ранніх стадіях.

Мазок з Папаніколау (ПАП-тест) – один з ефективних методів виявлення раку шийки матки та попередніх станів. Впровадження цитологічного методу скринінгу (ПАП-тесту) в Європі дозволило знизити захворюваність на рак шийки матки за останні 40-50 років на 80-90%. Оскільки прогресія ПВІ в РШМ займає тривалий час (7–15 років), мета такого скринінгу – діагностувати хворобу на ранній стадії та вилікувати її ще на стадії передраку. Цитологічний скринінг визнаний класичним методом та рекомендований ВООЗ для проведення у масштабах національних програм.

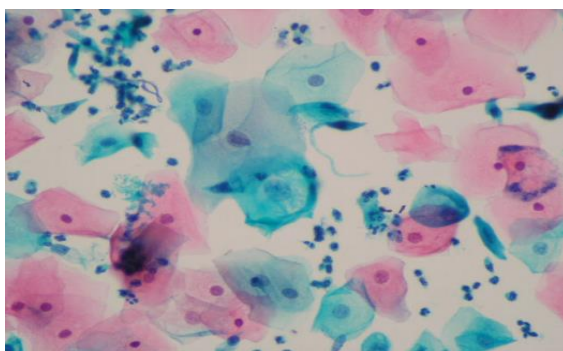


Рис. 1. Цитологічний препарат пофарбований за Папаніколау: Пап-тест.

Сьогодні існує безліч синонімів назви цього методу (цитологічне дослідження та мазок, Пап-тест, «онкоцитологія», рідинна цитологія та ін.) поряд з такою ж безліччю варіантів забарвлення цитологічних препаратів: Papanicolaou (Пап-тест), Романовському-Гімзі, за Грамом. Усі методи спрямовані на фарбування певних клітинних структур, що дозволяє диференціювати різні типи епітелію, відрізняти клітини з ороговінням та пухлинною трансформацією. Все це в

результаті - один і той же метод - дослідження клітин, які взяті з поверхні шийки матки та різними способами нанесені на скло, проведено різне забарвлення. Однак якість і відповідно чутливість та специфічність дослідження у таких мазків кардинально відрізнятимуться і це залежить від багатьох факторів.

Класичний Пап-тест має бути пофарбований методом Папаніколау і, в першу чергу, спрямований на вивчення клітинної будови плоского епітелію.

Аналіз підстав на вивченні та оцінці клітинного матеріалу в мазках, характеризує патологічні зміни. Показання для цитології – скринінг раку шийки матки.

Оскільки цитологічний метод надійний, а частота ранньої діагностики передракових змін та ранніх стадій раку шийки матки становить 80%, цей аналіз дозволяє своєчасно розпочати лікування, тим самим покращуючи здоров'я та лікування пацієнток.

Цитологічне дослідження мазка вищої матки проводиться у спеціальній лабораторії під мікроскопом, після чого гінеколог розшифровує отриманий результат – цитограму та робить висновки. Результати цитології зазвичай готові за 1-2 тижні.

Цитологічне дослідження мазка шийки матки спрямоване на виявлення так званої клітинної атипії – наявності клітин з ознаками аномалії ядра та цитоплазми.

Справа в тому, що саме клітинна атипія є тривожним дзвінком можливого розвитку онкологічного захворювання – раку шийки матки. На вираженості ознак клітинної атипії і ґрунтуються цитологічні критерії.

Цитологічний метод дослідження не має 100% чутливості (можливість виявити всіх хворих серед хворих) і не має 100% специфічності (можливості виявити всіх здорових серед здорових). Основне завдання цитологічного методу – це скринінг раку шийки матки за відсутності будь-яких ознак чи проявів хвороби.

Взяття мазка на цитологію:

- Матеріал для цитологічного дослідження шийки матки: зіскрібок з цервікального каналу та з поверхні піхвової порції шийки матки (Рис. 2). Для отримання матеріалу використовують: шпатель Ейра (для взяття мазків з поверхні

ектоцервіксу), ложечку Фолькманна, скрини, ендобранш (для взяття ендоцервікальних мазків та ін.). Під час огляду з шийки матки злегка зішкрібають поверхню патологічно зміненої ділянки або поверхню піхвової частини шийки матки навколо зовнішнього зіву. З отриманого матеріалу готують один тонкий рівномірний мазок на сухому чистому предметному склі і фіксують, висушуючи на повітрі. Промаркований мазок відправляють до лабораторії для вивчення: будови клітин [9, 70], розмір клітин; форми епітелію; розташування епітелію; патологічних змін в будові клітин [12].

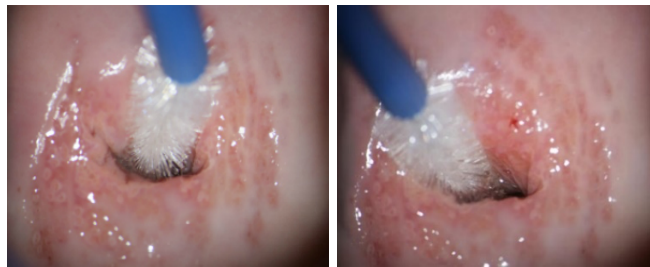


Рис.2. Процес забору цитологічного мазка. Зона трансформації шийки матки 1 типу. Лінія стику багатошарового плоского та циліндричного епітелію візуалізується повністю.

Для забарвлення цитологічних препаратів (забарвлення по Папаніколау) використовують набір реагентів:

- Гематоксилін по Гаррісу - 1 фл (100 мл)
- Барвник Папаніколау - 1 фл (100 мл)
- Барвник оранжевий G6 - 1 фл (100 мл)
- Літій вуглекислий - 1 фл (3 мл)

Принцип методу. Ядра клітин вибірково фарбуються гематоксиліном, цитоплазма - сумішшю барвників в різні кольори в залежності від типу клітин і їх зрілості.

Таблиця 2.1

Хід реакції цитологічних препаратів (забарвлення по Папаніколау)

№ п/п	Реактиви	Час (хв)	Примітки
1	Фіксація, рідина Нікіфорова	10-30	Необхідно занурення всього мазка
2	Промити спиртом низхідній концентрації (80,70,50%)	2	Наливаючи на скло і похитуючи злити в відпрацьований

3	Промить водою	2-3	Перший стакан
4	Гематоксилін по Гаррісу	2-8	Злити в той же флакон через лійку з фільтром
5	Промить в воді, залишити посиніти	5	Другий стакан. Контроль під мікроскопом забарвлення ядер
6	Диференціювати 0,25% розчином соляної кислоти	1	Похитуючи до почервоніння препарату, злити.
7	Опустити на 1 хв в слабкий розчин вуглекислого літію для посиніння ядер (3 краплі вуглекислого літію на 100 мл дистильованої води). Промити в воді.	1-2	Четвертий стакан. Контроль під мікроскопом забарвлення ядер
8	Ретельно обезводнити через спирт зростаючої концентрації 50,70,80,96%	2	
9	Оранж G налити на скло	1-2	Похитувати. Злити в флакон для відпрацьованого забарвлення. Наливати на скельця, зливати до стікання чистих крапель
10	Промити спиртом 96	2	Контроль під мікроскопом
11	Пофарбувати барвником Папаніколау	2-20	Похитувати. Зливати у флакон для відпрацьованої фарби
12	Промити спиртом 96	1-3	Контроль під мікроскопом вологого препарата
13	Промокнути фільтрувальним папером	2	
14	Ксилол	3	Швидко. Похитувати до просвітління препарату. Злити у флакон для відпрацьованого ксилолу
15	Бальзам, покривне скельце		Видалити бульбашки повітря.
16	збір скелець, підписати номер аналізу і рік		Номер і рік пишуть м'яким графільним олівцем на вільному кінці скла, змащеному тонким шаром бальзаму

За результатами фарбування, ядра клітин повинні мати синьо-фіолетовий колір, з чіткою структурою хроматину, при якій помітні крайовий гіперхроматоз, пікноз, лізис і ядерця. Цитоплазма пофарбована контрастно: при базофілії - в зелений колір різної інтенсивності, яка визначається щільністю цитоплазми; при ацидофілії - від блідо-жовтого до яскраво-оранжевого у зрілих клітин. У разі неповного зроговіння цитоплазми можливе фарбування частини її в зелений колір, інший частині - в помаранчевий [13].

Мікроскопічне дослідження виділень із піхви та забарвлених за Грамом, слід дотримуватись фарбування бо дуже тривале знебарвлення може призвести до втрати інших грампозитивних коків (стафілококів, стрептококів) та до хибних результатів [45].

Метод фарбування за Грамом.

Реагенти: 1. Газований розчин генціанвіолету. 2. Розчин Люголю. 3. Вміст алкоголю 96 градусів. 4. Водні розчини карболового фуксину.

