

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Доброхотовой Юлии Эдуардовны на диссертационную работу Шрамко Светланы Владимировны на тему «Пролиферативные заболевания матки: клиничко-иммунологические и молекулярно-генетические критерии персонализации лечебной тактики», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.01 — Акушерство и гинекология

Актуальность темы исследования

Актуальность пролиферативных заболеваний матки обусловлена повсеместным возрастанием частоты и сложностью в определении тактики ведения такой категории больных. Кроме того, важность проблемы в настоящее время поддерживается увеличением распространенности миомы матки у женщин репродуктивного возраста со снижением фертильности в данной группе.

В настоящее время гистерэктомия считается адекватной только в пери- и постменопаузе при больших размерах миомы или сопутствующей суспициозной патологии, требующей удаления матки. В остальных случаях гистерэктомия является неблагоприятным исходом неадекватного ведения пациенток. При этом пассивное наблюдение допустимо только при клинически незначимых миоматозных узлах в перименопаузе, в остальных случаях необходимо назначение стабилизирующей терапии. Гетерогенность причин роста миомы матки и мультифокальность узлов не позволяют добиться 100% положительного результата лечения. Известно, что у каждой второй больной развивается рецидив заболевания, в каждом третьем случае оперативное вмешательство выполняется повторно. Кроме того, миома матки и аденомиоз в 75% сочетаются, именно сочетанные формы заболеваний отличаются склонностью к рецидивирующему течению и сложностью медикаментозного лечения.

Не смотря на общность этиологических и патогенетических механизмов пролиферативных заболеваний матки, палитра экзогенных и эндогенных факторов достаточно многообразна. В настоящее время изучены десятки

генотипов, полиморфизм которых сопряжен с риском развития миомы матки и аденомиоза. При этом процесс реализации генома обеспечивается участием множества разнообразных факторов и сложных, недостаточно изученных регулирующих механизмов. В этой связи, многокомпонентный подход и сравнительное изучение патогенетических механизмов развития миомы матки и аденомиоза с различных позиций, в одном клиническом исследовании особенно ценен. Идея диссертационной работы состоит в поиске взаимосвязей между клиническими, генетическими, иммунологическими и патоморфологическими аспектами развития пролиферативных заболеваний матки. В работе использовались современные методики исследования, а именно изучение ключевых генов, определяющих направленность пролиферативных процессов и поддерживающих гормональный баланс в тканях матки: генов эстрогеновых, прогестероновых рецепторов, опухолевого супрессора *P TEN*. Это позволило подтвердить ведущие механизмы развития миомы и аденомиоза, выявить предикторы развития заболеваний и разграничить факторы риска по их значимости. Исследование проведено на высоком методологическом уровне, а результаты работы своевременны и актуальны.

Степень обоснованности и достоверности полученных научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Адекватная программа исследования, современные методы и объемом обеспечили статистически значимые результаты, что реализовалось заключением и соответствующими выводами. Все это подтверждает обоснованность научных положений, сформулированных в диссертации Шрамко Светланы Владимировны. В проспективное исследование вошло 200 пациенток с миомой матки и аденомиозом, в сочетанных и изолированных вариантах, с различными морфологическими типами узлов (простой и кистозной) и лейомиосаркомой матки.

В работе использовались иммунохимические, гормональные, молекулярно-генетические и иммунопатогистохимические методы исследования.

В 149 случаях выполнен ретроспективный анализ медицинских карт пациенток, пролеченных в оперативном гинекологическом отделении и онкологическом диспансере г. Новокузнецка. Математический анализ выполнен с применением метода логистической регрессии. Построение математических моделей заболеваний позволило установить клинические предикторы развития аденомиоза у больных миомой матки, изолированных простых или клеточных узлов и лейомиосаркомы, что чрезвычайно важно в работе практического врача при выборе оптимальной программы лечения. Результатами исследования была подтверждена прогестерон обусловленная природа миомы матки в изолированном варианте и эстрогенассоциированность аденомиоза. Установлено, что лейомиосаркома матки гормонально независима, а при сочетанных формах заболеваний определена ведущая роль воспалительных механизмов в патогенезе заболевания. На основании полученных данных разработан алгоритм тактики ведения больных с различными вариантами пролиферативных заболеваний матки.

Все исследования автора научно обоснованы. Выводы и практические рекомендации вытекают из материала диссертации.

