

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2018-22(4)-18

УДК: 579.835:616.33-002.2

ПРОГНОСТИЧНІ АСПЕКТИ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОЇ ОЦІНКИ КЛІТИННОГО ОНОВЛЕННЯ ТА ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРУ Sox2 ПРИ ПЕРЕДРАКОВИХ ЗМІНАХ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ЗАЛЕЖНО ВІД ГЕНОТИПУ HELICOBACTER PYLORI У ХВОРИХ НА РІЗНІ ТИПИ ХРОНІЧНОГО ГАСТРИТУ

Сухань Д.С., Вернигородський С.В.

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:
e-mail: d.suxan@gmail.com

Статтю отримано 8 жовтня 2018 р.; прийнято до друку 19 листопада 2018 р.

Анотація. Передраковий потенціал хронічного гастриту (ХГ), асоційованого з *H. pylori*, обговорюється в численних працях і на сьогодні ХГ посідає центральне місце в передпухлинних станах шлунка. Досить переконливою теоретичною базою для такої оцінки ХГ є найхарактерніша його ознака - порушення клітинного оновлення з перевагою фази проліферації над фазою диференціації. Проте визначення ступеня проліфераційної активності та порушення диференціації епітелію слизової оболонки шлунка (СОШ) залишається до кінця не з'ясованим. Метою нашого дослідження стала імуногістохімічна оцінка експресії Ki-67, Cyclin D1, p53, CPP32, HER2 та транскрипційного фактора Sox2 в епітеліоцитах СОШ у хворих на *H. pylori*-асоційовані хронічні гастрити. Для виконання поставленої мети використовували гістологічний, цитологічний, імуногістохімічний, молекулярно-генетичний, морфометричний та статистичний методи дослідження. Нами встановлено, що при хронічному *H. pylori*-асоційованому неатрофічному гастриті (ХНГ) у порівнянні з *H. pylori* збільшувався темп оновлення епітелію СОШ, що характеризується достовірним посиленням експресії каспази-3 і маркерів проліферації Ki-67, цикліну D1 ($p < 0,001$) з розширенням проліфераційного компартмента та зон апоптозу. Експресія Ki-67, Cyclin D1 та p53 при тяжкій дисплазії (ТД) СОШ була достовірно ($p < 0,05$) вищою, порівняно з легкою у хворих на хронічний неатрофічний та атрофічний *H. pylori*-асоційовані гастрити, попри зниження експресії транскрипційного фактора Sox2 та каспази-3 у випадках з ТД. Найбільш специфічним маркером щодо визначення ТД у хворих на *H. pylori*-асоційований ХГ виявився маркер p53 (чутливість 98,73%; специфічність 83,38%, ДІ: 95%, $p < 0,05$). З урахуванням імуногістохімічних маркерів *H. pylori* розроблена скринінгова система для ранньої діагностики передракових змін СОШ, що сприятиме оптимізації лікувальної тактики хворих на хронічні гастрити та підвищить ефективність виявлення диспластичних та атрофічних змін СОШ на їх ранніх стадіях розвитку.

Ключові слова: *Helicobacter pylori*, хронічний гастрит, морфологічні зміни, імуногістохімічний аналіз, Ki-67, Cyclin D1, p53, CPP32, HER2, транскрипційний фактор Sox2.

Вступ

Порушення координації між процесами проліферації та диференціювання епітеліоцитів при передракових змінах СОШ, зокрема при дисплазії та атрофії, лежить в основі дисрегенераційних змін, що супроводжуються підвищенням проліфераційної активності ДНК-синтезуючих клітин ямкового та шийкового епітелію, зміною їх диференціації в процесі постійного оновлення епітеліального шару. Одним з найбільш частих маркерів, що використовується для оцінки проліферації є ядерний антиген Ki-67, оскільки він виявляється у всіх активних фазах клітинного циклу (G_1 , S, G_2 та M), але відсутній у фазі спокою (G_0) [19]. Йому надається перевага відносно PCNA, який бере участь у репарації ДНК, що може відбуватися в G_0 -фазі клітинного циклу. Крім цього нами була вивчена експресія Cyclin D1 та Sox2. Як відомо перехід клітини із точки G_0 в G_2 характеризується утворенням комплексів циклінів групи D [16]. Показники експресії цикліну D1 є вагомим прогностичним маркером проліферативної активності пухлинних клітин, проте роль його при передракових змінах СОШ залишається до кінця не визначеною.

Sox2 - транскрипційний фактор, що приймає участь в індукції та підтримці плюрипотентності камбіальних

стовбурових клітин. Роль його гастроканцерогенезі залишається не вивченою [10]. В останній час все більше значення надається визначенню експресії рецепторів з тирозинкіназою активністю родини ErbB (EGFR, HER2) та каспазам при передракових станах та раку шлунка для планування лікування та визначення прогнозу неоплазії [1, 9, 20]. У зв'язку з недостатнім висвітленням даного питання в проаналізованій літературі за нашою думкою, доцільно було дослідити рівень експресії вказаних маркерів при передракових змінах, зокрема при дисплазії та атрофії СОШ.

Метою нашого дослідження стала імуногістохімічна оцінка експресії Ki-67, Cyclin D1, p53, CPP32, HER2 та транскрипційного фактора Sox2 в епітеліоцитах СОШ у хворих на *H. pylori*-асоційовані хронічні гастрити.

Матеріали та методи

Групу дослідження склали 325 осіб з діагнозом ХГ: 111 жінок (середній вік $49,8 \pm 13,4$) і 214 чоловіків (середній вік $48,8 \pm 13,6$). До контрольної групи увійшли 40 осіб (18 жіночої та 22 чоловічої статі, середній вік яких складав $45 \pm 15,9$ та $42,8 \pm 12,3$, відповідно) без наявності гастроентерологічної патології в анамнезі (табл. 1). Се-

ред пацієнтів з ХГ виділяли групи: хронічний неатрофічний гастрит (188 осіб) та хронічний атрофічний гастрит (137 осіб). В роботі з обстеженими дотримувалися етичних принципів Гельсінської Декларації Всесвітньої медичної асоціації (World Medical Association Declaration of Helsinki; 1964). Усі пацієнти були ознайомлені та підписали інформовану згоду, що підтверджує їх добровільну участь у дослідженні.

У процесі ФЕГДС виконували множинні біопсії - по 2 біоптата з тіла та антрального відділу шлунка та 1 з ділянки кута шлунка. Патологістологічне дослідження біоптатів для верифікації діагнозу проводили відповідно до вимог морфологічного розділу модифікованої Сіднейсько-Х'юстонської системи [7]. Визначення персистенції *H. pylori* у СОШ проводили за допомогою уреазного тесту, цитологічно за Папенгеймом та гістологічно - забарвленням за Романовським-Гімзою, толуїдиновим синім за В. Slater [15]. Генотипування гелікобактерної інфекції виконувалося за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Для подальшого порівняльного аналізу з результатами генотипування *H. pylori* використовували власні дані, отримані при обстеженні 40 практично здорових осіб, серед яких 17 були інфіковані на *H. pylori*. Для визначення ступеня дисплазії використовували критерії, що запропоновані експертами ВООЗ [4], та розроблені на основі Віденської класифікації неоплазій гастроінтестинального епітелію [12]. За наявності *H. pylori*-інфекції усі випадки спостережень були розділені на дві групи: *H. pylori*-позитивні і *H. pylori*-негативні.

