

## ВІДГУК

офіційного опонента – доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри патологічної анатомії Медичного інституту Сумського державного університету Романюка Анатолія Миколайовича на дисертаційну роботу 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

На сьогодні до основних передракових станів відносять хронічний атрофічний гастрит та інфекцію *Helicobacter pylori*, а до основних передракових морфологічних змін - кишкову метаплазію та дисплазію епітелію слизової оболонки шлунка (СОШ).Щодо *Helicobacter pylori*-асоційованого гастриту, як передракового захворювання,на теперішній час існують різноманітні, часто суперечливі дані. За експертною оцінкою Міжнародного агентства з вивчення раку, інфекція *Helicobacter pylori* визнана канцерогеном 1 групи, проте механізми запуску неопластичних трансформацій СОШ залишаються до кінця не з'ясованими. Останні дослідження свідчать, що важкість перебігу залежить він геному збудника, зокрема, від наявності в нього специфічних факторів CagA та VacA. Вважається, що їх ізольована та сумісна активність здатна модулювати перебіг захворювання, тому виникає наскрізне питання щодо визначення взаємозв'язку між тим, які білки вірулентності експресує збудник, та змінами в клітинах хазяїна, що спричинюються різними штамми *Helicobacter pylori*.

Рання діагностика передракових станів на основі додаткових генетичних маркерів патогенності *Helicobacter pylori* створює нові можливості для попередження неопластичної трансформації та покращує здатність до

прогнозування клінічних наслідків патології.

Дисертаційна робота Сухань Д.С. присвячена вирішенню актуальному питанню сучасної гастроентерології - верифікації зв'язку між генотипом збудника та особливостями перебігу передракових захворювань шлунка з проспективною патоморфологічною оцінкою перебігу захворювання як у інфікованих, так і *Helicobacter pylori* -негативних осіб.

### **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**

У процесі виконання роботи дисертантом уперше вивчено поширеність вакуолізуючого та цитотоксичного генотипів *H. pylori* у хворих на ХГ у Вінницькій області. 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 хронічний неатрофічний гастрит (ХНГ) та хронічний атрофічний гастрит (ХАГ), інфікованих *cagA+* *vacA s1m1* штамми *H. pylori* ( $p < 0,001$  та  $p < 0,05$ ) у порівнянні з групою *cagA-*, 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 та цитотоксин асоційованого білку, 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 у ділянках тяжкої дисплазії (ТД) 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 (ЛД) 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 підтверджувалося позитивною сильною експресією SNA (+++), посиленням маркуванням лектинів CNFA, HPA та PNA, негативною експресією ConA.

Встановлена достовірно вища експресія Ki-67, Cyclin D1 та p53 при ТД 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 ТД у хворих на *H. pylori*-асоційовані ХГ – p53 (чутливість 98,73%; специфічність 83,38%, ДІ: 95%,  $p < 0,05$ ).

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

## **Теоретичне значення отриманих результатів**

Отримані результати дисертаційного дослідження розширюють можливості сучасної морфології, доповнюючи та поглиблюючи її відомості про особливості змін слизової оболонки шлунка при різних штаммах гелікобактерної інфекції. Визначений в дисертаційній роботі лектиновий профіль у хворих з неопластичними змінами слизової оболонки шлунка покращує розуміння клініко-морфологічних особливостей даних передракових змін.

## **Практичне значення результатів дослідження**

Отримані в дисертаційній роботі дані можуть бути використані в практичній роботі лікарів-патологоанатомів, гастроентерологів та сімейній медицині, роботі науково-дослідних підрозділів відповідного профілю, у навчальному процесі на кафедрах патологічної анатомії, терапії в закладах медичної освіти.

З практичної точки зору суттєвим є розроблена скринінгова програма спостереження за хворими з передраковими станами СОШ з урахуванням генотипів *H. pylori*, що сприятиме діагностуванню дисплазії на ранніх стадіях розвитку та упередженню трансформації диспластично та атрофічно зміненого епітелію в неопластичний.

Отримані в дослідженні дані уточнюють представлення про структурні перебудови СОШ при хронічних гастритах, асоційованих з *H. pylori*, що має істотне значення для розуміння особливостей морфофункціонального стану шлунка в умовах персистенції *H. pylori*. Результати роботи можуть бути використані для розширення комплексу діагностичних заходів при проведенні досліджень в клінічній роботі гастроентеролога та сімейного лікаря, що спостерігають хворих з генотипом *cagA+ vacA s1m1 H. pylori* до та після ерадикації, для вирішення питань діагностики та прогнозу ХНГ та ХАГ, асоційованих з *H. 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 *H. pylori*.