Хід дослідження. Смужку фільтрувального паперу кладуть на фіксований зразок і заливають розчином генціанвіолету. Фарбувати 1,5-2 хвилини. Папір знімають та препарат заливають розчином Люголя на 2 хв. Злити розчин Люголя і змити препарат спиртом, надавши йому сірого кольору. Промити водою та пофарбувати водним розчином вугільного фуксину. Промити водою, висушити на повітрі та спостерігати під мікроскопом [45].

На першій стадії дегенерації спостерігаються слабо-пігментовані мікро-та макроморфологія *Neisseria gonorrhoeae*. По-друге, вона втрачає типову для нирки форму і стає напівкруглою. Третя – вони мають округлу форму у вигляді кулястих диплококів. Четверта стадія – вони стискаються як окремих точок.

Приготування препаратів. Матеріал наносять тонким рівномірним шаром на чисте жирне скло та дають висохнути на повітрі, потім фіксують 96° етиловим спиртом протягом 3 хвилин, висушують і фарбують 1%-ним розчином метиленового синього протягом 1 хвилини, після чого залишки барвника ретельно змивають водою і висушують на штативі.

Дослідження проводять при природному штучному освітленні (об'єктиви мерсіонний 90х, окуляри 7х або 10х, імерсійна олія – кедр). Ядра клітин зображені синім кольором, протоплазма – синім кольором різної інтенсивності. *Neisseria gonorrhoeae* темно-синього кольору, з гострими краями, бобоподібної форми, парні.

Піхвові трихомонади відрізняються поліморфізмом (округлі, овальні, полігональні), розташовані в слизу між клітинними елементами; у них чітко видна оболонка; ядро розташоване ексцентрично та інтенсивно забарвлене в синій колір, цитоплазма ніжна, сітчаста, світло – сині; безбарвні вакуолі. Виявлення гонококів

та піхвових трихомонад у досліджуваному матеріалі, пофарбованому еозином та метиленовим синім.

Реактиви: 1% розчин еозину в етиловому спирті, 1% водний розчин метиленового синього. Препарат зануріють на 10-15 секунд без попередньої фіксації забарвлення, що забезпечує виявлення поряд з *Neisseria gonorrhoeae* та *Trichomonas vaginalis*. Ядра клітин забарвлюються у синій колір, а цитоплазма забарвлюється у синій колір різної інтенсивності. За наявності еозинофільних гранулоцитів у цитоплазмі відзначається червона або яскраво-рожева зернистість. Слиз синього кольору.

Бактеріальна флора зображена синім кольором різної інтенсивності. *Neisseria gonorrhoeae* темно-синього кольору, з гострими краями, бобоподібної форми, парні. Він присутній внутрішньоклітинно, у слизу та в епітеліальних клітинах. *Trichomonas vaginalis*: ядро овальне, синього кольору, ексцентричне, цитоплазма чітко окреслена, ретикулярна, світло-блакитна. Вакуолі безбарвні. Виявлення *Neisseria gonorrhoeae* та *Trichomonas vaginalis* у матеріалах дослідження, пофарбованих діамантовим зеленим.

Реактиви: 0,5% водний розчин зеленого діамантового, спирт етиловий 96°. Фіксують препарат 96° етиловим спиртом протягом 3 хв, підсушують та наносять 0,5% розчин діамантового зеленого на 1 хв. Потім фарбу ретельно змивають холодною водою та сушать на штативі. Ядра клітин забарвлені у зелений колір, цитоплазма забарвлена у світло-зелений колір. Слиз зелений. Бактеріальна флора зображена зеленим кольором різної інтенсивності. *Neisseria gonorrhoeae* темно-зелені, різко окреслені, бобоподібні, парні, розташовуються внутрішньоклітинно, у слизу та на епітеліальних клітинах. *Trichomonas vaginalis* з чіткою оболонкою, поліморфізмом (округлі, овальні, багатокутні), розташованими між клітинними елементами або слизом. Ядро розташоване ексцентрично та має темно-зелений колір.

Цитоплазма ретикулярна, світло-зеленого кольору. Вакуолі безбарвні.

Виявлення *Neisseria gonorrhoeae* та *Trichomonas vaginalis* у матеріалах дослідження, пофарбованих за модифікованим методом Грама [68]. Цей метод

заснований на тому, що *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* та інші грам негативні мікроорганізми при знебарвленні в етиловому спирті протягом деякого часу виділяють первинний пурпурний барвник, який потім забарвлюється додатковим оранжево-червоним барвником.

Реактиви: 1% водний розчин фіолетового кристалічного, водний розчин Люголю, спирт етиловий 96°, нейтральний червоний 1% у воді.

Забарвлення. Препарат накривають фільтрувальним папером та заливають 1% водним розчином кристалічного фіолетового на 1 хвилину. Притисніть фільтрувальний папір, просочений кристалічним фіолетовим, до скла скляною піпеткою або паличкою, щоб уникнути бульбашок повітря між фільтрувальним папером та предметним склом. Через 1 хвилину фільтрувальний папір знімають, промивають препарат струменем водопровідної води і доливають розчин Люголя на кілька секунд до почорніння мазка. Після цього змити залишки розчину Люголя та знебарвити препарат 96°етилловим спиртом, по чергово занурюючи та видаляючи препарат зі спирту у склянці. Фіолетовий барвник стікає з тонкого зрізу, знебарвлюючи препарат, доки він не стане світло-сірим. Потім препарат швидко промивають під струменем водопровідної води, фарбують 1% розчином нейтрального червоного у воді протягом 3 хвилин, знову ретельно промивають (до прозорості струменя) та сушать.

Мікроскопія. При правильному фарбуванні препарат матиме оранжево-червоний колір у тонких ділянках та пурпурово-фіолетовий колір у товстих ділянках. Ядра клітинних елементів (лейкоцитів, епітеліальних клітин) повинні частково зберігати переважне пурпурове забарвлення, забарвлюючись у пурпуровий колір у центрі і оранжево-червоний на периферії, а гонококи в лейкоцитах та епітеліальних клітинах повинні бути оранжево-червоними.

2.2. Рідинна цитологія

Метод рідинної цитології є найбільш точним методом визначення наявності клітин ВПЛ в організмі людини.

Рідинна цитологія використовує унікальну кисть для збирання зразків з усієї поверхні шийки матки, на відміну від ПЛР, у якій для збирання зразків використовується плоска паличка. Ще одна відмінна риса-матеріал, що вийшов, нанести на кисть, нанести на склянку і попередньо помістити в спеціальний розчин. Отримані контейнери із зразками направляються в спеціальний пристрій, де обробляються, а потім автоматично наносяться на предметне скло рівномірним шаром [18].

Після закінчення процесу фахівець приступить до роботи з підготовленим матеріалом. Що більше інформації, то краще. Також можливий аналіз наявності білка p16INK4a в організмі на підставі матеріалу, зібраного методом цитологічної рідини, вказує на те, що він високий. Його відсутність свідчить про те, що клітини перебувають у досить хорошому стані.

Рідинна цитологія шийки матки є інноваційним методом цитологічного дослідження та є «золотим стандартом» діагностики новоутворень слизової оболонки каналу та піхвової частини шийки матки, забезпечуючи хворих на рак або дисплазію. Завдяки цьому методу діагностики з'являється можливість виявити рак на ранніх стадіях його розвитку, що підвищує шанси на повне одужання.

Після взяття мазка на цитологію пухлини біологічний матеріал поміщають у специфічне рідке середовище. За допомогою спеціальної центрифуги клітини (цитопрепарат) промивають і концентрують в одному місці до утворення однорідного шару. У цьому випадку висновки цитолога більш точні та інформативні, ніж у звичайній цитології, де матеріал, взятий для дослідження, відразу наноситься на медичне скло для аналізу.

Показання: Рідинна цитологія шийки матки як метод гінекологічного дослідження допомагає вибрати найбільш ефективний метод лікування раку, дозволяє визначити ступінь тяжкості захворювання. Скринінг шийки матки слід проводити на початку статевого життя. До групи ризику входять жінки з папіломавірусом.

Показання до дослідження: планування вагітності; порушений або пропущений менструальний цикл(надто короткий або надто довгий цикл, часті

затримки); безпліддя; наявність декількох статевих партнерів; гінекологічні патології вірусної етіології (гострі кондиломи, генітальний герпес та ін.); тривалий прийом контрацептивів чи гормонів; нез'ясовні виділення; підготовка до встановлення проти заплідних засобів (наприклад, внутрішньоматкових спіралей).

Переваги рідинної цитології. Рідинна цитологія шийки матки дає найточніші результати, оскільки клітини досліджуються наявність захворювання.

Перевагою рідинної цитології є покращена якість одержуваного біоматеріалу. Крім того, треба звернути увагу на таке: швидке приготування препарату; тривалий термін придатності та зберігання матеріалу (за допомогою стабілізуючого розчину PreservCyt вдається запобігти висиханню клітин, що дозволяє зберігати зразки в найбільш сприятливих умовах для подальшого транспортування до медичної лабораторії); можливість приготування кількох цитологічних препаратів з отриманого біоматеріалу; використання стандартизованих методів фарбування; можливість приготування багатошарових мазків.

