

ВІДГУК

офіційного опонента –доктора медичних наук, професора,завідувача кафедри патологічної анатомії № 2 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця Гички Сергія Григоровича на дисертаційну роботу асистента кафедри патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова Сухань Дарини Сергіївни «Патоморфологія хронічного гастриту та ризик виникнення передракових змін слизової оболонки шлунка в залежності від генотипу гелікобактерної інфекції», подану до захисту в спеціалізовану вчену раду Д 64.600.03 при Харківському національному медичному університеті на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія (22 – Охорона здоров'я).

Актуальність теми дисертації

В теперішній час гіпотеза про залучення інфекційного агенту *Helicobacter pylori* в патогенез неопластичних трансформацій слизової оболонки шлунка (СОШ) отримала численні підтвердження. Збудник має геномну мінливість і цілий арсенал факторів патогенності, він активно розвивається навіть в агресивному середовищі шлунка. Саме цим пояснюється науковий інтерес до генетичних детермінант факторів патогенності *Helicobacter pylori*, які здатні впливати на перебіг патологічного процесу. Вважається, що найбільш значимий вплив на процеси проникнення у клітину, її колонізації та подальшої альтерації спричиняють фактори вірулентності CagA, VacA. Розподіл їх варіацій у популяції *Helicobacter pylori* забезпечує геномну гетерогенність збудника та його неоднорідне поширення серед груп пацієнтів різного віку, національності, статі.

Разом з тим, традиційне типування *Helicobacter pylori* не завжди задовольняє тим критеріям, які можуть створити уявлення про вірулентність даної бактерії, так як відомо, що патогенетична роль збудника не обмежується однією патологією. Небезпечним наслідком хронічного

запалення СОШ є неопластична трансформація клітин, що спричиняє соціальні, економічні та психологічні наслідки.

З точки зору превентивної медицини надзвичайно актуальним є напрямок ранньої діагностики та генотипування збудника з метою встановлення ролі конкретного патогенного штаму *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) у виникненні диспластичних змін СОШ. Саме вирішенню даного актуального наукового завдання і присвячена дисертаційна робота Сухань Д.С.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертаційна робота виконана згідно плану науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, затвердженого МОЗ України, та є фрагментом наукової праці кафедри патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова «Рання діагностика диспластичних, метапластичних та неопластичних змін при патології шлунково-кишкового тракту, дихальної, сечостатевої та нейроендокринної системи» (номер Державної реєстрації 0117U000001, 2017–2021 рр.). Автор є співвиконавцем зазначеної теми. Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол № 2 від 17.11.2016 р.).

Наукова новизна одержаних результатів

Дисертантом уперше вивчено поширеність вакуолізуючого та цитотоксичного генотипів *H. pylori* у хворих на хронічні гастрити (ХГ) у Вінницькій області. Встановлено, що серед хворих на ХГ переважали інфіковані *H. pylori* ($\chi^2=4,59$, $p=0,032$) з підвищеним відносним ризиком розвитку ХГ в 1,45 (ДІ: 1,02-2,45) разів при зіставленні з неінфікованими. Досліджена та встановлена роль гелікобактерної інфекції у виникненні диспластичних та атрофічних змін СОШ з урахуванням генотипів та ступеня

контамінації *H. pylori*. За даними уперше проведеного молекулярно-генетичного аналізу у Вінницькій області виявлено перевагу диспластичних змін СОШ у хворих на ХНГ та ХАГ, інфікованих *cagA+*, *vacA s1m1* штамми *H. pylori* ($p < 0,001$ та $p < 0,05$) у порівнянні з групою *cag-*, що дозволило визначити генотип *H. pylori* з найбільшим потенціалом пренеопластичних і неопластичних перетворень СОШ. Доведено зв'язок інвазивності, контамінації та активності *H. pylori* з наявністю патогенних штамів, а саме: вакуолізуючого токсину (*vacA*) та цитотоксинасоційованого білку (*cagA*), що свідчить про високу вірулентність даного штаму *H. pylori* та дозволяє звизити групу онкологічного ризику. Гістохімічний аналіз встановив достовірне зниження продукції нейтральних муцинів та появу сіаломуцинів в ділянках тяжкої дисплазії у хворих на ХНГ та ХАГ з *cagA+vacA s1m1* генотипом.