Імуногістохімічні дослідження виконували на парафінових зрізах з використанням стрептавідин-біотинного методу ("DAKO", Данія, LSAB2 Systems, HRP). Демаскування антигену проводили в цитратному буфері з рН 6,0. В якості первинних антитіл застосовували мишачі та кролячі моноклональні антитіла. Ядра клітин дофарбовували гематоксиліном Майера впродовж 15-60 сек. Проліфераційну активність клітин оцінювали за допомогою мишачих моноклональних антитіл до ядерного антигену Ki-67 ("DAKO", клон MIB-1, Данія), як найчутливішого маркеру проліферації за методом Т. Scholzen [13].

У препаратах при 400-кратному збільшенні мікроскопа визначали індекс проліферації (ядерна мітка Ki-67) у 10 випадково вибраних полях зору (≥ 500 клітин) як частку у відсотках позитивно забарвлених ядер епітеліоцитів СОШ в трьох компартментах (I - поверхневий та ямковий епітелій; II - перешийкова зона, III - основа залоз, середня та нижня третина залоз до базальних відділів). Аналогічним чином визначали індекс мітки p53 - маркера пошкодження ДНК, Cyclin D1 - регулятор клітинного циклу, транскрипційного фактора недиференційованих ембріональних стовбурових клітин Sox2.

Для оцінки експресії трансмембранного рецептора тирозинкінази HER2, а також апоптозу (перинуклеарна або цитоплазматична мітка CPP32 - caspase-3) у СОШ в аналогічних ділянках використовувалася на-

Таблиця 1. Розподіл хворих за нозологією залежно від віку.

Нозологія \ Вік (роки)	Вік (роки)			
	до 25 (ч/ж)	26-44 (ч/ж)	45-59 (ч/ж)	60 та < (ч/ж)
Нормальна СОШ	4(2/2)	19(11/8)	11(7/4)	6(2/4)
ХНГ без Д	10(7/3)	27(18/9)	14(9/5)	5(3/2)
ХНГ з Д	4 (3/1)	42(29/13)	56(36/20)	30(20/10)
Легка	3(2/1)	29(20/9)	33(21/12)	17(11/6)
Тяжка	1(1/0)	13(9/4)	23(15/8)	13(9/4)
ХАГ без Д	-	8(5/3)	10(6/4)	22(14/8)
ХАГ з Д	2(1/1)	19(14/5)	43(28/15)	33(21/12)
Легка	2(1/1)	15(12/3)	31(19/12)	19(13/6)
Тяжка	-	4(2/2)	12(9/3)	14(8/6)
Всього	20(13/7)	115(77/38)	134(86/48)	96(60/36)

півкількісна шкала оцінки інтенсивності забарвлення: 0 (відсутня) - відсутність позитивної реакції в клітинах, 1 (слабка) - до 30% клітин, що відреагували позитивно, 2 (помірна) - 31-60%, 3 (сильна) - 60% і більше забарвлених клітин [6].

Статистична обробка проводилася за допомогою програми Microsoft Office Excel 2003 та "Statistica 5.0". Вираховували середню арифметичну величину M , її похибку m . Достовірність різниці середніх величин оцінювали за критерієм Ст'юдента, різницю вважали достовірною при $p < 0,05$. Для перевірки статистичних гіпотез абсолютних і відносних частот в незалежних вибірках використовувався критерій χ^2 , при частоті досліджуваної події менше 5 спостережень для аналізу відмінності частот у двох незалежних групах використовували точний критерій Фішера, довірчі інтервали, що наводяться в роботі, будувалися для довірчої ймовірності $p=95\%$. У всіх процедурах статистичного аналізу розраховувався досягнутий рівень значущості (p), при цьому критичний рівень значущості приймався рівним 0,05. Ступінь вираженості асоціації персистенції *H. pylori* з розвитком ХГ та атрофічними змінами СОШ визначали шляхом розрахунку коефіцієнтів відношення шансів (ВШ) і відносного ризику (ВР) та їх довірчих інтервалів (ДІ).

Результати

Враховуючи відомості про те, що розвиток хронічного гелікобактерного гастриту завжди супроводжується порушенням клітинного оновлення СОШ [14] нами був вивчений стан проліфераційної активності епітелію у хворих на ХГ, асоційований з *H. pylori*, як з диспластичними та атрофічними змінами епітелію СОШ, так і за їх відсутності. В групі як фундального, так і антрального ХНГ *H. pylori* (-), встановлено перевагу експресії Ki-67 в перешийковій зоні залоз та Cyclin D1 у шийковому відділі СОШ (II-й компартмент СОШ), поодинокі позитивні клітини відзначалися інколи і в ямковому епітелії та інших компартментах, проте в жодному випадку ми не виявляли розширення маркування Ki-67 та цикліну D1 з втягненням всіх клітин шлункового компартменту, які ми

поділяли на I - поверхневий та ямковий епітелій; II - перешийкова зона, III - основа залоз, середня та нижня третина залоз до базальних відділів. Для даних антитіл характерними були маркувальні мітки у вигляді різного розміру та щільності темно-коричневих гранул в ядрах клітин (рис. 1).

У хворих на ХНГ без дисплазії, асоційований з гелікобактерною інфекцією, особливо в групі *cagA* (+) та *vacA* s1m1 генотипом в окремих випадках мітка була виявлена на вершинах валиків, що характеризувало розширення меж проліферативного компартменту вгору та вниз у вигляді поширення зони Ki-67 позитивно забарвлених ядер епітеліоцитів (рис. 2) з виявленням достовірних відмінностей від групи з *H. pylori* негативним ХНГ та *H. pylori*+ (*cagA*-) та порівняно зі здоровими особами ($p < 0,001$ відповідно), у яких спостерігали слабку експресію Ki-67 (табл. 1).

Як видно з таблиці 2, у хворих на ХНГ з дисплазією, асоційований з гелікобактерною інфекцією, особливо в групі *cagA*+ та *vacA* s1m1 генотипом проліферативна активність у порівнянні з групою без дисплазії була збільшена майже в два рази у випадках з легкою дисплазією (ЛД) та у три рази при тяжкій дисплазії (ТД).