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

Дисертаційне дослідження виконане на достатньому за обсягом матеріалі. Групу дослідження склали 325 осіб з діагнозом ХГ, до контрольної групи увійшли 40 осіб без наявності гастроентерологічної патології в анамнезі.

Застосовані дисертантом методи морфологічних досліджень є високоінформативними і дозволяють всебічно розкрити суть структурних змін слизової оболонки шлунка при різних варіантах хронічного гастриту. Застосовані сучасні патоморфологічні методи дозволили автору порівняти отримані дані з результатами контрольних досліджень. Обґрунтованість та достовірність наукових положень та висновків підтверджена достатньою кількістю морфологічних досліджень. На основі ретельно проведеного патентно-ліцензійного пошуку робіт вітчизняних і зарубіжних авторів з даного питання, дисертант логічно і цілеспрямовано зосередила увагу на невирішених завданнях, що значно підвищує цінність проведеного дослідження.

### **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 стисло викладені усі матеріали дисертаційної роботи, зміст автореферату відповідає змісту дисертації і повністю відображує усі основні положення, завдання та висновки.

## Оцінка змісту дисертації

Дисертація побудована за загальноприйнятою схемою, викладена на 203 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій українською та англійською мовами, переліку публікацій здобувача, переліку умовних позначень, вступу, аналітичного огляду літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», чотирьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел, який містить 262 джерела (обсягом 30 сторінок), з яких кирилицею – 65, латиницею – 197, додатків. Робота ілюстрована 38 таблицями, 60 рисунками.

Анотація дисертації подана двома мовами, зі списком публікацій здобувача, що віддзеркалюють основні результати дослідження та засвідчують апробацію отриманих матеріалів. Ключові слова відповідають основному змісту наукової праці та відображають тематику дослідження.

У “Вступі”, дисертант переконливо обґрунтовує актуальність теми наукової роботи та необхідність вирішення мети дослідження – удосконалення патоморфологічної діагностики передракових змін слизової оболонки шлунку при хронічному гелікобактерному гастриті шляхом встановлення прогностичної значущості факторів вірулентності в залежності від генотипу *H. pylori*. У цьому розділі чітко сформульовано об'єкт та предмет дослідження.

У розділі “Сучасний погляд на гелікобактерну інфекцію та її роль у виникненні передракових змін при хронічному гастриті” який викладений у 3-х підрозділах детально та чітко охарактеризовано сучасні погляди на генетичні фактори патогенності *Helicobacter pylori*, де виявлено найбільш значущі штами гелікобактерної інфекції у ініціації каскаду патологічних трансформацій. Дисертант детально аналізує особливості секреції слизу у хворих на хронічний гастрит, а також описує сучасні можливості для виявлення передракового потенціалу дисплазії.

У розділі 2 "Матеріали та методи досліджень" послідовно викладені всі

етапи дослідження. Для аналізу патогістологічних характеристик вказані провідні методи досліджень з урахуванням сучасних систем, алгоритмів та методик виявлення морфофункціональних змін слизової оболонки шлунку.

Дослідження ґрунтується на фактичному матеріалі з кількісно й якісно репрезентативною вибіркою - 365 пацієнтів, серед яких 40 пацієнтів без патології шлунково-кишкового тракту.

У третьому розділі «Характеристика обстежених пацієнтів в залежності від наявності гену *cagA*, *vacA* *s1m1*», розглянуто поширеність гелікобактеріоза у дорослих Вінницької області з різними формами хронічного гастриту. Проведено статистичний аналіз даних полімеразно-ланцюгової реакції, щодо розподілу патогенних штамів та їх алельних варіантів серед обстежених пацієнтів, що дозволило виокремити основну дослідницьку групу. Доведено, що диспластичні перетворення слизової оболонки шлунку достовірно частіше зустрічаються у хворих на хронічний гастрит інфікованих *cagA*<sup>+</sup> *vacA* *s1m1* штамми *Helicobacter pylori*.

У четвертому розділі «Патоморфологічна характеристика СОШ у *Helicobacter pylori*-інфікованих хворих», який складається з двох підрозділів.

Перший підрозділ 4.1 «Результати гістологічного та цитологічного дослідження слизової оболонки шлунку у *Helicobacter pylori*-інфікованих хворих» четвертого розділу результатів власних досліджень включає глибокий аналіз патологічних змін як на клітинному рівні, так і на тканинному. Вдалий вибір цитологічних барвників дозволяє виявити ступінь контамінації слизової оболонки шлунку *Helicobacter pylori*, а також поширеність та локалізацію бактерії при різних її штаммах у всіх досліджуваних групах.