Полученные данные обработаны с использованием современных статистических пакетов SAS 9.4 и STATISTICA12 и IBM-SPSS-23. Массив данных включал 349 наблюдений из 49 качественных и 32 количественных признаков. Математические модели построены при помощи логистической регрессии, метода принудительного включения. С помощью ROC-кривой оценивалось качество модели. В модель включались предикторы, выбранные на основании индекса Джини и критерия Хи-квадрат, что позволило автору получить достоверные данные и обосновать выводы.

Научная новизна диссертационной работы

В результате проведенной работы были выявлены клинические предикторы различных вариантов пролиферативных заболеваний матки, использова-

ние которых, дополнительно к инструментальным методам исследования призвано способствовать эффективному выбору программы лечения.

При всех вариантах пролиферативных заболеваний матки содержание в сыворотке острофазных белков и провоспалительных цитокинов соответствовало типичной воспалительной реакции с нарастанием степени выраженности от изолированных форм заболеваний к сочетанным, с достижением максимума при лейомиосаркоме.

Изучение экспрессии генов рецепторов к половым стероидным гормонам в тканях матки установило преобладание экспрессии генов прогестероновых рецепторов над эстрогеновыми при изолированной миоме матки, как простой, так и клеточной. Напротив, при изолированном аденомиозе экспрессия генов эстрогеновых рецепторов доминировала над прогестероновыми. В тканях сочетанных форм заболеваний определена равнозначная экспрессия генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, лейомиосаркома матки характеризовалась крайне низкой экспрессией генов.

Показатели *PTEN* предложено использовать в качестве маркера лейомиосаркомы матки в сложных диагностических случаях.

Разработаны шкалы балльных оценок риска развития аденомиоза в сочетании с миомой матки, клеточной миомы и лейомиосаркомы, использование которых дает возможность персонифицировать лечебно-тактические мероприятия у больных с различными вариантами пролиферативных заболеваний матки.

Значение выводов и рекомендаций, полученных в диссертации, для науки и практики

Полученные результаты диссертационного исследования Шрамко Светланы Владимировны следует оценить как серьезный вклад в науку и практику. В работе использованы современные молекулярно-генетические, иммунохимические и патогистохимические методы, при анализе показателей применялись современные методы статистической обработки, что свидетельствует о высоком научно-методическом уровне проведенного исследования. Результа-

ты диссертационной работы имеют важное значение в решении актуальных проблем в гинекологии. Сравнительное молекулярно — генетическое исследование тканей матки при доброкачественной прогестерон зависимой миоме, эстрогенассоциированном аденомиозе и гормонально независимой злокачественной лейомиосаркоме позволило подтвердить доказанное ранее и установить новые позиции. Так, наличие равнозначной экспрессии генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в тканях сочетанных форм заболеваний, наряду с высоким уровнем воспалительных изменений в удаленных органах и выраженной воспалительной реакцией сывороточных показателей острофазных белков и провоспалительных цитокинов, свидетельствует об участии в механизмах регуляции клеточного роста воспалительных агентов и их продуктов. Этим автор объясняет низкую эффективность медикаментозного лечения у такой категории больных и обосновывает включение в лечебные схемы противовоспалительной терапии.

Математический анализ всего массива данных с использованием метода логистической регрессии выявил клинические предикторы развития аденомиоза, лейомиосаркомы, клеточной и простой изолированной миомы матки. Для практического врача рассчитаны балльные шкалы клинической оценки риска развития аденомиоза, клеточной миомы или лейомиосаркомы. Это имеет стратегическое значение для работы врача амбулаторного звена при выборе лечебных мероприятий и определения прогноза течения заболевания на самых ранних этапах его развития, когда обоснованный выбор тактики ведения позволяет эффективно управлять процессом.

Оценка содержания диссертации

Диссертация изложена на 241 странице машинописи и состоит из введения, обзора литературы, шести глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы.

Изучение и анализ 382 отечественных и зарубежных источников литературы позволил диссертанту обоснованно представить цель исследования и эффективно определить задачи. Целью работы явилась оптимизация лечебной

тактики больных с доброкачественными заболеваниями матки путем определения клиничко-анамнестических и иммунологических предикторов развития различных вариантов пролиферативных процессов в миометрии. Соответственно цели определены семь задач исследования. Сравнительный анализ анамнестических и клинических аспектов, данных преморбидного фона, особенностей системного и тканевого реагирования при различных вариантах пролиферативных заболеваний матки позволил вывить ряд закономерностей, подтверждающих ранее известные и впервые установленные, что не вызывает сомнений научной новизны и практической значимости работы.