У хворих на ХАГ при наявності *H. pylori*, як з дисплазією, так і без неї відмічено розширення проліферативного компартменту з появою мічених клітин як в покровно-ямковому епітелії (ПЯЕ), так і в епітелії залоз. При оцінці індексів проліферації Ki-67 у хворих на ХНГ та ХАГ безпосередньо в ділянках дисплазії, відзначали наступні особливості: у разі ЛД маркування Ki-67 спостерігалось переважно в нижній та середній третинах залоз, своєрідна верхня межа проліферації являла собою зону перемички (компартмент II), проте при ТД як правило були втягнуті всі три компартменти СОШ (рис. 3). У хворих на хронічний атрофічний гелікобактерний гастрит з дисплазією виявляється підвищена проліферація епітеліоцитів за Ki-67 у СОШ антрального відділу порівняно зі здоровими особами *H. pylori*- та *H. pylori*+ та *cagA*-, у яких спостерігали слабку експресію Ki-67, ($0,754 \pm 0,021$ проти $0,163 \pm 0,008$, $0,663 \pm 0,014$ відповідно, $p < 0,001$, $p < 0,01$), що свідчило про суттєві порушення оновлення епітелію. У хворих на ХАГ (*H. pylori*, *cagA*+) з ТД встановлено достовірно вищий індекс проліферації в порівнянні з ЛД (див. табл. 2).

При імуногістохімічній оцінці експресії *Cyclin D1* встановлено, що вона спостерігалася як правило в шийкових відділах СОШ, де переважно реєструвалися клітини, які увійшли у синтетичну фазу клітинного циклу. При цьому в групі практично здорових пацієнтів як *H. pylori*-, так й *H. pylori*+, виявлено його слабе маркування (рис. 4, табл. 2). У той час як у хворих на ХНГ у *H. pylori*- кон'югація даного маркера посилювалися від слабкої до помірної тільки у двох чоловіків, а при *H. pylori*+ ХНГ, вона була помірною та спостерігалася у 10 (38%) пацієнтів. У той час, як у хворих з ХНГ *H. pylori*+, *cagA*+, *vacA* s1m1 в основній масі реєструвалися випадки з помірною інтен-

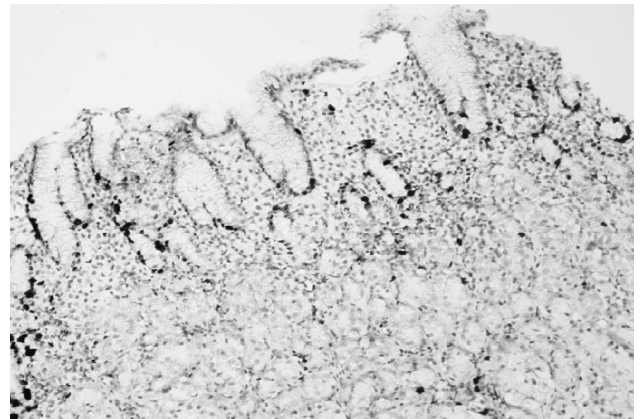


Рис. 1. Слабка експресія Ki67 в незміненій СОШ фундального відділу, з локалізацією переважно в перешийкових зонах. ІГХ-маркування Ki-67, x 100.

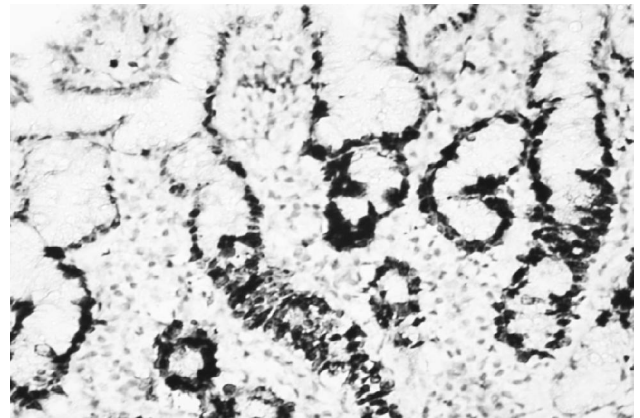


Рис. 2. Розширення проліферативного компартменту у хворого на ХНГ, асоційований з *H. pylori* *cagA*+, *vacA* s1m1. ІГХ-маркування Ki-67, x 400.

Таблиця 2. Проліфераційна активність СОШ за Ki-67 в обстежених осіб ($M \pm m$).

Нозологія	<i>H. pylori</i> (-)	<i>H. pylori</i> (+)	
		<i>cagA</i> (-)	<i>cagA</i> (+) <i>vacA</i> s1m1
Нормальна СОШ	$0,163 \pm 0,008$	$0,244 \pm 0,013$	$0,337 \pm 0,017^*$
ХНГ без дисплазії	$0,205 \pm 0,027^*$	$0,317 \pm 0,08$	$0,39 \pm 0,012^*$
ХНГ з дисплазією	$0,517 \pm 0,029$	Легка	$0,604 \pm 0,016$
		Тяжка	$0,832 \pm 0,012$
ХАГ без дисплазії	$0,23 \pm 0,025$	$0,311 \pm 0,015$	$0,379 \pm 0,006^*$
ХАГ з дисплазією	$0,553 \pm 0,035$	Легка	$0,663 \pm 0,014$
		Тяжка	$0,822 \pm 0,026$
	$0,7 \pm 0,0380$	$0,754 \pm 0,021^\wedge$	$0,918 \pm 0,013^\wedge$

Примітки: * - $p < 0,001$ у порівнянні з *cagA* (-); ^ - $p < 0,01$ у порівнянні з *cagA* (-).

сивністю експресії, поряд з цим в групах з легкою та тяжкою дисплазією відмічали розширення зони маркування до ядер поверхневих епітеліоцитів.

У хворих на ХАГ *H. pylori*- та ХАГ *H. pylori*+ як з легкою, так і тяжкою дисплазією епітелію СОШ спостерігали аналогічну тенденцію, проте при ХАГ з *H. pylori*+, *cagA*+

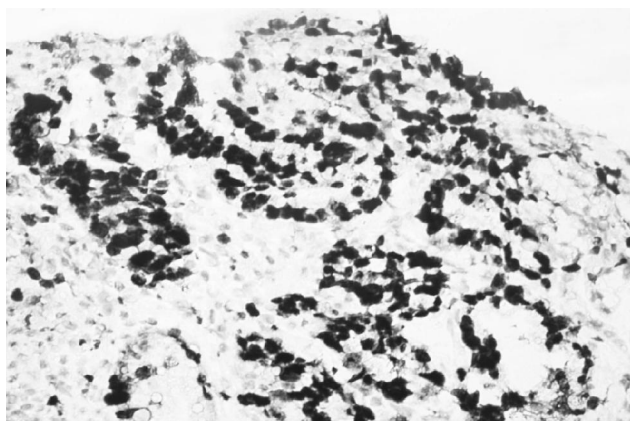


Рис. 3. Сильна експресія Ki-67 в ділянці тяжкої дисплазії. ХАГ (2), активний (1). *H. pylori* +, *cagA*+ *vacA s1m1*. ІГХ-маркування Ki-67, x 200.