Підготовка: Мазок береться під час огляду у гінекологічному кріслі. Статеві відносини за 2 дні до взяття мазка; очищення піхви(гігієна); використання вагінальних супозиторіїв та сперміцидних мазей; прийом проти заплідних та протизапальних препаратів(таблетки); введення тампона у піхву.

За 2-3 години до мазка ПАП-тесту слід утриматися від сечовипускання. Аналіз неможна проводити вдень менструації за наявності виділень з піхви, сверблячки та запальних процесів.

Техніка проведення рідинної цитології проводиться на гінекологічному кріслі за допомогою стерильної прищільної щітки (ендобраш) зіскребається біоматеріал. Зразок поміщають у спеціальний розчин, що перешкоджає висиханню клітин та їх розтіканню по склу і зберігає цілісність клітин епітелі [14, 16].

Подальша робота з клітинною суспензією відбувається в лабораторії, і можливо частково чи повністю автоматизована. Рідинна технологія дозволяє отримати стандартизовані цитологічні зразки високої якості, уникнути «забруднення» препарату еритроцитами та запальними елементами, та розподілити

клітини без нагромадження на невеликій ділянці діаметром 1,2 см у вигляді рівномірного моношару. Перевагою методу є зменшення кількості неадекватних мазків приблизно в 10 разів, скорочення часу, необхідного для інтерпретації мазка, можливість використовувати клітинну суспензію, що залишилася для ВПЛ-тестування та молекулярних тестів з того ж зразка у разі сумнівних результатів мазків [17, 19].

Таблиця 2.2

Термінологічна система Бетесда, 2001 (The Bethesda System, TBS)

NIL	Negative for intraepithelial lesion or malignancy	Відсутність інтраепітеліальних змін чи злоякісної пухлини
ASC	Atypical squamous cells	Атипові клітини плоского епітелію
ASC-US	Atypical squamous cells of undetermined significance	Атипові клітини плоского епітелію неясного значення
ASC-H	Atypical squamous cells cannot exclude HSIL	Атипові клітини плоского епітелію, що не дозволяють виключити високий ступінь плоскоклітинного інтраепітеліального ураження
CIN I, II, III	Cervical intraepithelial neoplasia grade I, II or III	Цервікальна та терапітеліальна неоплазія I, II или III степ
CIS	Carcinoma <i>in situ</i>	Карцинома <i>in situ</i>
SIL	Squamous intraepithelial lesion	Плоскоклітинна інтраепітеліальна поразка
HSIL	High grade squamous intraepithelial lesion	Високий ступінь плоскоклітинного інтраепітеліального ураження
LSIL	Low grade squamous intraepithelial lesion	Низький ступінь плоскоклітинного інтраепітеліального ураження
AGC	Atypical glandular cells	Атипові залозисті клітини
AGC, favor neoplastic	Atypical glandular cells, favor neoplastic	Атипові залозисті клітини, схожі на неопластичні
AGUS-NOS	Atypical glandular cells of undetermined significance not otherwise specified	Атипові залозисті клітини, неясного значення, невизначені
AIS	Adenocarcinoma <i>in situ</i>	Аденокарцинома <i>in situ</i>

2.3. ВПЛ-тестування

Онкологічні захворювання є головною проблемою сучасної медицини. Такі пухлини серед них як рак шийки матки в основному вражають людей молодого та середнього віку.

Поряд з тим, що ВПЛ є головною причиною розвитку раку шийки матки, він є і головним помічником у його запобіганні, оскільки, знаючи етіологічну причину виникнення захворювання, можна виявляти його на ранніх стадіях. Скринінг раку шийки матки став першим і найуспішнішим на сьогоднішній день прикладом скринінгу онкологічних захворювань. Понад половину століття єдиним методом гінекологічного скринінгу був ПАП-тест. Однак після відкриття вірусної природи раку шийки матки та впровадження ряду методів виявлення вірусу папіломи людини – ВПЛ-скринінг набуває не менш важливого значення.

Види ВПЛ-тестів:

1. Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – багаторазове копіювання певної ділянки вірусної ДНК типоспецифічними та видооспецифічними праймерами – якісне визначення ВПЛ ВКР з типуванням вірусу. Рекомендується дослідження 10-14 типів ВПЛ ВКР.

2. RT (real-time) PCR - ПЛР в реальному часі - оцінюється вірусне навантаження в логарифмах, диференціюються клінічно значущі кількості ВПЛ з ризиками присутності неоплазії від малозначимих, відповідних транзиторної та ВПЛ-інфекції, що вирішилася.

3. Якісні ДНК ПЛР-тести на 14 типів ВПЛ ВКР з частковим генотипуванням особливо "небезпечних" типів ВПЛ (16 та 18 типів та інших). Розроблені та застосовуються тест-системи, які дозволяють виконати ідентифікацію генів ВПЛ 16, 18, 31, 45, 51, 52 та 59 типів, інші типи ВПЛ ВКР визначаються у двох групах: 33, 56, 58, 66 та 35, 39, .

4. Тест подвійного гібридного захоплення (Hybrid Capture II – HC2) = ВПО Digene-тест. Тест заснований на гібридизації ділянок ДНК ВПО ВКР з РНК-зондами, що уловлюються антитілами з флуоресцентною міткою. При

позитивному результаті вказується клінічно значуща концентрація 13 типів ВПО ВКР у копіях ДНК на 1 мл зразка. Негативний результат тесту практично виключає присутність CIN2-3.

5. Тести на основі виявлення РНК ВПО: PreTect HPV-Proofer (ампліфікація мРНК E6/E7 п'яти типів ВПО високого ризику (16, 18, 31, 33 і 45)) та Aptima (Gen-Probe) заснований на цільовому захопленні та гібридизації мРНК E7 виявлення експресії мРНК 14 типів ВПО ВКР з частинним генотипуванням.

Методика отримання матеріалу для ВПЛ-дослідження:

1. Щіточкою візьміть мазок-зіскріб із зони трансформації з перехідною зоною і крипт цервікального каналу - щіточкою, обертальними рухами обробляється спочатку частина ектоцервіксу, потім вона вводиться в нижню третину каналу, де виробляється 3-5 оборотів.

2. Помістіть щіточку у спеціальний контейнер із консервантом.

3. Промаркуйте контейнер: напишіть ім'я жінки, номер амбулаторної картки або історію хвороби та дату.

Самостійний забір матеріалу для тестування на ВПЛ ВКР. Існує варіант скринінгу із самозабором вагінальних виділень для ВПЛ-тесту за допомогою спеціальних пристроїв. Після забору матеріалу робочий наконечник інструменту, що відокремлюється, занурюється в промарковану пробірку і відправляється поштою до централізованої лабораторії із заповненою анкетой із зазначенням зворотного зв'язку - електронної пошти або мобільного телефону. При отриманні позитивного результату хвора прямує до гінеколога для обстеження. Ефективність ВПЛ-тестів при самостійному заборі вагінальних виділень досить висока, більшість пацієнток (особливо до 30 років) виявляють прихильність до цього методу, тому цей спосіб слід розглядати як гідну альтернативу дослідженню зразків на ВПЛ ВКР, забраних фахівцями. Тест для самозабору економічно менш витратний, ніж візит до лікаря, і за умови гарної поінформованості жінок може мати широке застосування і тим самим підвищити чисельність населення, що беруть участь у програмах скринінгу на рак шийки матки.

Рейтинг навантаження ВПЛ:

- високе навантаження ВПЛ ≥ 107 копій/мл- Ризик раку шийки матки;
- помірне навантаження ВПЛ 105-107 копій/мл- Наявність ЦН;
- ВПЛ клінічно незначна кількість— менше 105 копій/мл.

Показання для застосування тесту на ВПЛ:

- скринінг шийки матки;
- діагностика ЦН;
- оцінка ефективності лікування та спостереження за пацієнтами після лікування;
- підрозділ(класифікація) жінок з ASCUS та старшими відхиленнями в мазках від 25 до 65 років;
- визначення тактики у хворих на мазки типу ASCUS;
- оцінка ефективності резекційного лікування HSIL, CIN 2-3/CIS та мало інвазивним карцином при органозберігаючих операціях.

Для жінок із негативними результатами цитології інтервал між повторними тестами має становити від 3 до 5 років. За відсутності негативних результатів аналізів протягом останніх п'ять років цитологічне дослідження проводять повторно через 1 рік через недостатню чутливість цитологічного методу. Перші два дослідження проводяться щороку. Жінки з негативними результатами тесту на ВПЛ можуть проходити повторний скринінг кожні п'ять років.