Теме диссертации полностью соответствует обзор литературы (глава 1), убедительно доказывающий владение проблемой пролиферативных заболеваний матки. Автор демонстрирует умение анализировать материал, эффективно выбирать направление исследования и предлагать пути решения сложных вопросов, что доказывает хорошую эрудицию и умение пользоваться информационными источниками. В кратком резюме обозначены нерешенные вопросы и проблемное поле, требующее разработки эффективных путей решения.

Во 2 главе подробно, с детализацией важных моментов описаны методы, использованные в работе и, представлена характеристика материалов.

Глава 3 включает описание клинических групп с подробным анализом анамнестических характеристик, соматического статуса, преморбидного фона и клиничко-морфологических особенностей. Изучение 376 медицинских карт пациенток с верифицированными диагнозами реализовалось четко отграниченными патогенетическими вариантами пролиферативных заболеваний матки, где данные анамнеза, особенности преморбидного фона и молекулярно-генетические характеристики каждого варианта логично связаны. Выявлено, что больные с изолированной миомой матки чаще отмечали бесплодие в анамнезе и реже рожали, значительно реже страдали воспалительными заболеваниями половых органов и не имели гиперплазии эндометрия в анамнезе, в связи с чем, в меньшей степени подвергались вмешательствам на матке. У больных клеточной миомой выявлены высокая частота заболеваний щитовидной железы со снижением ее функции и максимальное количество оперативных

вмешательств на матке во время беременности. Больные с аденомиозом, как в изолированном варианте, так и в сочетании с миомой матки значительно чаще рожали, реже страдали бесплодием, с периода менархе отмечали наличие меноррагии и полименореи. В случаях изолированного аденомиоза наблюдалась высокая частота заболеваний эндометрия (полипы эндометрия, гиперплазия простая и атипическая), в связи с чем, пациентки чаще подвергались многократным грубым кюретажам. Самый высокий уровень эктопии цилиндрического эпителия у больных с изолированным аденомиозом послужил поводом в каждом втором случае к выполнению электрохирургических вмешательств на шейке матки. Пациентки с изолированным аденомиозом значительно чаще имели заболевания желудочно-кишечного тракта и холецистэктомии в анамнезе, закономерно способствующих относительной гиперэстрогении и увеличению частоты заболеваний эндометрия. При сочетанных формах заболеваний пациентки чаще подвергались выполнению многократных медицинских аборт, чаще страдали воспалительными заболеваниями органов малого таза и шейки матки. Автором выявлен самый высокий уровень варикозной болезни нижних конечностей и аппендэктомии у больных с сочетанными формами заболевания. При лейомиосаркоме матки установлен самый высокий уровень сахарного диабета и ожирения, у каждой третьей пациентки длительное время наблюдалась неактуальная миома матки в анамнезе. Все это дало возможность автору аргументировано обосновать непосредственное влияние преморбидного фона и соматического статуса на формирование определенного варианта пролиферативных пролиферативного ответа на повреждение матки.

Высокая частота дистрофических изменений в клеточных узлах миомы и, при сочетанных формах заболеваний автором предлагается рассматривать причиной низкой эффективности гормональных и антигормональных препаратов по причине отсутствия рецепторов в таких тканях. В подтверждение этого у больных с сочетанными формами заболеваний установлена коррелятивная связь приема гормональных препаратов с метроррагией и анемией, приводящей к гистерэктомии в последующем.

Глава 4 посвящена иммунологическому исследованию с изучением со-

держания острофазных белков и провоспалительных цитокинов. Результаты исследования выявили наличие типичной воспалительной реакции с увеличением степени ее выраженности от изолированных заболеваний к сочетанным и достижением пика при лейомиосаркоме матки. Установлена взаимосвязь изменений сывороточных концентраций острофазовых показателей и цитокинов с клинико-морфологическими характеристиками и особенностями соматического состояния. Значимо высокие показатели маркеров воспалительной реакции в случаях лейомиосаркомы расцениваются проявлением оксидативного стресса, обусловленного высокой частотой ожирения и сахарного диабета. При сочетании миомы матки и аденомиоза выраженная реакция сывороточных острофазовых показателей поддерживается высоким уровнем воспалительных процессов в удаленных органах, установленных при патоморфологическом исследовании и наличием высокой частоты хронических воспалительных заболеваний половых органов в анамнезе. Минимально повышенные маркеры воспаления в сыворотке крови у пациенток с изолированной миомой матки автором объясняется редкими воспалительными заболеваниями в анамнезе и низкой частотой воспалительных изменений в органах.