Таблиця 3. Проліфераційна активність СОШ за CyclinD1 в обстежених осіб (M±m).

Нозологія	<i>H. pylori</i> (-)	<i>H. pylori</i> (+)	
		<i>cagA</i> (-)	<i>cagA</i> (+) <i>vacA s1m1</i>
Нормальна СОШ	0,151±0,009	0,224±0,014	0,287±0,009*
ХНГ без дисплазії	0,188±0,016	0,188±0,016	0,236±0,012^
ХНГ з дисплазією			
Легка	0,45±0,031	0,596±0,039	0,663±0,038^
Тяжка	0,643±0,026	0,758±0,029	0,846±0,015^
ХАГ без дисплазії	0,158±0,017	0,294±0,022	0,375±0,013^
ХАГ з дисплазією			
Легка	0,306±0,038	0,404±0,033	0,503±0,016^
Тяжка	0,518±0,025	0,655±0,036	0,855±0,013*

Примітки: * - $p < 0,001$ у порівнянні з *cagA* (-); ^ - $p < 0,01$ у порівнянні з *cagA* (-).

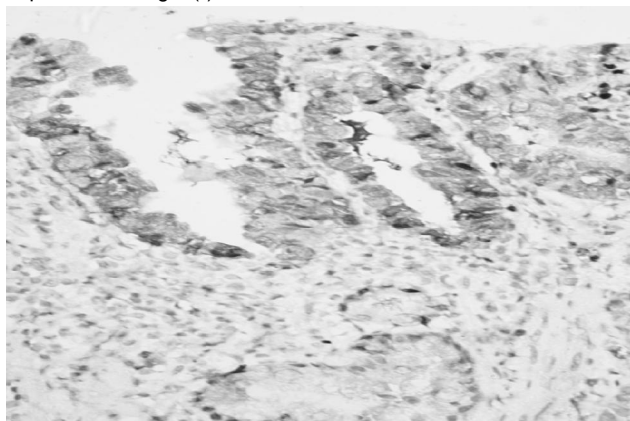


Рис. 4. Посилення експресії Cyclin D1 в ділянках тяжкої дисплазії та слабка експресія в ядрах пілоричних ектокриноцитів. ХНГ, *H. pylori*+, *cagA*+ *vacA s1m1*. ІГХ-маркування Cyclin D1, x 200.

та *vacA s1m1* інтенсивність експресії Cyclin D1 більш специфічною при ТД у порівнянні з маркером проліферації Ki 67. Так при помірній експресії даних маркерів у *H. pylori*+, *cagA*+, *vacA s1m1* для ХНГ чутливість Ki-67 складала 85,23%; специфічність 56,57%, при ХАГ чутливість

- 68,05%; специфічність - 20,05%, в той час як для Cyclin D1 для ХНГ *cagA*+ чутливість 97,27%; специфічність 56,30%. Для ХАГ *cagA*+ чутливість 90,43%; специфічність 80,05%, ДІ: 95%, $p < 0,05$.

Щодо диспластичних змін СОШ у хворих на ХНГ *H. pylori*+ *cagA*+ та *vacA s1m1* найбільш високу специфічність проявив p53 (чутливість 98,73%; специфічність 83,38%, ДІ: 95%, $p < 0,05$). У порівнянні з іншими імуногістохімічними маркерами, що мають ядерне фарбування в групі пацієнтів з практично незмінною СОШ його експресія була негативною. Він починав виявлятися тільки при появі ЛД у 7% хворих на ХНГ *H. pylori*-, в той час як при ТД у 93% пацієнтів. У порівнянні з групою хворих без дисплазії, де експресія його було слабкою тільки у трьох пацієнтів з ХНГ *H. pylori*+ *cagA*- та у одного з *H. pylori*+ *cagA*+ та *vacA s1m1*. Коефіцієнт інтенсивності експресії p53 був також достовірно вищий у хворих на ХНГ та ХАГ з ТД *H. pylori*+ *cagA*+ та *vacA s1m1* у порівнянні з ЛД *H. pylori*+ *cagA*- (ХНГ з ТД 0,903±0,014, ХАГ 0,913±0,016; ХНГ з ТД 0,589±0,023, ХАГ 0,530±0,028, $p < 0,001$). Інтенсивність експресії p53 у хворих на ХАГ була сильною в ділянках ТД, в той час як при ЛД вона як правило була помірна або слабка (табл. 4).

Імуногістохімічний аналіз експресії транскрипційного фактору Sox2 на відміну p53 виявляв помірну кон'югацію даного маркера з ядрами епітеліоцитів СОШ у практично здорових осіб, як з наявною гелікобактерною інфекцією, так і без неї. У *H. pylori*- хворих на ХНГ маркування залишалося також помірною, у окремих відмічали посилення експресії. При наявності легкої дисплазії у пацієнтів з ХНГ *H. pylori*- експресія посилювалась (табл. 5).

У ХНГ *H. pylori*- з дисплазією характерним було незначне посилення експресії в ділянках з ЛД у порівнянні з нормою та зниження маркування Sox 2 при ТД. При наявності гелікобактерної інфекції у хворих ХНГ без дисплазії було зареєстровано різке падіння експресії Sox 2 до 0,310±0,014 (*H. pylori*+ *cagA*+ та *vacA s1m1*) у порівнянні з ХНГ *H. pylori*- 0,623±0,018, $p < 0,01$. Щодо дис-

Таблиця 4. Імуногістохімічна оцінка експресії p53 в обстежених осіб (M±m).

Нозологія	<i>H. pylori</i> (-)	<i>H. pylori</i> (+)	
		<i>cagA</i> (-)	<i>cagA</i> (+) <i>vacA s1m1</i>
Нормальна СОШ	0,028±0,006	0,138±0,017	0,217±0,014*
ХНГ без дисплазії	0,027±0,005	0,181±0,018	0,295±0,013*
ХНГ з дисплазією			
Легка	0,412±0,045	0,589±0,023	0,719±0,013*
Тяжка	0,687±0,039	0,841±0,021	0,903±0,014^
ХАГ без дисплазії	0,085±0,022	0,209±0,018	0,333±0,013*
ХАГ з дисплазією			
Легка	0,352±0,035	0,530±0,028	0,656±0,022*
Тяжка	0,696±0,038	0,826±0,028	0,913±0,016^

Примітки: * - $p < 0,001$ у порівнянні з *cagA* (-); ^ - $p < 0,01$ у порівнянні з *cagA* (-).

Таблиця 5. Імуногістохімічна оцінка експресії Sox2 в обстежених осіб (M±m).