Уперше проведений лектиногістохімічний аналіз СОШ у *H. pylori* інфікованих пацієнтів виявив модифікацію рецепторів лектинів з їх перерозподілом у ділянках дисплазії СОШ. Доведена інтенсивна експресія лектинів при диспластичних змінах епітелію СОШ у хворих на ХНГ: WGA (75%), CNFA (70%), SNA (75%), HPA (75%), та PNA (60%) та відповідно WGA (80%), CNFA (95%), SNA (80%), HPA (80%), та PNA (70%) у пацієнтів з ХАГ. Легка дисплазія СОШ у *H. pylori+* хворих на ХНГ та ХАГ характеризувалася послабленою продукцією сіаломуцинів, що проявлялось позитивною слабкою експресією SNA (+), посиленням маркуванням лектинів WGA, CNFA, HPA та PNA, негативним маркуванням ConA. Тяжка дисплазія СОШ характеризувалася посиленою продукцією сіаломуцинів, що підтверджувалось позитивною сильною експресією SNA (+++), посиленням маркуванням лектинів CNFA, HPA та PNA, негативною експресією ConA.

Встановлена достовірно вища експресія Ki-67, CyclinD1, та p53 при тяжкій дисплазії СОШ порівняно з легкою у хворих на хронічний неатрофічний та атрофічний *H. pylori*-асоційовані гастрити (ДІ: 99,9%, $p < 0,001$), попри зниження експресії транскрипційного фактору Sox2. Виявлений найбільш специфічний маркер тяжкої дисплазії у хворих на *H.*

pylogi-асоційовані ХГ - р53 (чутливість 98,73%; специфічність 83,38%, ДІ: 95%, $p < 0,05$).

Уперше запропонований алгоритм та патоморфологічна скринінгова система спостереження хворих на хронічний гастрит з урахуванням різних генотипів *H. pylori* для ранньої діагностики передракових змін СОШ.

Теоретичне значення отриманих результатів

Проведені дослідження дозволили доповнити наукові дані про особливості морфологічних змін структурних елементів слизової оболонки шлунка при різних штаммах гелікобактерної інфекції та виявити штам, що веде до передпухлинних змін. Також отримані у науковій роботі результати поглиблюють та доповнюють відомості про особливості імуногістохімічного профілю хворих з передпухлинними змінами слизової оболонки шлунка.

Практичне значення результатів дослідження

Використання результатів наукових досліджень дозволяє підвищити ефективність діагностики хворих з дисплазією на ранніх стадіях розвитку та упередженню трансформації диспластично зміненого епітелію в неопластичний.

Результати роботи можуть бути використані при проведенні обстеження гастроентерологічних хворих для вирішення питань діагностики та прогнозу ХНГ та ХАГ, асоційованих з *Helicobacter pylori*. Проведене дослідження показує необхідність комплексного обстеження хворих з хронічною патологією шлунка та розробки індивідуальних підходів терапії з урахуванням отриманих морфологічних особливостей вакуолізуючого та цитотоксичного генотипів *Helicobacter pylori*.

На основі отриманих даних встановлені чіткі критерії діагностики різних генотипів гелікобактерної інфекції, що дозволяє виявляти та попереджати розвиток неопластичних змін слизової оболонки шлунка, що в подальшому зменшить відсоток раку шлунка. Важливим практичним

значенням даної роботи також є розроблений оптимальний на сьогодні метод комплексної морфологічної діагностики *Helicobacter pylori* із застосуванням полімеразно-ланцюгової реакції

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Наукова робота ґрунтується на достатній кількості спостережень – у дослідження було включено 365 хворих, які були розподілені наступним чином: пацієнти з хронічним неатрофічним гастритом без дисплазії та з диспластичними змінами, пацієнти з хронічним атрофічним гастритом без дисплазії та з диспластичними змінами. Групу порівняння склали 40 обстежених без наявності гастроентерологічної патології в анамнезі. У роботі використані сучасні імуногістохімічні методи, наприклад оцінювалась експресія Ki-67, як маркер проліферації, також оцінювалась експресія p53, як маркер пошкодження ДНК, CyclinD1 – регулятор клітинного циклу, SOX 2 - танскрипційний фактор недиференційованих ембріональних стовбурових клітин. Результати статистично оброблені і добре представлені. Тому отримані висновки дисертації є достовірними та повністю відповідають зазначеним завданням дослідження.

Отримані дані дозволили сформулювати основні положення дисертаційного дослідження, зробити висновки і практичні рекомендації, які є обґрунтованими і достовірними.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті

За матеріалами дисертаційних досліджень опубліковано 12 наукових праць в спеціальних вітчизняних та зарубіжних журналах і збірниках, у тому числі 7 журнальних статей у фахових виданнях, рекомендованих ДАК України, серед яких три роботи включені в журнали, що належать до міжнародних наукометричних баз Scopus та Web of Science. Також у 5

тезах доповідей Всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференцій, конгресах.

У авторефераті лаконічно викладені матеріали дисертаційної роботи, зміст автореферату відповідає змісту дисертації і повністю відображує усі основні положення, висновки та практичні рекомендації.