Скринінг раку шийки матки на основі ВПЛ-тесту. Рак шийки матки, не пов'язаний із ВПЛ-інфекцією, розвивається вкрай рідко (менше 0,5%). Усі випадки раку шийки матки є вірусасоційованими. Непрямі ознаки вірусного ураження епітелію шийки матки (передраковий комплекс) були відомі ще у 1950-х роках. Про це повідомляв J. Ernest Ayre, творець шпателя для цервікальної біопсії. Leopold G. Koss у 1970-х роках. описав койлоцитарну атипію як ознаку папіломавірусної інфекції (паракератоз, гіперкератоз, двоядерні клітини, атипові плоскі клітини з ороговінням у центрі). Сьогодні добре відомо, що існує пряма залежність між вірусним ушкодженням клітини та її диспластичною зміною. Сучасне обґрунтування зв'язку CIN та ВПЛ полягає в наступному. CIN I вважається

морфологічним відображенням ВПЛ-інфекції та не потребує жодного лікування. Поразки на рівні CIN II слід розглядати як тяжкі прояви інфекції, а не як передраковий стан. CIN III вважається сурогатною ознакою передракового стану і зазвичай вимагає додаткової уточнюючої діагностики, а також лікування (хоча насправді тільки деякі ураження трансформуються в інвазивний рак). Умовно можна говорити, що існує «небезпечна» та «небезпечна» CIN III. Так, важка дисплазія CIN III, асоційована з ВПЛ-штамом низького онкогенного ризику (наприклад, 68), у 20-річної жінки не становить ризику розвитку інвазивної карциноми. У той же час наявність CIN III, асоційованої з ВПЛ високого онкогенного ризику (штам 16), у 45-річної жінки свідчить про велику ймовірність розвитку раку шийки матки.

В даний час розроблено декілька гістологічних (CIN, LAST), цитологічних (WHO, Bethesda) та молекулярна класифікація передракових змін шийки матки. Стани CIN II і CIN III відповідають у класифікаціях LAST та Bethesda ураження HSIL (High grade squamous intraepithelial lesion – важка плоскоклітинна інтраепітеліальна поразка). Останнє за класифікацією WHO відповідає помірній та тяжкій атипії, а на молекулярному рівні (наявність ВПЛ-інфекції) характеризується як передраковий стан.

Більш глибоке вивчення молекулярних механізмів канцерогенезу раку шийки матки та визнання провідної ролі ВПЛ-інфекції у цьому процесі призвело до фундаментальних змін в організації профілактичних та скринінгових онкологічних програм. Перший епідеміологічний аналіз із вивчення смертності від раку було проведено 1928 р. Janet Lane-Claypon. Вона зробила висновок, що підвищення виживання хворих зі злоякісними новоутвореннями надалі буде пов'язане не так з лікуванням раку, як з його ранньою діагностикою. Ця ідея через 40 років трансформувалася в концепцію медичного скринінгу, викладену в монографії J.M. Wilson, Y.G. Jungner "Principles and practice of mass screening for disease" 1968 р.

Критерії популяційного скринінгу Вільсона Джаннера є основою для впровадження таких програм у всіх країнах, в яких розробляються питання профілактики онкологічних захворювань. Європейські рекомендації щодо

боротьби з раком для населення (3-я версія) передбачають впровадження в систему охорони здоров'я таких програм, як скринінг колоректального раку, раку молочної залози та шийки матки.

У країнах Західної Європи та Північної Америки популяційний скринінг раку шийки матки почали виконувати з кінця 1980-х років. Вже через 3-5 років, коли охоплення жіночого населення скринінговими програмами досягло 70%, відзначено різке зниження захворюваності на інвазивний рак – з 17,0 до 8,0 на 100 тис. населення. Захворюваність на цей вид раку в країнах Європейського союзу продовжує знижуватися, у той час як у країнах, де скринінг не проводиться (Східна Європа та країни на південь від Сахари), продовжує зростати. У міру накопичення досвіду в реалізації профілактичних програм стало зрозуміло, що медичний ефект онкологічного скринінгу входить у деякі протиріччя з його організації та економічної доцільності.

Зниження загальної захворюваності на рівні всієї популяції може бути досягнуто лише у разі безперервної, протягом багатьох років реалізації програми скринінгу, адекватного державного фінансування та згоди жінок на участь у ньому.

2.4. Проведення ВПЛ -тесту у комплексі з цитологічним дослідженням

Типування папіломавірусу методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Метод ПЛР має велике діагностичне значення та дозволяє розрізнити окремі типи ВПЛ. ПЛР (або полімеразна ланцюгова реакція)—найточніший із усіх можливих методів виявлення інфекцій людини. На відміну від імунологічних методів, де наявність мікроорганізмів визначається виключно за наявності крові хворого антитіл до конкретних збудників, ПЛР-діагностика безпосередньо виявляє сам збудник або його частини навіть при дуже низьких концентраціях, тому метод ПЛР є найбільш точним та чутливий.

Генний тест. Розроблений Digene Diagnostics (Murex), HPV Digene-Test є найчутливішим тестом з будь-коли існували. Це дослідження дозволило виявити папіломавірус, визначити його тип та приналежність до групи високої чи низької

онкогенності, а також зафіксувати клінічно значущі концентрації у тканинах. Це є важливою прогностичною ознакою.

"Золотим стандартом" діагностики папілома вірусного ураження шийки матки є проведення ВПЛ Digete-тесту у комплексі з цитологічним дослідженням. HPV Digene-Test використовує різні методи лікування визначення концентрації вірусу, коли він відбувається розвиток онкологічних процесів, цим запобігаючи розвитку пухлин.

Цей тест рекомендується у скринінгових дослідженнях жінок віком від 30 років і у разі сумнівних результатів ПаП-тесту [26].

Дослідження ВПЛ проводять у жінок. Матеріалом для дослідження є зіскрібки шийки матки та/або зони трансформації, зроблені цитологічною щіткою шийки матки. Дозволяється збирати матеріал для цитологічного дослідження та дослідження на ВПЛ одним пензлем. Спочатку робиться мазок, потім пензлик поміщається на транспортне середовище. Коли матеріал зібраний, складають щітку, а робочу частину щітки зберігають в умовах транспортування до доставки в лабораторію. Допускається використання універсального зонда для забору матеріалу з цервікального каналу за відсутності цитологічної щіточки. Можливе дослідження слизових статевих органів, зіскрібка з порожнини рота. Дослідження вагінального вмісту та зіскрібок з уретри на практиці незастосовують, оскільки дають менше інформації, ніж зіскрібок з шийки матки. Кількісні дослідження ДНК ВПЛ валідовані та використовуються лише на матеріалі з цервікального каналу. За умови дотримання всіх правил збору матеріалу, вмісту щіток у транспортному середовищі та сорбційних методів виділення ДНК (особливо належать до напівкількісних методів) на основі технології ФЕП та електрофоретичного визначення термінальної флуоресценції).

Висновки до другого розділу

1. Результати рідинної цитології можна порівняти із Пап-тестом. Однак, рідинна цитологія може зменшити кількість негативних результатів. В даний час необхідно широко впровадити програму систематичного скринінгу. Більш

ефективний метод – виявлення високоонкогенної ДНК вірусу папіломи людини небезпечний.

2. Ефективність методу дослідження рідинної цитології доказано тим, що застосування рідинної цитології - нової технології обстеження на рак, в порівнянні з традиційним методом, дозволяє істотно підвищити якість цитологічного мазка, а також надає можливість використовувати додаткові методи діагностики без вторинного гінекологічного обстеження.

3. Вияснилось, що основне завдання цитологічного методу – це скринінг раку шийки матки. Скринінг спрямовано на максимальне виявлення передракових станів у популяції людей за відсутності будь-яких ознак чи проявів хвороби.

РОЗДІЛ III

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Характеристика досліджуваних цитологічних мазків методом рідинної цитології у діагностиці захворювань шийки матки

Робота проводилась на базі лабораторії «Центр лабораторної медицини» у цитологічному відділенні під керівництвом завідуючого відділенням та наукового керівника. Для досягнення поставленої мети та виконання завдань нами було досліджено клітинний матеріал цервікальних мазків 20 хворих із захворюваннями шийки матки. Вік хворих сягав від 35 до 60 років (середній вік $48,6 \pm 0,9$ років).

Спочатку обстеження було проведено в гінекологічному відділенні КНП «Міська студентська лікарня ХМР» гінекологічний огляд, кольпоскопія, а потім матеріал доставлявся у відділенні лабораторії «Центр лабораторної медицини» для подальшого дослідження.

Цервікальні мазки оцінювали із застосуванням традиційної цитології та за допомогою методу рідинного цитологічного дослідження. Матеріал для рідинної цитології отримували із перехідної зони ендocerвіксу, переносили зі щіточкою в середовище накопичення (система CITOSCREEN) та спрямовували до лабораторії. Спочатку відокремлювали клітинний матеріал від щіточки, для визначення щільності клітинної зависі, потім для подальшого розведення у відповідності із групою щільністю, центрифугували клітинну суспензію та нанесли на скло. Отримані препарати, досліджували на дослідницькому мікроскопі "Olympus BX-15" (Японія).