Нозологія	H. pylori (-)	H. pylori (+)	
		cagA (-)	cagA (+) vacA s1m1
Нормальна СОШ	0,415±0,023	0,530±0,021	0,517±0,018 [^]
ХНГ без дисплазії	0,623±0,018	0,385±0,019	0,310±0,014*
ХНГ з дисплазією Легка Тяжка	0,463±0,016	0,302±0,018	0,229±0,009*
	0,182±0,023	0,109±0,005	0,074±0,01 [^]
ХАГ без дисплазії	0,615±0,022	0,415±0,019	0,310±0,015*
ХАГ з дисплазією Легка Тяжка	0,380±0,023	0,276±0,019	0,186±0,013*
	0,206±0,021	0,130±0,013	0,089±0,009 [^]

Примітки: * - $p < 0,001$ у порівнянні з cagA (-); [^] - $p < 0,01$ у порівнянні з cagA (-).

пластичних змін шлункового епітелію як в групі ХНГ, так і при ХАГ морфометричний аналіз інтенсивності експресії Sox 2 встановив достовірне його зниження при наявності ТД (табл. 5). У Н. pylori+ cagA+ та vacA s1m1 хворих на ХНГ відмічали посилення експресії при ЛД у порівнянні з ТД. Аналогічна ситуація спостерігалася і при ХАГ, у Н. pylori- хворих експресія транскрипційного фактору Sox2 як правило посилювалася при ЛД, в той час як у Н. pylori+ cagA+ та vacA s1m1 з ТД реєстрували осередкове її зникнення, особливо в ділянках з початковими ознаками кишкової метаплазії.

При аналізі чутливості та специфічності транскрипційного фактора Sox2 до диспластичних змін у хворих на ХНГ Н. pylori+ cagA+ та vacA s1m1 чутливість була висока 99,17%, специфічність 87,56%, ДІ: 95%, $p < 0,05$, в той час як при ХАГ Н. pylori+ cagA+ та vacA s1m1 попри високу чутливість - 99,89%, специфічність виявилася низькою 42,15%, ДІ: 95%, $p < 0,05$.

На теперішній час відома велика кількість маркерів для визначення апоптозу, одними з них є каспази, а саме каспаза-3, яка відноситься до ефекторних застосування якої було доцільним в нашому дослідженні, тому що саме експресія даних ефекторних каспаз свідчить про необоротність апоптозних змін. При імуногістохімічному аналізі СОШ практично здорових Н. pylori- осіб рівень експресії CPP32 (каспази-3) був слабкий (+) та визначався в основному в цитоплазмі ШМ, головних та парієтальних екзокриноцитів перехідного відділу фундальних та антральних залоз. У Н. pylori+ практично здорових осіб посилювався до помірного (++) в цитоплазмі ШМ.

У хворих на ХНГ, як Н. pylori-, так й Н. pylori+ експресія каспази-3 реєструвалася нами переважною в епітелії валиків меншою мірою виявлялися позитивно окрашені клітини в донних відділах залоз. Проте на відміну від Н. pylori- у Н. pylori+ cagA+ vacA s1m1 була помірною, в той час як при ХНГ Н. pylori- переважали випадки з слабкою експресією CPP32. При наявності дисплазії як в групі Н. pylori+, так і в групі Н. pylori- у хворих на ХНГ експресія каспази-3 (CPP32) була виявлена в ПЯЕ пе-

реважно прилеглих до дисплазії відділів СОШ й у ШМ. Здебільшого вона реєструвалася в ділянках саме диспластично зміненого епітелію. Проте слід зазначити зменшення інтенсивності її експресії у хворих на ХНГ та ХАГ з ТД до слабкої, як у Н. pylori+ так і в Н. pylori-. Слід підкреслити при ЛД відмічали частіше сильну експресію у Н. pylori+ cagA+ та vacA s1m1 ніж у Н. pylori-, при ТД достовірних відмінностей у вище зазначених групах встановлено не було. Порівняльний аналіз наявності каспази-3 в ділянках ЛД та ТД свідчить про більшу афінність її маркера (CPP32) до ШМ та ПЯЕ при ТД, ніж до інших клітинних елементів СОШ. Водночас, ПЯЕ прилеглих до КМ ділянок СОШ також помірно реагує з CPP32 при відсутності різниці у маркуванні інших епітеліальних клітин.

У хворих на ХАГ Н. pylori+ cagA+ vacA s1m1 з дисплазією позитивне маркування CPP32 реєструвалось у прилеглих до диспластично змінених ШМ та ПЯЕ (було достовірно більше у порівнянні з групою ХНГ та ХАГ Н. pylori-. При ЛД у пацієнтів з ХАГ Н. pylori+ cagA+ vacA s1m1 на відміну від ТД реєстрували помірну та посилену експресію, в той час як при ТД вона була від слабкої до помірної.

При імуногістохімічному аналізі СОШ практично здорових Н. pylori- осіб експресія HER2 була негативною у всіх структурних елементах, у Н. pylori+ виявляли слабке цитоплазматичне маркування в парієтальних екзокриноцитах, попри негативне в інших клітинах СОШ. У хворих на ХНГ, як Н. pylori-, так й Н. pylori+ без дисплазії HER2 не виявлявся в епітеліоцитах СОШ, аналогічна тенденція спостерігалася нами і у пацієнтів на ХАГ без дисплазії.

При наявності дисплазії як у хворих на ХНГ Н. pylori+ та +, так й на ХАГ реєстрували позитивну мембранну, інколи цитоплазматичну експресію HER2, яка посилювалася відповідно до ступеня дисплазії та контамінації гелікобактер. Так, помірна та подекуди сильна експресія HER2 спостерігалася переважно в ділянках диспластично зміненого епітелію у 80 % хворих на ХАГ. Крім того, експресію HER2 відмічали і в епітелії кістозно розширених пілоричних залоз у 20% хворих на ХАГ з ЛД.

Помірне маркування HER2 визначалось також і в ділянках СОШ, прилеглих до ТД. Порівняльний аналіз маркування HER2 в ділянках ЛД та ТД свідчить про значнішу афінність до ПЯЕ, ШМ та пілоричних екзокриноцитів у хворих на ХАГ Н. pylori+, cagA+, vacA s1m1.

Таким чином, нами виявлено виражену експресію HER2 в ділянках ТД при ХНГ та ХАГ (Н. pylori- та +), при відсутності його маркування у випадках без дисплазії. Крім того, він визначався в епітелії кістозно змінених залоз при ХАГ з ЛД.

Отримані дані можна використовувати в диференційній діагностиці легкої та тяжкої дисплазії що, імовірно, сприятиме покращенню результатів лікування хворих з HER2-позитивною формою дисплазії.

Отримані нами результати співпадають з даними С.Т.

van Grieken та співав. та Y. Sun та співав. [17, 18], які відзначали досить низький рівень або навіть відсутність апоптозу в СОШ при ТД. Висока концентрація апоптозно змінених клітин у прилеглий до диспластично зміненої СОШ свідчить про пошкодження шлункового епітелію, а виникнення дисплазії є відповіддю на альтерацію. У вогнищах дисплазії при атрофії СОШ реєструвалася поява p53, причому його рівень при ТД достовірно вищий ($p < 0,001$), ніж при ЛД, що, безумовно, віддзеркалює неопластичний потенціал ТД.