У підрозділі 4.2 «Гістохімічна характеристика патоморфологічних змін СОШ з різними генотипами *Helicobacter pylori*» досліджено склад вуглеводно-білкових сполук шлункового слизу у хворих з передраковими станами при наявній дисплазії та атрофії, тому подібний метод можна застосувати для інформативної діагностики атрофічних змін.

У п'ятому розділі «Лектиногістохімічний аналіз епітеліальних

компонентів СОШ у хворих на хронічний *Helicobacter pylori*-асоційований гастрит» на основі застосування такого методу дослідження, як лектинове зондування дисертант зміг визначити зміни вуглеводневих детермінант глікопротеїнів у структурних компонентах слизової оболонки шлунку у всіх досліджуваних групах. Також встановлена модифікація ряду лектинів у ділянках з диспластично та атрофічно зміненою слизовою оболонкою шлунка, що створює можливість подальшого використання даного методу, як діагностичного та прогностично значимого при даній патології.

У шостому розділі «Імуногістохімічна оцінка патоморфологічних змін СОШ з різними генотипами *Helicobacter pylori*» визначено найбільш специфічний маркер p53 щодо тяжкої дисплазії у хворих на *H. pylori*-асоційовані хронічні гастрити. Отримані дані можна використовувати в диференційній діагностиці легкої та тяжкої дисплазії що сприятиме покращенню тактики ведення пацієнта.

У розділі «Аналіз і узагальнення результатів досліджень» здобувач, базуючись на результатах власного дослідження запропонувала скринінгову систему ранньої діагностики диспластичних змін СОШ з урахуванням генотипу гелікобактерної інфекції. Дисертант комплексно підсумовує отримані дані, проводить паралелі між патологічними станами та їх ймовірними причинами, порівнює результати власного дослідження з масштабними роботами світового рівня, присвячених питанню генетичних детермінант патологічного впливу *Helicobacter pylori*.

Робота закінчується 6 висновками та практичними рекомендаціями, що містять пропозиції щодо діагностичної тактики ведення хворих на хронічний гастрит.

#### **Недоліки дисертації та автореферату щодо їхнього змісту і оформлення**

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

У Розділі 4 підрозділі 4.2 «Результати гістологічного та цитологічного дослідження слизової оболонки шлунку у *Helicobacter pylori*-інфікованих



хворих» частина речення не несе смислового навантаження, так наприклад: «дослідження складу вуглеводно-білкових сполук шлункового слизу у хворих з передраковими станами при наявній дисплазії та атрофії може бути інформативним щодо прогнозу останньої» має узагальнюючий характер.

Окремі твердження виходять за межі заявленої методології (Розділ 4 підрозділ 4.1 «Результати гістологічного та цитологічного дослідження слизової оболонки шлунка у *Helicobacter pylori*-інфікованих хворих» - речення «При цьому за даними анамнезу у них також виявлялися ознаки диспепсії»), хоча і розширюють розуміння про хід наукового пошуку дисертанта.

Пунктуаційні помилки зустрічаються нерегулярно, але вони присутні, як і стилістичні неточності, особливо у масивних блоках тексту, не розбитих на окремі речення. Вищевказані недоліки та зауваження не вважаю такими, що зменшують актуальність та наукову цінність виконаної дисертаційної праці.

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

1. Які гістохімічні методики були найбільш інформативними у випадках ТД СОШ?
2. Про що свідчить виявлене Вами зниження секреції нейтральних муцинів шлунковими епітеоліцитами?
3. Чим обумовлений вибір саме каспази-3 для діагностики апоптозних змін шлункового епітелію?

### **Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці**

Доцільне використання матеріалів дисертації у гастроентерологічних клініках та відділеннях, практичній роботі сімейного лікаря, а також у патогістологічних лабораторіях та установах.

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**

Дисертаційна робота Сухань Д.С. представлена на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук є самостійною, завершеною науково-дослідницькою роботою, яка вносить вагомий внесок як у теоретичну так і практичну медицину.

Вважаю, що дисертація Сухань Д.С. на тему: «Патоморфологія хронічного гастриту та ризик виникнення передракових змін слизової оболонки шлунка в залежності від генотипу гелікобактерної інфекції» за науковою новизною, актуальністю, теоретичною і практичною значимістю 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

Медичного інституту Сумського державного університету

д.мед.н., професор

А.М. Романюк