Аномальні кольпоскопічні ознаки діагностовано у 40,0% пацієнток I групи та у 72,5% пацієнток II групи: оцтово-білий епітелій (13,3% - I група, 32,5% - II група), мозаїка (16,7% - I група, 27,5% - II група), пунктуація (10,0% - I група, 42,5% - II група), йод-негативний епітелій (10,0% - I група, 22,5% - II група) та поєднання цих ознак. У решти випадків на екзоцервіксі, доступному візуалізації, відзначалися

різні кольпоскопічні феномени (запалення, кондилома, кератоз), які були як ізольованими, так і у поєднанні з іншими аномальними ознаками.

За результатами традиційного цитологічного дослідження у I групі (рисунок 1) пацієнток "запальний тип мазка" виявлено у 93,3% випадках. У цитологічних мазках визначалися виразна нейтрофільно-лімфоцитарна інфільтрація, клітини епітелію з ознаками дегенеративних змін, збільшені в розмірах та помірно гіперхромні ядра, вакуолізація цитоплазми і ядер, що є проявами дистрофії.

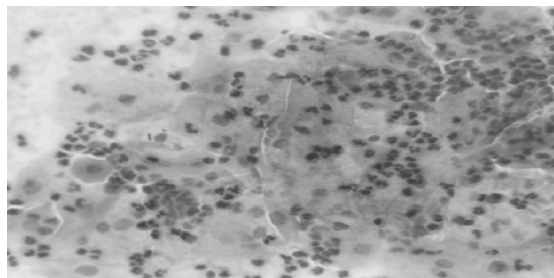


Рис. 1. Мазок із цервікального каналу жінки 32 років (1 група). Клітини багатошарового плоского епітелію на фоні виразної запальної інфільтрації. Забарвлення за Папаніколау. Ок.10, об.40.

У 80,0% випадках у мазках пацієнток I групи зустрічалися дво- та багатоядерні клітини, а також клітини з нерівномірним розподілом хроматину в ядрах, клітини парабазальних шарів з пікнозом ядер, відмічалось порушення дозрівання клітин багатошарового плоского епітелію. Виявлені зміни свідчили про запальну репаративну атипію (псевдодискаріоз), на відміну від справжнього дискаріозу та атипії діагностики між змінами репаративного або запального характеру та цервікальною інтраепітеліальною неоплазією слабкого ступеня (CIN I), яка відповідає легкій дисплазії шийки матки.

Цитологічна картина патологічного вогнища пацієнток II групи у 87,5% випадків відповідала ексудативним і/або дегенеративним змінам на тлі запалення і супроводжувалася типовими ознаками хронічного запалення: клітинна проліферація, інфільтрація, гіпер-, паракератоз і дискератоз (рис. 2).

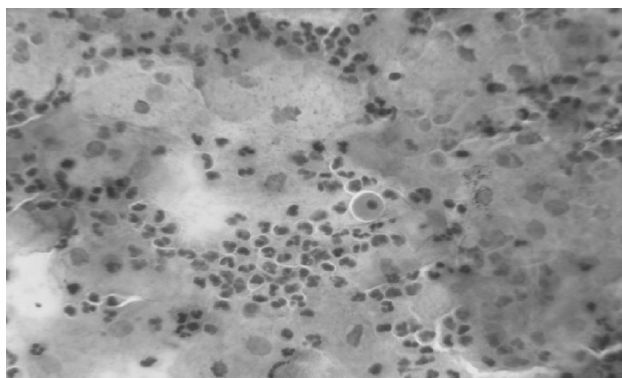


Рис. 2. Мазок із цервікального каналу жінки 27 років (2 група). Клітини багатошарового плоского епітелію з ознаками дистрофічних змін, поодинокі дискератоцити на фоні виразної запальної інфільтрації. Забарвлення за Папаніколау. Ок.10, об.40.

3.2. Дослідження наявності на ВПЛ методом ПЛР-реакції

Діагностику вірусної інфекції проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). На підставі бактеріологічних обстежень, отримані препарати були розподілені на 2 групи: I групу склали 15 жінок із запальними захворюваннями шийки матки, викликаними бактеріальними агентами, II групу склали 5 жінок із запальними захворюваннями шийки матки, викликаними бактеріальними та вірусними агентами (ВПЛ-інфікування). Середній вік обстежених склав $29,5 \pm 2,63$ років. Для оцінки результатів клініко-лабораторних досліджень використовували методи варіаційної статистики. Аналіз результатів на виявлення ВПЛ, було виявлено у 5 пацієток з 15 жінок. Дані наведені таблиці 1.

Таблиця 1

Результати виявлення високоонкогенних штамів ВПЛ методом ПЛР (в абсолютних показниках)

ДНК ВПЛ	Кількість досліджень
Високоонкогенні	5
Не виявлено	10
Всього досліджень	15

Принцип ПЛР - діагностики дуже простий: в тканинних рідинах чужорідна ДНК або РНК зв'язується з вводиться реагентом. При цьому, реактив вибіркового і може зв'язуватися тільки з конкретним видом нуклеїнової кислоти. Таким чином досягається 100% точність методики. А можливість проводити реакцію преципітації з будь-тканинної рідиною робить цей метод ще й найбільш універсальним, простим і зручним.

У жінок II групи відзначалися цитологічні ознаки ВПЛ-інфекції (койлоцитарна атипія, двоядерні клітини, амфотілія цитоплазми, багатоядерні клітини), а також неспецифічні ознаки ВПЛ (збільшення розмірів клітин плоского епітелію, нерівномірне забарвлення цитоплазми, невелика зона просвітлення у клітинах зі збільшеними ядрами, паракератоз і дискератоз) (рисунк 5).

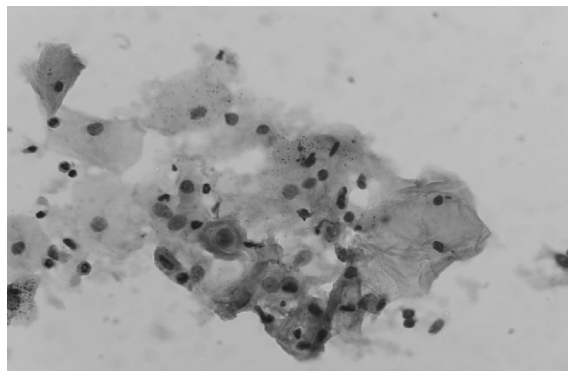


Рис. 5. Мазок із цервікального каналу жінки 24 років з легкою дисплазією шийки матки (2 група). Койлоцитарна атипія та дискератоз на чистому фоні мазка. Метод рідинної цитології. Забарвлення за Папаніколау. Ок.10, об.40.

На підставі проведеного дослідження ми оцінили кількість і характер співпадінь і невідповідностей результатів двох цитологічних методик. Повне співпадіння результатів цитологічних звключень спостерігалось у 67,0% випадків.

3.3. Характеристика бактеріологічного дослідження мазків

Аномальні кольпоскопічні ознаки діагностовано у 40,0% пацієнток I групи та у 72,5% пацієнток II групи: оцтово-білий епітелій (13,3% - I група, 32,5% - II група), мозаїка (16,7% - I група, 27,5% - II група), пунктуація (10,0% - I група, 42,5% - II група), йод-негативний епітелій (10,0% - I група, 22,5% - II група) та поєднання цих ознак. У решти випадків на екзоцервіксі,

доступному візуалізації, відзначалися різні кольпоскопічні феномени (запалення, кондилома, кератоз), які були як ізольованими, так і у поєднанні з іншими аномальними ознаками.

У всіх обстежених жінок I і II груп за результатами бактеріологічного дослідження виявлялася умовно патогенна і/або патогенна бактеріальна, грибкова або змішана мікрофлора. У складі мікробних асоціацій виявлені: *C.trachomatis*, *U.urealyticum*, *M.hominis*, *St.epidermidis*, *Klebsiella*, *Str.viridans*, *Str.faecalis*, *Str.haemolyticus*, *E.coli*, *Proteus*, та *C.albicans*. Під час ідентифікації ДНК ВПЛ віруси високого онкогенного ризику (16, 18, 45, 56) виявлено у 57,5% випадків, ДНК ВПЛ низького онкогенного ризику (6, 11, 40, 42, 43, 44) - у 42,5% обстежених. Поєднання різних типів ВПЛ спостерігалось 32,5% жінок II групи.

Під час ідентифікації ДНК ВПЛ віруси високого онкогенного ризику (16, 18, 45, 56) виявлено у 57,5% випадків, ДНК ВПЛ низького онкогенного ризику (6, 11, 40, 42, 43, 44) - у 42,5% обстежених. Поєднання різних типів ВПЛ спостерігалось 32,5% жінок II групи.

Висновки до третього розділу

Метод рідинної цитології покращує якість дослідження епітелію шийки матки за рахунок отримання повноцінного матеріалу, стандартизації способу приготування препаратів високої якості, що дозволяє значно підвищити якість діагностики. У зв'язку з цим, застосування рідинної цитології, потребує активного впровадження в практику.