Структура і зміст дисертації

Оформлення дисертації відповідає сучасним вимогам. Загальний обсяг дисертації викладено на 203 сторінках комп'ютерного набору (основний текст займає 140 сторінок). Робота складається з анотацій українською та англійською мовами, переліку публікацій здобувача, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», чотирьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, який містить 262 джерела (обсягом 30 сторінок), з яких кирилицею – 65, латиницею – 197, додатків. Робота ілюстрована 38 таблицями, 60 рисунками.

У “Вступі”, який викладений на 8 сторінках здобувач обґрунтовує актуальність теми дисертації, її зв'язок з науковими програмами кафедри, мету і завдання дослідження, наукову новизну і практичну значимість роботи, чітко і аргументовано викладені основні концепції дисертації.

Огляд літератури складається з 3-х підрозділів. Автор дає повну характеристику стану проблеми на сьогоднішній день та основних етапів розвитку наукової думки щодо сучасних поглядів на гастроканцерогенез. Послідовно приводить літературні дані, починаючи з історичних аспектів розвитку вчення *Helicobacter pylori*, освітлюючи праці іноземних та вітчизняних авторів підкреслює сучасний погляд на проблему, розкриваючи патогенетичні аспекти різних штамів гелікобактерної інфекції з наступним виявленням впливу на неопластичні зміни. Стисло та критично аналізуючи роботи попередників, здобувач висвітлює питання, що залишилися невирішеними і визначає основні етапи у розв'язанні проблеми. Розділ

закінчується коротким резюме стосовно необхідності подальшої розробки скринінгових програм щодо виявлення *Helicobacter pylori* cag+ vacA s1m1 пацієнтів з урахуванням клініко-патогенетичних особливостей перебігу захворювання.

У розділі 2 "Матеріали та методи досліджень" всі методи дослідження, що були використані автором є сучасними і дають цілком об'єктивно вирішити поставлені завдання, а також відображають загальні характеристики об'єкту та предмету дослідження.

Дослідження виконано на достатньому для отримання достовірних результатів матеріалі (365 пацієнтів). Комплекс сучасних методів дослідження (загальногістологічні, гістохімічні, лектиногістохімічні, імуногістохімічні, цитологічні, молекулярно-генетичні, статистична обробка отриманих результатів) дозволив дисертанту отримати об'єктивні, достовірні, нові дані про особливості морфологічних змін слизової оболонки шлунка в залежності від генотипу гелікобактерної інфекції.

У третьому розділі «Характеристика обстежених пацієнтів в залежності від наявності гену cagA, vacA s1m1», автор знаходить та аналізує взаємозалежності та особливості змін на рівні гісто-морфологічної будови клітин слизової оболонки шлунку від того спектру факторів вірулентності, що здатен використовувати *Helicobacter pylori* під час контамінації в організмі людини і в процесі подальшого розмноження. Окрема увага приділяється тому, як гени здатні ставати тригерним фактором для запуску багатоетапного патологічного процесу. Здобувач, порівнюючи клінічний перебіг хронічного гастриту серед усіх досліджуваних груп пацієнтів доходить впевненого висновку – хворі віком 45 років і більше є носіями *Helicobacter pylori* значно частіше, ніж інші вікові групи – атрофічні зміни в таких пацієнтів мають виражений характер і сприяють неопластичній трансформації з більшою частотою, що вдало резюмовано у висновках дисертаційної праці.

У четвертому розділі «Патоморфологічна характеристика СОШ у *Helicobacter pylori*-інфікованих хворих» доведено, що при порівнянні частоти виникнення дисплазії слизової оболонки шлунка серед хворих на хронічний атрофічний та неатрофічний гастрити, індукованому *cagA*⁺ штамми *Helicobacter pylori* із групою хворих, запалення в яких викликав *cagA*⁻ штам, дисплазія достовірно частіше виникала при визначеному генотипі *cagA*⁺.

У п'ятому розділі «Лектиногістохімічний аналіз епітеліальних компонентів СОШ у хворих на хронічний *Helicobacter pylori*-асоційований гастрит» автор аналізує потенційну роль лектинів - вуглеводних детермінант глікопротеїнів – у визначенні структурних змін, дисплазії та атрофії серед хворих на *Helicobacter pylori*-асоційовані гастрити із різною морфологічною характеристикою. Вказується на особливості трансформації клітинних рецепторів, тропних до певних ділянок вуглеводних детермінант, та їх значний перерозподіл при наявності диспластичних змін у клітинах слизової оболонки шлунку. Це було найбільш характерно для хворих на хронічний гастрит, асоційований з *Helicobacter pylori cagA*⁺ *vacA s1m1* інфекцією.

У шостому розділі «Імуногістохімічна оцінка патоморфологічних змін СОШ з різними генотипами *Helicobacter pylori*» здобувач вказує на закономірності дискоординації процесів проліферації та диференціювання епітеліальних клітин на етапі передракових змін серед клітин слизової оболонки шлунка, зокрема при дисплазії та атрофії, індукованих досліджуваним збудником з конкретним генотипом. Групою ризику було визначено хворих на хронічний гастрит із штамом *Helicobacter pylori cagA*⁺ *vacA s1m1*.