За допомогою імуногістохімічних маркерів проліферації та апоптозу (Ki-67, Cyclin D1, p53 та CPP32 нами встановлено, що H. pylori, особливо її цитотоксичні штами (cagA+, vacA s1m1), посилюють проліферацію епітеліоцитів, порушуючи при цьому баланс між останньою та апоптозом, що узгоджується з роботами [3, 8, 22]. На основі аналізу отриманих результатів нам вдалося з'ясувати, що у хворих на ХАГ з передраковими змінами СОШ спостерігається зростання показників апоптозу епітеліоцитів, ступінь якого головним чином залежить від вираженості диспластичних та атрофічних змін

Внаслідок персистенції H. pylori порушується співвідношення між альтерацією, запаленням та регенерацією, наростає роз'єднання між темпами проліферації й апоптозу і виникає дис- та дедиференціювання епітелію з втратою шлунковими епітеліоцитами їх спеціалізованих властивостей і отриманням нового фенотипу (трансдиференціацією), що підтверджувалося нашими даними, отриманими при імуногістохімічному аналізі експресії транскрипційного фактору Sox2, який відповідає за диференціацію шлункового епітелію, ці дані узгоджуються з результатами H. Mutoh та співав. і E. Carrasco-Garcia та співав. [5, 11]. Втрата диференціації відбувається сумісно з посиленням експресії мутантного білка p53, розбалансуванням клітинного циклу, що призводить до блокування апоптозу і нестримної проліферації клітинних елементів з пошкодженням геномом, тобто появою аденом та пулу малігнізованих клітин. В онкогенезі дисплазія має критичне значення у послідовній прогресії від активного ХГ до ХАГ, дисплазії і РШ [2, 14].

Вивчення ранніх етапів становлення дисплазії показало, що вона виникає в гермінативних зонах СОШ: в області шийок залоз (при збереженості останніх) і дна шлункових ямок. Її появі передують проліферація недиференційованих клітин та позитивна експресія Sox2 в ядрах, каспази-3 у цитоплазмі та HER2 у цитоплазматичних мембранах ПЯЕ. Розвиток ТД в області шлункових залоз починається із заміни спеціалізованих екзокриноцитів недиференційованими епітеліоцитами, на зразок шийкових мукоцитів, в ядрах яких зникає маркування транскрипційного фактору Sox2.

Головний, ключовий механізм бактеріального канцерогенезу - тирозинкіназне фосфорилування, пусковим механізмом якого є активація тирозинкіназ сімейства Abl та Src. Активовані тирозинкінази запускають

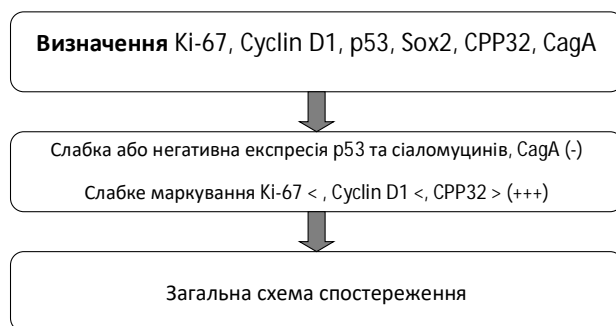


Рис. 5. Алгоритм визначення прогностично значущих імуногістохімічних маркерів у випадку легкої дисплазії СОШ хворих на H. pylori-асоційований ХГ.

Примітки: тут і в рис. 6. Загальна схема спостереження - чергування рентгенологічного дослідження і ФЕГДС з множинними біопсіями СОШ та патогістологічною діагностикою будь-якої вогнищевої патології. Кратність спостережень - 1 раз на 2 роки для осіб віком 35-49 років; щорічно - для осіб, старших за 50 років.

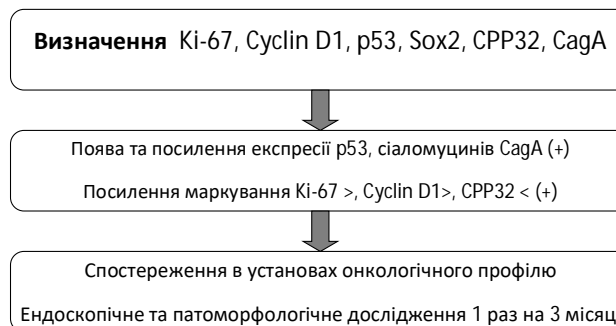


Рис. 6. Алгоритм визначення прогностично значущих імуногістохімічних маркерів у випадку тяжкої дисплазії СОШ хворих на H. pylori-асоційований ХГ.

фосфорилування й активацію каскаду ERK MAPK кіназ шляхів сигнальної трансдукції клітини, що ініціює транскрипцію ДНК, мітоз клітин, порушення регуляції і туморогенезу. Слід зазначити, що аберації ацетилювання гістонів при гелікобактерній індукції призводить до модуляції структури хроматину з активацією транскрипції [18].

Виявлене нами підвищене маркування HER2 у цитоплазматичних мембранах та цитоплазмі шлункових епітеліоцитів при дисплазії СОШ у хворих на ХГ-асоційовані з H. pylori підтверджує збільшення трансмембранних рецепторів тирозинкінази (сімейства факторів росту), які активують внутрішньоклітинні сигнальні шляхи.

Аналіз літератури та наших досліджень дозволив виділити групи хворих на H. pylori-асоційований ХГ, найнебезпечніші щодо розвитку дисплазії, визначити програму їх спостереження та всебічного поглибленого клініко-інструментального дослідження для ранньої діагностики імовірних неопластичних трансформацій (рис. 5).

Отже, базуючись на отриманих нами даних та проаналізованій літературі вважаємо доцільним запропонувати наступний патогенетичний механізм розвитку

дисплазії СОШ та запропонувати алгоритми виявлення ранніх диспластичних змін шлункового епітелію та подальшу тактику ведення пацієнтів з передраковими змінами СОШ із застосуванням імуногістохімічних та молекулярно-генетичних методів (рис. 5).

При аналізі показників експресії імуногістохімічних маркерів, що мають ядерне фарбування, необхідно виділити маркер p53, який чітко показав негативну експресію у контрольній групі та у хворих на ХНГ та ХАГ, як H pylori- так й + без дисплазії і мав кореляційну залежність високого ступеня значущості між відсотком диспластично змінених клітин і інтенсивністю імуногістохімічної реакції. Тобто, зі збільшенням ступеня диспластичних змін зростає відсоток клітин й інтенсивність їх експресії. З огляду на це, ми вважаємо, що даний маркер може використовуватися в якості додаткового критерію на ранніх етапах діагностики ТД СОШ при ХГ.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. При хронічному неатрофічному H. pylori-асоційованому гастриті у порівнянні з H. pylori- збільшується темп оновлення епітелію СОШ, що характеризується достовірним посиленням експресії каспази-3 і маркерів проліферації Ki-67, цикліну D1 ($p < 0,001$) з розширенням проліфераційного компартмента і зон апоптозу.