Одночасне проведення цитологічного дослідження та генотипування ВПЛ підвищує ефективність цервікального скринінгу та має провідне значення у подальшій індивідуалізованій тактиці ведення пацієнток.

В останні роки цитологічні дослідження доповнилися важливими для діагностики імуногістохімічними методами, які набувають широкого застосування у світі, оскільки відомо, що порушення регуляторних механізмів апоптозу може призводити до проліферації клітин з неопластичними змінами.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Для профілактики передракових станів шийки матки необхідно проводити первинну профілактику вакцинацією проти ВПЛ (тетравалентна вакцина гардасил та бівалентна церварікс).

2. Захворювання шийки матки зустрічаються у 10-15% жінок репродуктивного віку, причому у 80% випадків – це фонові і передракові процеси, а в 72 - 100% – має місце поєднання захворювань шийки матки зі збудниками генітальних інфекцій.

3. Вірус папіломи людини (ВПЛ) ініціює розвиток цервікальної інтраепітеліальної неоплазії (CIN) та раку шийки матки. Всім жінкам із запальною хворобою шийки матки до комплексу стандартних процедур обстеження необхідно включати обстеження на вірус папіломи людини, деталізуючи штами.

4. Цитологічний метод, це – показник ранньої діагностики передракових змін та ранніх стадій раку шийки матки становить 80. Рідинна цитологія шийки матки є інноваційним методом цитологічного дослідження та є «золотим стандартом» діагностики новоутворень слизової оболонки каналу та піхвової частини шийки матки, забезпечуючи хворих на рак або дисплазію.

5. Метод рідинної цитології покращує якість дослідження епітелію шийки матки за рахунок отримання повноцінного матеріалу, стандартизації способу приготування препаратів високої якості, що дозволяє значно підвищити якість діагностики. У зв'язку з цим, застосування рідинної цитології, потребує активного впровадження в практику.

6. Одночасне проведення цитологічного дослідження та генотипування ВПЛ підвищує ефективність цервікального скринінгу та має провідне значення у подальшій індивідуалізованій тактиці ведення пацієнток.

7. В останні роки цитологічні дослідження доповнилися важливими для діагностики імуногістохімічними методами, які набувають широкого застосування у світі, оскільки відомо, що порушення регуляторних механізмів апоптозу може призводити до проліферації клітин з неопластичними змінами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.

1. Акушерство та гінекологія (у 2-х книгах): підручник (за ред. Грищенко В.І., Щербини М.А.) // Медицина, 2011. – 422 с.
2. Апгар Б.С. Клінічна кольпоскопія/Б.С. Апгар, Г.Л. Броцман, М. Шпіцер // Пров. з англ. М.: Практична медицина; - 2012. - 106с.
3. Баггіш М. Кольпоскопія. Атлас-довідник/Пер. з англ. - М.: Практика, 2008.
4. Бакай О.А., Головка Т.С., Коровина Г.С. Компресійна еластографія в комплексному ультразвуковому дослідженні хворих на рак шийки матки. Променева діагностика. Променева терапія. 2017. № 1. С.
5. Бойко І.В. Клінічні особливості хронічного цервіциту, асоційованого з ВПЛ-інфекцією / І.В. Бойко, О.С. Абрамовська, О.М. Ахматова// Акушерство. Гінекологія. - 2008. - №2 (42). - С.20-23.
6. Білинський Б.Т. Медичні помилки в онкології. Львів: Афіша, 2013. – 324с.
7. Воробйова Л. І. Рак шийки матки: шляхи вдосконалення діагностики та лікування // Здоров'я України. - 2009. - № 1/1. - С. 15.
8. Головка Т.С., Бакай О.О. Застосування комплексної сонографії для діагностики раку шийки матки. Інноваційні технології променевих методів досліджень в онкології : матеріали наук.-практ. конф. за міжнар. участі, м. Київ, 15–16 жовтня 2014 р. Київ, 2014. С. 47.
9. Ганскурт Бауер. Кольоровий атлас з кольпоскопії / Пер. з англ. - М.: Геотар-Медіа, 2012.
10. Дорохова О.В., Шпонька О.В., Шпонька І.С., Потапов В.А. Прогностичне та діагностичне значення експресії VEGF при диспластичних та неопластичних процесах шийки матки // Патологія.- 2006.- Т.3, №3. - С. 32-36.
11. Єршов В.А. Механізм розвитку неоплазії при ураженні епітелію шийки матки вірусом папіломи людини високого канцерогенного ризику / В.О. Єршов // Інфекція та імунітет. - 2014.-Т.4.-№ 2.-С.167–172.

12. Ємець Н. О. Лікування запальних захворювань шийки матки хламідійної етіології // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2011. - №1. – С. 110.
13. Захворювання шийки матки та генітальні інфекції / за ред. В.М. Прилепський // М.: Геотар-Медіа, 2016. - 384с.
14. Захарцева Л. М., Пекур Е. А. Частота експресії білка p16INK4a та наявність вірусів папіломи людини при дисплазії шийки матки // Онкологія. - 2013. - Т. 51, № 1. - С. 9-13.
15. Запорожан В.М., Чайка В.К., Маркін Л.Б. Акушерство та гінекологія (у 4-х томах): національний підручник: 2013.
16. Каприн А.Д. Скринінг раку шийки матки – невирішені проблеми / О.Д. Каприн, О.І. Трушіна, О.П. Грецова // Дослідження та практика в медицині. – 2015. – т.2. – №1. – С.36-41.
17. Клінічна кольпоскопія: практичне керівництво/Б.С. Апгар, Г.Л. Броцман, М. Шпіцер; пров. з англ. за ред. В.М. Прилепський, Т. Н. Бебнева М. // Практична медицина. - 2014. - 384с.
18. Костін А.А. Аналіз статистичних даних про злоякісні новоутворення, асоційовані з вірусом папіломи людини / О.О. Костін, В.В. Старинський, Ю.В. Самсонов, А.Т. Асратов // Дослідження та практика в медицині. – 2016. – Том 3. №1. – С.66–78.
19. Любасовська Л.А. Досвід застосування жіночих гігієнічних засобів, що містять пробіотичний штам *Lactobacillus acidophilus*, у жінок репродуктивного віку та у постменопаузі для профілактики опортуністичних інфекцій піхви / Л.А. Любасовська, А.Р. 156 Мелкумян та ін. // Акушерство та гінекологія. - 2018.- 9.- С.126-31.
20. Нестеренко Т.М. Індивідуалізація консервативного лікування хворих на місцево поширений рак шийки матки з урахуванням факторів прогнозу : дис. канд. мед. наук. Київ, 2017. - 164 с.

21. Нарольська А. І. Рідинна цитологія у діагностиці захворювань шийки матки // Збірник наукових праць V Всеукраїнської науково-практичної конференції. Біологічні дослідження молодих учених і студентів.
22. Організація профілактичних медичних оглядів жінок, профілактика та раннє виявлення передпухлинних станів та раку шийки матки / Воробйова Л. І., Коханевич Є. В., Євтушенко Г. В., Лобода В. І — Київ: Український НДІ онкології та радіології МОЗ України, 2007. — 16 с.
23. Онкологія. Вибрані лекції для студентів і лікарів/За ред. В.Ф. Чехуна. — К.: Здоров'я України, 2010. — 768 с.
24. Пилипенко М.І. Радіаційна онкологія: навчальний посібник для студентів-медиків, лікарів-інтернів, лікарів-онкологів усіх профілів/М.І. Пилипенко. — Харків: ХНМУ, 2018. — 538 с.
25. Подольський В.В. Нові можливості лікування дисплазії шийки матки. Медичні аспекти здоров'я жінки. 2019. № 7–8 (128–129). - С. 42–46.
26. Радзішевська Є.Б., Васильєв Л.Я., Вікман Я.Е., Солодовнікова О.О. Результати статистичного аналізу катamnестичних даних хворих на рак шийки матки. Укр. радіол. журн. 2010. Т. 18, вип. 1. - С. 65–70.
27. Рідинна цитологія у діагностиці захворювань шийки матки / Н. Д. Коблош, В. К. Кондратюк // Вісник морфології. — 2014. — 18-21с.
28. Сафонова І.М., Абдуллаєв Р.Я., Паращук Ю.С. та ін. Порівняльний аналіз ехографічних іміджів та даних ендовізуалізації малого таза при дистальній оклюзії маткових труб. Українська асоціація фахівців ультразвукової діагностики: матеріали та тези IV конгресу, 14–16 травня 2012 р. Київ: ВБО «Український доплерівський клуб», 2012. С. 232–234.
29. Спосіб діагностики ступеня гіперплазії ендocerвіксу : пат. 100859 Україна: МПК А61В 8/00 (2015.01). № u 2015 02120 ; заявл. 10.03.2015; опубл. 10.08.2015. Бюл. № 15.
30. Сухін В.С. Ехографічний контроль відповіді пухлини шийки матки на передопераційну хемопроменеву терапію. Укр. радіол. журн. 2010. Т. 18, вип. 2. С. 163–167.