У розділі «Аналіз і узагальнення результатів досліджень» автор методично аналізує кожен з основних розділів наукової праці та знаходить теоретичне обґрунтування і практичне підтвердження для таких, підводить підсумки.

Висновки і практичні рекомендації, що були розроблені в процесі виконання дисертаційної роботи, лаконічно впливають з обговорення

отриманих результатів і в повній мірі віддзеркалюють пункти новизни, мети і завдання дослідження. Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і практичних рекомендацій не викликає сумніву і знаходиться на доказовому рівні, їх достовірність підтверджуються кожним з використаних методів дослідження, репрезентативністю об'єктів спостереження та результатами статистичної обробки отриманого масиву даних.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їхнього змісту і оформлення

Оцінюючи дисертаційну роботу та автореферат Сухань Д.С. в цілому позитивно, слід відмітити деякі недоліки:

- об'єктом дослідження, на мою думку, є хронічний гастрит, зумовлений гелікобактерною інфекцією, а не «патоморфологічні зміни слизової оболонки шлунка у хворих на хронічний гастрит з різним генотипом *Helicobacter pylori*». А предметом дослідження є морфологічні зміни слизової оболонки шлунка при хронічному гастриті в залежності від генотипу гелікобактерної інфекції, які значущі для діагностики та прогнозування передракових змін.
- в матеріалах і методах дослідження слід вказувати не «група контролю», а «група порівняння».
- для кращого візуального сприйняття бажано було підсилити контрастність окремих мікрофотографій: рис. 5.6, 6.11;
- у повторних посиланнях на рисунок або таблицю треба писати (див. рис., див. табл.);
- цифрові дані результатів дослідження, які представлені в таблицях розділів власних досліджень, не слід так часто дублювати у тексті дисертаційної роботи.

Вказані зауваження не є принциповими відносно суті роботи та не зменшують наукової цінності дисертації.

В якості дискусії хотілось би почути від дисертанта відповідь на наступні питання:

1. З чим пов'язана встановлена Вами більш висока активність хронічного гастриту за умов гелікобактерної (cagA+, vacAs1m1)інфекції?
2. За яким механізмом штами *Helicobacter pyloric agA+* спричиняють розвиток нейтрофільної інфільтрації СОШ?
3. Як часто гелікобактерна інфекція в СОШ поєднувалась з грибковою контамінацією?

Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці

Виходячи з характеру роботи, доцільне використання її матеріалів у підготовці студентів медичних вузів як на теоретичних, так і на клінічних кафедрах, а також на курсах підвищення кваліфікації лікарів. Унікальний, розроблений особисто автором алгоритм визначення прогностично значимих гісто- та імуногістохімічних маркерів у випадку дисплазії може бути широко застосований у роботі патологоанатомічних відділень та лабораторій.

Отримані результати досліджень використовуються у практичній роботі комунальної установи «Житомирське патологоанатомічне бюро» Житомирської обласної ради, Вінницького обласного патологоанатомічного бюро, Київської міської клінічної лікарні №1, кафедри патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, кафедри гістології, цитології та ембріології Харківського національного медичного університету, кафедри патологічної анатомії з секційним курсом та судової медицини ТДМУ ім. І. Я. Горбачевського, патологоанатомічного відділення ДУ «Інституту терапії ім. Л. Т. Малої НАМНУ», кафедри патологічної анатомії з секційним курсом Одеського національного медичного університету, кафедри патологічної анатомії №2 НМУ ім. О. О. Богомольця, кафедри патологічної анатомії Сумського державного університету.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

На основі всебічного аналізу представленої роботи можна прийти до висновку, що дисертація Сухань Дарини Сергіївни на тему: «Патоморфологія хронічного гастриту та ризик виникнення передракових змін слизової оболонки шлунка в залежності від генотипу гелікобактерної інфекції» є завершеним, обґрунтованим науковим дослідженням, що вирішує актуальну наукову задачу - удосконалення патоморфологічної діагностики передракових змін СОШ при хронічному гелікобактерному гастриті шляхом встановлення прогностичної значущості факторів вірулентності в залежності від генотипу *H. pylori*.

За актуальністю, методичним рівнем, об'ємом проведених досліджень, теоретичним та практичним значенням дисертаційна робота Сухань Дарини Сергіївни відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів» Постанови Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів № 656 від 19.08.2015 року та № 1159 від 30.12.2015 року) щодо кандидатських дисертацій а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія.

Офіційний опонент,
завідувач кафедри патологічної анатомії № 2
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця,
д.мед.н., професор