2. При низькому ступені (легкій) дисплазії, відмічається зміщення зони проліферації до дна залозистих структур, де розташовувалась більшість Ki-67 та Cyclin D1-позитивних клітин. При високому ступені (тяжкій) дисплазії виділити проліфераційну зону як чітко окреслену щодо міче-

них клітин неможливо, оскільки циклін D1 та Ki-67-позитивні епітеліоцити зустрічаються в усіх відділах залоз.

3. Експресія Ki-67, Cyclin D1, та p53 при тяжкій дисплазії СОШ була достовірно ($p < 0,05$) вищою, порівняно з легкою у хворих на хронічний неатрофічний та атрофічний H.pylori-асоційовані гастрити, попри зниження експресії транскрипційного фактору Sox2 у випадках з ТД.

4. Найбільш специфічним маркером щодо визначення ТД у хворих на H.pylori-асоційовані ХГ виявився маркер p 53 (чутливість 98,73%; специфічність 83,38%, ДІ: 95%, $p < 0,05$).

5. Тривала персистенція запалення з підтриманням апоптозу епітеліоцитів може бути однією з причин атрофії та дисплазії СОШ при H.pylori-асоційованому ХГ. Механізми, що перешкоджають зворотному розвитку атрофії та ТД СОШ, зумовлені трансформацією фенотипу епітеліоцитів на такий, що втрачає експресію транскрипційного фактору Sox2 та менш спроможний до апоптозу.

6. Визначення cagA+ та vacA s1m1 з урахуванням застосованих нами імуногістохімічних маркерів дозволить виділити групу ризику щодо хворих на ХГ для подальшого спостереження і лікування з метою попередження неопластичної трансформації СОШ при передракових станах.

Впровадження запропонованої системи скринінгової діагностики передракових змін СОШ є перспективним, так як сприятиме оптимізації лікувальної тактики хворих на хронічні гастрити та підвищить ефективність виявлення диспластичних та атрофічних змін СОШ на їх ранніх стадіях розвитку.

Список посилань - References

1. Abrahao-Machado, L. F. & Scapulatempo-Neto, C. (2016). HER2 testing in gastric cancer: An update. *World J. Gastroenterol.*, 22 (19), 4619-25. doi: 10.3748/wjg.v22.i19.4619.
2. Agoston, A. T. & Odze, R. D. (2014) Evidence that gastric pit dysplasia-like atypia is a neoplastic precursor lesion. *Hum. Pathol.*, 45 (3), 446-55. doi: 10.1016/j.humpath.2013.10.032.
3. Ashktorab, H., Dashwood, R., Dashwood, M. M. & Zaidi, S. I. (2009). H. pylori -Induced Apoptosis in Human Gastric Cancer Cells Mediated via the Release of Apoptosis-Inducing Factor from Mitochondria. *Helicobacter*, 13 (6), 506-17. doi: 10.1111/j.1523-5378.2008.00646.
4. Bosman, F. T., Carneiro, F., Hruban, R. H. & Theise, N. D. (2010). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. *IARC Press*. Lyon, 417. ISBN-13 9789283224327.
5. Carrasco-Garcia, E., Santos, J. C., Garcia, I. & Brianti, M. (2016). Paradoxical role of SOX2 in gastric cancer. *Am. J. Cancer Res.*, 6 (4), 701-13.
6. Cassaro, M., Rugge, M., Tieppo, C., Giacomelli, L., Velo, D. & Farinati, F. (2007). Indefinite for non-invasive neoplasia lesions in gastric intestinal metaplasia: the immunophenotype. *J. Clin. Pathol.*, 60 (6), 615-621.
7. Dixon, M. F., Michael, D. & Path, F. R. C. (1996). Classification and Grading of Gastritis: The Updated Sydney System. *Am. J. Surg. Pathol.*, 20 (10), 1161-1181.
8. Hirata, Y., Maeda, S., Mitsuno, Y., Akanuma, M., Yamaji, Y. & Omata, M. (2001). Helicobacter pylori Activates the Cyclin D1 Gene through Mitogen- Activated Protein Kinase Pathway in Gastric Cancer Cells. *Infect Immun.*, 69 (6). doi:10.1128/IAI.69.6.3965-3971.2001.
9. Ieni, A., Barresi, V., Rigoli, L., Caruso, R. A. & Tuccari, G. (2015). HER2 Status in Premalignant, Early, and Advanced Neoplastic Lesions of the Stomach. *Dis. Markers*, 234851. doi: 10.1155/2015/234851.
10. Liu, K. C., Lin, B. S., Zhao, M. & Yang, X. (2013). The multiple roles for Sox2 in stem cell maintenance and tumorigenesis. *Cell Signal.*, 25 (5). doi: 10.1016/j.cellsig.2013.02.013.
11. Mutoh, H., Sashikawa, M. & Sugano, K. (2011). Sox2 expression is maintained while gastric phenotype is completely lost in Cdx2-induced intestinal metaplastic mucosa. *Differentiation*, 81 (2), 92-8. doi: 10.1016/j.diff.2010.10.002.
12. Schlemper, R., Riddell, R. & Kato, Y. (2000). Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut*, 47 (2), 251-255.
13. Scholzen, T., Endl, E., Wohlenberg, C., van der Sar, S., Cowell, I. G. & Singh, P. B. (2002). The Ki-67 protein interacts with members of the heterochromatin protein 1 (HP1) family: a potential role in the regulation of higher-order chromatin structure. *J. Pathol.*, 196 (2), 135-144.
14. Sipponen, P. & Maaros, H. I. (2015). Chronic gastritis. *Scand J. Gastroenterol.*, 50 (6), 657-67. doi: 10.3109/00365521.2015.1019918.
15. Slater, B. (1990). Superiorstain for Helicobacter pylori usingtoluidine. *J. Clin. Pathol.*, 43 (11), 961.
16. Sugai, T., Tsukahara, M., Endoh, M., Shioi, Y. & Takebe, N. (2010). Analysis of cell cycle-related proteins in gastric intramucosal differentiated-type cancers based on mucin