31. Спосіб ультразвукової диференціальної діагностики патології шийки матки : пат. 118834 Україна: МПК А61В 8/00 А61К 35/48 (2015.01) А61Р 15/02 (2006.01). № u 2017 02816 ; заявл. 27.03.2017 ; опубл. 28.08.2017. Бюл. № 16.)
32. Кошторис В. П., Тумилович Л. Г. Неоперативна гінекологія: Керівництво для лікарів. - М.: Медичне інформаційне агентство, 2007. - 592 с.
33. Федоренко З.П., Михайлович Ю.Й., Гулак Л.О. та ін. Рак в Україні, 2018–2019. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюлетень Національного канцер-реєстру України. Київ, 2020. № 21. 146 с.
34. Хміль С.В., Корда І.В., Хміль А.С. Комплексне лікування дисплазії шийки матки та піхви на тлі папіломавірусної інфекції // Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. - 2015. - N 1. – Р. 185 -191.
35. Школа ESGO в Україні «Сучасні підходи до діагностики, лікування і профілактики раку шийки матки» // Жіночий лікар. – 2010. – № 5. – С. 18-21.
36. Шевченко А.І., Попович О.Ю., Колесник О.П. Онкологія. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2009. – 309 с.
37. Шийка матки, піхви, вульва. Фізіологія, патологія, кольпоскопія, естетична корекція: посібник для практикуючих лікарів / за ред. Роговський С.І., Липовий Є.В. // М: Видавництво журналу StatusPraesens. – 2014. – 832с.
38. Шадріна В. С., Коптюх В. І., Маланчин І. М. Імунна корекція патологічних станів шийки матки // Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. – 2015. - N2. – Р. 191 – 192.
39. Abnormal Cervical Cancer Screening Results // The American College of Obstetricians and Gynecologists / January 2016.
40. Aleman L. Time trends of human papillomavirus types in invasive cervical cancer, from 1940 to 2007 / L. Aleman, S. de Sanjose, S. Tous et al. International J Cancer. - 2014.- Vol.135.- №1.- P.88-95.
41. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer / D. Saslow et al.// CA: A Cancer Journal for Clinicians.- 2012.-Vol.62.№3.- P.147-172.

42. Bekos C. Influence of age on histologic outcome of cervical intraepithelial neoplasia during observational management: results from large cohort, systematic review, metaanalysis / C. Bekos, R. Schwameis, G. Heinze, M. Gärner, C. Grimm, E. Joura et al. // Sci Rep.- 2018.
43. Boulet G.A. Human Papillomavirus in cervical cancer screening: important role as biomarker / G.A. Boulet, C.A. Horvath, S. Berghmans et al. // Cancer Epidemiol Biomarkers Prep.- 2008.
44. Bruni L. Global estimates of human papillomavirus vaccination coverage by region and income level: a pooled analysis / L. Bruni, M. Diaz, L. BarrionuevoRosas, R. Herrero, F. Bray, F.X. Bosch, S. de Sanjosé, X. Castellsagué // Lancet Glob Health. – 2016.
45. Caixeta R.C. Association between the human papillomavirus, bacterial vaginosis and cervicitis and the detection of abnormalities in cervical smears from teenage girls and young women / R.C. Caixeta, A.A. Ribeiro, K.D. Segatti, V.A. Saddi, R. Figueiredo, R. Alves, M.A. dos Santos Carneiro et al. // Diagn. Cytopathol. – 2015.
46. . Calil L.N. P16INK4a and Ki67 expression in normal, dysplastic and neoplastic uterine cervical epithelium and human papillomavirus (HPV) infection / L.N Calil., M.I. Edelweiss, L. Meurer et al. // Pathology Res Practice. - 2014.- Vol.210.- Issue 8.- P.482-487.
47. Crisp W. E. Cryosurgical treatment of neoplasia of uterine cervix // Obstet. Gynecol. 1972/ Crosbie E.J. Human papillomavirus and cervical cancer / E.J. Crosbie, M.H. Einstein, S. Franceschi, H.C. Kitchener // The Lancet.и- 2013.
48. Crosbie E.J. Human papillomavirus and cervical cancer / E.J. Crosbie, M.H. Einstein, S. Franceschi, H.C. Kitchener // The Lancet.и- 2013.
49. de Villiers E.M. Cross-roads in the classification of papillomaviruses / E.M. de Villiers // Virology. – 2013/
50. Delmas A.L. et al. WIF1 is a frequent target for epigenetic silencing in squamous cell carcinoma of the cervix / A.L. Delmas et al. // Carcinogenesis. – 2011.
51. Di Paola M. Characterization of cervico-vaginal microbiota in women developing persistent high-risk Human Papillomavirus infection / M. Di Paola, C. Sani, A.M. Clemente et.al. // Sci Rep. – 2017.

52. Elfgen K. Management of women with human papillomavirus persistence: long-term follow-up to a randomized clinical trial / K. Elfgen, K.M. Elfstrom, P. Naucner et al. // American journal of obstetrics and gynecology. - Volume 216.- Issue 3.- March 2017.- P.206–207.
53. Feng Y.K. Relationship of human papillomavirus subtypes and multiple infection with different cervical precancerous diseases in Sichuan Province/Y.K. Feng, Y. Peng, L. Zhu, X.Y. Niu // Sichuan Da Xue Zue Bao Yi Xue Ban. – 2015.
54. Gadducci A. Smoking habit, immune suppression, oral contraceptive use, and hormone replacement therapy use and cervical carcinogenesis: a review of the 166 literature / A. Gadducci, C. Barsotti, S. Cosio et al. // Gynecology Endocrinology. – 2011.
55. Gillet E. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis / E. Gillet, J.F. Meys, H. Verstraelen, R. Verhelst, P. De Sutter, M. Temmerman, D. Vanden Broeck // PLoS One. – 2012
56. He Y. Clinical analysis of cervical intraepithelial neoplasia with vaginal intraepithelial neoplasia / Y. He, Q. Zhao et al. // Medicine. – 2017.- 96.- P.17
57. Hesselink A.T. High-risk human papillomavirus DNA load in a populationbased cervical screening cohort in relation to the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer / A.T. Hesselink, J. Berkhof, D.A. Heideman et al. // Int J Cancer, 2009.
58. Mustafa R.A. Systematic reviews and meta-analyses of the accuracy of HPV tests, visual inspection with acetic acid, cytology, and colposcopy / R.A. Mustafa, N. Santesso, R. Khatib, A.A. Mustafa, W. Wiercioch, R. Kehar et al. // Int. J. Gynaecol. Obstet. – 2016.
59. Nayar R. The Pap Test and Bethesda 2014 / R. Nayar, D.C. Wilbur // Acta Cytol. - 2015.
60. Ordi J. P16INK4a immunostaining identifies occult CIN lesions in HPV-positive women / J. Ordi, S. Garcia, Marta del Pino et al. // International Journal of Gynecological Pathology. – 2009.
61. Pirtea L. Age and HPV type as risk factors for HPV persistence after loop excision in patients with high grade cervical lesions: an observational study / L. Pirtea et al. // BMC Surg. – 2016.

62. Rocha S., Schaefer G., Edelweiss I. A. Cervical cytological screening. Diagn Cytopathol. 2015.
63. Schwartz S.M., Daling J.R., Shera K. et al. Human Papillomavirus and prognosis of Invasive Cervical Cancer: A Population-Based Study // J. Clin. Oncol. – 2001. – Vol.19. – P. 1906-1915.

ДОДАТКИ

Додаток 1



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет



СЕРТИФІКАТ

Цим засвідчується, що

Ференчук Ю. Ю.

**Науковий керівник:
Литвиненко Г. Л.**

брав(ла) участь у роботі III Всеукраїнської
науково-практичної конференції
з міжнародною участю

**YOUTH
PHARMACY
SCIENCE**

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

7-8 грудня 2022 р.
м. Харків
Україна

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 239
по Національному фармацевтичному університету
від 01 листопада 2022 року

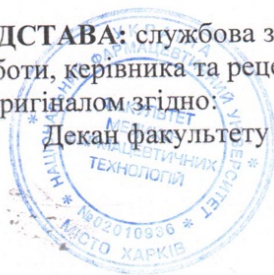
Затвердити тему, керівника та рецензента кваліфікаційної роботи здобувачу вищої освіти заочної форми навчання факультету медико-фармацевтичних технологій НФаУ 2023 року випуску:

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
20.	Ференчук Юлія Юріївна	Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки	Cytological studies in the diagnosis of precancerous diseases of the cervix	доц. Литвиненко Г.Л.	доц. Рябова О. О.

ПІДСТАВА: службова записка завідувача кафедри про затвердження теми кваліфікаційної роботи, керівника та рецензента.

З оригіналом згідно:

Декан факультету медико-фармацевтичних технологій _____ О.І. Набока



НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ПОДАННЯ ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Направляється здобувач вищої освіти Юлія ФЕРЕНЧУК до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 224 Технології медичної діагностики та лікування освітньою програмою Лабораторна діагностика на тему: «Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Ольга НАБОКА/

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувачка вищої освіти Юлія ФЕРЕНЧУК продемонструвала здатність самостійно формувати наукову мету та вирішувати серйозні наукові завдання, використовуючи відповідні методи. За обсягом, науковим рівнем, значимістю отриманих результатів та особистим внеском, виконана робота відповідає вимогам, що висуваються до робіт освітньо-кваліфікаційного рівня магістр. У роботі представлена достатня кількість таблиць та графічних ілюстрацій, що підвищує її цінність.

Керівник кваліфікаційної роботи

Ганна ЛИТВИНЕНКО

«7» грудня 2022 року

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Юлія ФЕРЕНЧУК допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
клінічної лабораторної діагностики

Римма СРЬОМЕНКО

«20» грудня 2022 року

ВИСНОВОК

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти**

№ 110552 від «23» грудня 2022 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Ференчук Юлії Юріївни, 2 курсу, _____ групи, спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування, на тему: «Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки / Cytological studies in the diagnosis of precancerous diseases of the cervix», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

6%

16%

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Витяг з протоколу № 8
засідання кафедри клінічної лабораторної діагностики
від 19 грудня 2022 року, м. Харків**

Присутні: зав. кафедри Єрмоєнко Р.Ф., проф. Литвинова О. М., доц. Должикова О. В., доц. Карабут Л. В., доц. Литвиненко Г. Л., ас. Матвійчук О. П., здобувачі вищої освіти 2 курсу спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування другого (магістерського) рівня.

СЛУХАЛИ: Про представлення до захисту в Екзаменаційній комісії кваліфікаційної роботи на тему «Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки» магістранта випускного курсу НФаУ 2023 року випуску

Ференчук Юлії Юріївни

Науковий керівник:	<u>кандидат медичних наук,</u>
	<u>доцент Литвиненко Г.Л.</u>
Рецензент:	<u>кандидат медичних наук,</u>
	<u>доцент Рябова О.О.</u>

В обговоренні кваліфікаційної роботи брали участь:
проф. Єрмоєнко Р. Ф., проф. Литвинова О. М., доц. Должикова О. В., доц. Карабут Л. В.,
доц. Литвиненко Г. Л., ас. Матвійчук О. П.

ПОСТАНОВИЛИ: Рекомендувати до захисту в ЕК кваліфікаційну роботу магістранта 2 курсу

Ференчук Юлії Юріївни

На тему: «Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки».

Голова

Р.Ф. Єрмоєнко

Секретар

О.П. Матвійчук

Національний фармацевтичний університет

Факультет медико-фармацевтичних технологій

Кафедра клінічної лабораторної діагностики

Ступінь вищої освіти магістр

Спеціальність 224 Технології медичної діагностики та лікування

Освітня програма Лабораторна діагностика

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач(ка) кафедри
клінічної лабораторної
діагностики

Римма ЄРЬОМЕНКО
«07» вересня 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Юлії ФЕРЕНЧУК

1. Тема кваліфікаційної роботи: **«Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки»**,

керівник кваліфікаційної роботи: Ганна ЛИТВИНЕНКО, к.м.н., доцент кафедри клінічної лабораторної діагностики

затверджений наказом НФаУ від «01» листопада 2022 року № 239

2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: грудень 2022 р.

3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: _____

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): _____

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): _____

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Ганна Литвиненко, доцент закладу вищої освіти кафедри клінічної лабораторної діагностики		
2			
3			

7. Дата видачі завдання: «07» вересня 2022 року.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Огляд літератури	Вересень 2022 р.	виконано
2	Підбір матеріалів та методів	Жовтень 2022 р.	виконано
3	Практична частина	Листопад 2022 р.	виконано
4	Оформлення магістерської роботи	Грудень 2022 р.	виконано
			виконано

Здобувач вищої освіти

_____ Юлія ФЕРЕНЧУК

Керівник кваліфікаційної роботи

_____ Ганна ЛИТВИНЕНКО

ВІДГУК

наукового керівника на кваліфікаційну роботу другого (магістерського) ступеня вищої освіти магістр, спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування

Юлії Ференчук

на тему: «Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки».

Актуальність теми. Цитологічні дослідження займають провідне місце в діагностиці передракових захворювань шийки матки та дозволяють знизити захворюваність та смертність на рак шийки матки. Цитологічні методи дослідження в діагностиці захворювань жіночих статевих органів загальновідомі та широко використовуються завдяки їх доступності, високій ефективності та інформативності. Поряд із цим, актуальними залишаються пошук та впровадження нових технологій ранньої діагностики новоутворень шийки матки.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Висновки були добре сформовані по темі роботи та закривали підсумок кожної частини, кінцеві висновки всієї роботи мали загальний короткий ясний та послідовний опис і стали заключенням її на концепті, що був взятий в темі самої роботи та акцентом на актуальні новітні діагностичні показники.

Оцінка роботи Робота побудована у відповідності до чинних вимог, складається зі вступу, огляду літератури, об'єктів, матеріалів і методів дослідження, результатів власних досліджень, висновків, списку літератури. В роботі чітко взята ціль, яка розкривається протягом всієї роботи.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Кваліфікаційна робота магістранта Ференчук Юлії Юріївни на тему «Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки» є самостійною та відповідає всім вимогам і може бути допущена до захисту Державної екзаменаційної комісії.

Науковий керівник

Ганна Литвиненко

«09» грудня 2022 р.

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу другого (магістерського) ступеня вищої освіти магістр, спеціальності 224 Технології медичної діагностики та лікування

Юлії Ференчук

на тему: «Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки».

Актуальність теми. Цитологічні дослідження займають провідне місце в діагностиці передракових захворювань шийки матки та дозволяють знизити захворюваність та смертність на рак шийки матки. Цитологічні методи дослідження в діагностиці захворювань жіночих статевих органів загальновідомі та широко використовуються завдяки їх доступності, високій ефективності та інформативності. Поряд із цим, актуальними залишаються пошук та впровадження нових технологій ранньої діагностики новоутворень шийки матки.

Теоретичний рівень роботи. Ференчук Юлія на теоретичному рівні добре розкрила цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки з лабораторної точки зору, на основі цього було описані лабораторні дослідження, що були представлені в роботі. Результати роботи викладені на 55 сторінках, бібліографічний опис складається із 63 літературних джерел, третина з яких англomовні. Робота поділена на вступ, огляд літератури, розділи об'єктів, матеріалів і методів власних досліджень, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків і списку використаних джерел інформації. Висновки повністю відповідають поставленим завданням, базуються на результатах проведених досліджень.

Пропозиції автора з теми дослідження. Робота була гарно оформлена та зроблена, має актуальність та достатній теоретичний та практичний рівень. Усі вимоги, які потрібно було виконати до роботи, виконані.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Висновки були добре сформовані по темі роботи та закривали підсумок кожної частини, кінцеві висновки всієї роботи мали загальний короткий ясний та послідовний опис і стали заключенням її на концепті, що був взятий в темі самої роботи та акцентом на актуальні новітні діагностичні показники.

Недоліки роботи. Істотних недоліків в дипломній роботі не виявлено.

Загальний висновок і оцінка роботи. Робота повністю відповідає вимогам, які пред'являються до кваліфікаційних робіт і може бути представлена в Державну екзаменаційну комісію для захисту.

Рецензент _____

к.мед.н., доцент Оксана РЯБОВА

«15» грудня 2022 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувач вищої освіти Юлія ФЕРЕНЧУК до захисту кваліфікаційної роботи
за галуззю знань 22 Охорона здоров'я
спеціальністю 224 Технології медичної діагностики та лікування
освітньою програмою Лабораторна діагностика
на тему: «Цитологічні дослідження в діагностиці передракових захворювань шийки матки».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Ольга НАБОКА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Юлія ФЕРЕНЧУК відмінно проявила себе при написанні цієї роботи, дисципліновано проявила ініціативу в дослідженні певних галузей та особливостей цієї теми для кращого розкриття головної цілі. Оформлення та структура кваліфікаційної роботи повністю відповідають вимогам, що висуваються до робіт освітньо-кваліфікаційного рівня магістр. У роботі представлена достатня кількість таблиць та графічних ілюстрацій, що підвищує її цінність.

Керівник кваліфікаційної роботи

Ганна ЛИТВИНЕНКО

«09» грудня 2022 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Юлія ФЕРЕНЧУК допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувач(ка) кафедри
клінічної лабораторної діагностики

Римма ЄРЬОМЕНКО

«19» грудня 2022 року

Кваліфікаційну роботу захищено
у Екзаменаційній комісії

« ____ » _____ 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,
доктор медичних наук, професор

_____ /Наталія БЕЗДІТКО/