- phenotypes: a novel hypothesis of early gastric carcinogenesis based on mucin phenotype. *BMC Gastroenterol.*, 10, 55. doi: 10.1186/1471-230X-10-55.
17. Sun, Y., Chen, X. Y., Liu, J., Cheng, X. X., Wang, X. W. & Kong, Q. Y. (2006). Differential caspase-3 expression in noncancerous, premalignant and cancer tissues of stomach and its clinical implication. *Cancer Detect Prev.*, 30 (2), 168-73.
 18. van Grieken, N. C., Meijer, G. A., zur Hausen, A., Meuwissen, S. G., Baak, J. P. & Kuipers, E. J. (2003). Increased apoptosis in gastric mucosa adjacent to intestinal metaplasia. *Journal of Clinical Pathology*, 56 (5), 358-361.
 19. Xiao, L. J., Zhao, S., Zhao E-H. & Zheng, X. (2013). Clinicopathological and prognostic significance of Ki-67, caspase-3 and p53 expression in gastric carcinomas. *Oncol Lett*, 6 (5), 1277-1284. doi:10.3892/ol.2013.1532.
 20. Yang, Y., Du, J., Liu, F., Wang, X., Li, X. & Li, Y. (2017). Role of caspase-3/E-cadherin in Helicobacter pylori-induced apoptosis of gastric epithelial cells. *Oncotarget.*, 8 (35), 59204-59216. doi: 10.18632 / oncotarget.19471.
 21. Yang, T. T., Cao, N., Zhang, H. H., Wei, J. B. & Song, X. X. (2018). Helicobacter pylori infection-induced H3Ser10 phosphorylation in stepwise gastric carcinogenesis and its clinical implications. *Helicobacter*, 23 (3). doi: 10.1111/hel.12486.
 22. Ying, X., Ying, Y., Ming-xiao, H. & Yun, L. (2015). NaCl pretreatment attenuates H.pylori-induced DNA damage and exacerbates proliferation of gastric epithelial cells (GES-1). *Infect Agent Cancer*, 10 (8). doi:10.1186/s13027-015-0003-3.

ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ КЛЕТЧНОГО ОБНОВЛЕНИЯ И ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА SOX2 ПРИ ПРЕДРАКОВЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА HELICOBACTER PYLORI У БОЛЬНЫХ НА РАЗЛИЧНЫЕ ТИПЫ ХРОНИЧЕСКОГО ГАСТРИТА
Сухань Д.С., Вернигородский С.В.

Аннотация. Предраковый потенциал хронического гастрита (ХГ), ассоциированного с *H. pylori*, обсуждается в многочисленных трудах и сегодня ХГ занимает центральное место в предопухолевых состояниях желудка. Достаточно убедительной теоретической базой для такой оценки ХГ является характерный его признак - нарушение клеточного обновления с преобладанием фазы пролиферации над фазой дифференциации. Однако определение степени пролиферативной активности и нарушения дифференциации эпителия слизистой оболочки желудка (СОЖ) остается до конца не выясненным. Целью нашего исследования стала иммуногистохимическая оценка экспрессии Ki-67, Cyclin D1, p53, CPP32, HER2 и транскрипционного фактора Sox2 в эпителиоцитах СОЖ у больных *H.pylori*-ассоциированным хроническим гастритом. Для выполнения поставленной цели использовали гистологический, цитологический, иммуногистохимический, молекулярно-генетический, морфометрический и статистический методы исследования. Нами установлено, что при хроническом *H. pylori*-ассоциированном неатрофическом гастрите (ХНГ) по сравнению с *H. pylori* увеличивался темп обновления эпителия СОЖ, что характеризовалось достоверным усилением экспрессии каспазы-3 и маркеров пролиферации Ki-67, циклина D1 ($p < 0,001$) с расширением пролиферационного компартмента и зон апоптоза. Экспрессия Ki-67, Cyclin D1 и p53 при тяжелой дисплазии (ТД) СОЖ была достоверно ($p < 0,05$) выше по сравнению с легкой у больных хроническим неатрофическим и атрофическим *H.pylori*-ассоциированным гастритом, несмотря на снижение экспрессии транскрипционного фактора Sox2 и каспазы-3 в случаях с ТД. Наиболее специфическим маркером по определению ТД у больных *H.pylori*-ассоциированным ХГ оказался маркер p53 (чувствительность 98,73%; специфичность 83,38%, ДИ 95%, $p < 0,05$). С учетом иммуногистохимических маркеров *H. pylori* разработана скрининговая система для ранней диагностики предраковых изменений СОЖ, что будет способствовать оптимизации лечебной тактики больных хроническими гастритами и повысит эффективность выявления диспластических и атрофических изменений СОЖ на их ранних стадиях развития.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, хронический гастрит, морфологические изменения, иммуногистохимический анализ, Ki-67, Cyclin D1, p53, CPP32, HER2, транскрипционный фактор Sox2.

PROGNOSTIC ASPECTS OF IMMUNOHISTOCHEMICAL ASSESSMENT OF CELLULAR RENEWAL AND TRANSCRIPTION FACTOR SOX2 WITH PRECANCEROUS CHANGES IN THE GASTRIC MUCOSA DEPENDING ON THE GENOTYPE OF HELICOBACTER PYLORI IN PATIENTS WITH VARIOUS TYPES OF CHRONIC GASTRITIS

Sukhan D., Vernigorodskiy S.

Annotation. The precancerous potential of chronic gastritis (CG) associated with *H. pylori* is discussed in numerous writings, and today, CG is central to precancerous conditions of the stomach. A convincing theoretical basis for such an assessment of chronic gastritis is its characteristic feature - an interruption of cell renewal with the proliferation phase predominating over the differentiation phase. However, the determination of the degree of proliferative activity and impaired differentiation of the epithelium of the gastric mucosa (GM) remains not fully understood. The goal of our study was the immunohistochemical evaluation of the expression of Ki-67, Cyclin D1, p53, CPP32, HER2 and the Sox2 transcription factor in GM epithelial cells in patients with *H. pylori*-associated chronic gastritis. To accomplish this goal, histological, cytological, immunohistochemical, molecular genetic, morphometric and statistical research methods were used. We found that in chronic *H. pylori*-associated non-atrophic gastritis (CNG) compared with *H. pylori* (-), the GM epithelium renewal rate increased, characterized by a significant increase in the expression of caspase-3 and Ki-67 proliferation markers, cyclin D1 ($p < 0.001$) with expansion of the proliferative compartment and apoptosis zones. Ki-67, Cyclin D1, and p53 expression in severe dysplasia (SD) of GM was significantly ($p < 0.05$) higher than the mild in patients with chronic non-atrophic and atrophic *H. pylori*-associated gastritis, despite a decrease in the expression of the transcription factor Sox2 and caspase-3 in cases of SD. The most specific marker for determining SD in patients with *H. pylori*-associated chronic gastritis was marker p53 (sensitivity 98.73%; specificity 83.38%, confidence interval 95%, $p < 0.05$). Considering the immunohistochemical markers of *H. pylori*, a screening system has been developed for the early diagnosis of precancerous changes in the GM that will help optimize the treatment tactics of patients with chronic gastritis and increase the efficiency of detecting dysplastic and atrophic changes in the GM at their early stages of development.

Keywords: *Helicobacter pylori*, chronic gastritis, morphological changes, immunohistochemical analysis, Ki-67, Cyclin D1, p53, CPP32, HER2, transcription factor Sox2.