Глава 5 «Сывороточный профиль стероидных гормонов, экспрессия генов стероидных половых рецепторов и опухолевого супрессора *PTEN*». В основе патогенеза всех пролиферативных заболеваний матки лежит нарушение баланса эстрогенов и прогестерона, поэтому исследование генов рецепторов стероидных половых гормонов непосредственно в тканях матки и содержания половых гормонов в общей циркуляции стало ключевым в диссертационной работе.

Установлено отсутствие значимых различий уровней половых стероидных гормонов в сыворотке крови больных и здоровых женщин. При этом установлены значимые различия уровней экспрессии генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в тканях матки при миоме, аденомиозе и лейомиосаркоме. На этом основании пролиферативные заболевания матки принято считать локальным процессом. Сравнительное изучение нескольких аспектов позволило автору высказать предположение о пролиферативных за-

болеваниях матки, как о вариантах пролиферативного ответа органа на его повреждение, при этом характер процесса определяют с одной стороны — особенности повреждающих факторов, длительность их воздействия и характер, с другой — реактивность женщины и способность к сохранению гомеостаза. Экспрессия генов прогестероновых рецепторов преобладала над экспрессией генов эстрогеновых рецепторов в тканях изолированной миомы матки, в очагах изолированного аденомиоза, напротив, экспрессия генов эстрогеновых рецепторов доминировала над прогестероновыми. Сочетанные формы заболеваний имели равную экспрессию эстрогеновых и прогестероновых рецепторов при этом незначимую, лейомиосаркома отличалась крайне низкой экспрессией генов стероидных половых рецепторов. Высокая экспрессия гена опухолевого супрессора *PTEN* в тканях изолированной миомы, подтверждает отсутствие риска малигнизации миомы матки. В свою очередь, угнетение гена опухолевого супрессора *PTEN* в тканях аденомиоза как в сочетании с миомой матки, так и в изолированном варианте свидетельствует о наличии риска малигнизации у данной категории больных.

Глава 6. Раздел, посвященный патоморфологическому и иммуногистохимическому исследованию, выполнен на высокотехнологичном уровне и включает изучение экспрессии антител к маркеру клеточной пролиферации Ki-67 и белку с антиапоптотической активностью Bcl-2. Для объективизации результатов использовалась автоматизированная морфометрическая счетная программа. Результаты исследования свидетельствует об увеличении объема изолированных узлов простой миомы матки и прогрессии изолированного аденомиоза за счет подавления апоптоза, а злокачественная трансформация миометрия является результатом усиления процессов пролиферации. Клеточные узлы и узловы образования сочетанных форм заболеваний характеризовались равнозначной экспрессией маркеров пролиферации и подавления апоптоза, что свидетельствует о сложной природе регуляции клеточного роста у данной категории больных. В связи с этим, механизмы медикаментозного и хирургического управления у них являются наиболее сложными. Известно, что *PTEN* индуцирует апоптоз. Высокий уровень антител к антиапоптотиче-

скому белку Vcl-2 при изолированной миоме, наряду с высокой экспрессией гена *PTEN* служит подтверждением участия в механизмах роста изолированной миомы MAPK/ERK сигнального пути, активируемого прогестероном с подавлением апоптоза. В свою очередь, высокая экспрессия гена *PTEN* призвана угнетать PI3K-AKT-mTOR сигнальный путь у больных изолированной миомой, что исключает риск малигнизации миомы матки. Тем более, что в настоящее время возможность развития лейомиосаркомы матки только «de novo» является доказанным фактом и результаты данного исследования еще раз подтверждают это.

Глава 7 «Алгоритм диагностики и прогноз течения пролиферативного процесса в матке» интересен как с практической стороны, так и теоретической точки зрения. Прогнозирующие модели базируются на основе выявленных клинических предикторов и факторах риска развития различных вариантов заболеваний. В качестве метода моделирования выбрана логистическая регрессия с расчетом скрининговых баллов индивидуального прогноза для каждой конкретной пациентки.

На основании полученных баллов с высокой степенью вероятности разграничиваются сочетанные и изолированные формы заболеваний, определяется морфотип узла и исключается лейомиосаркома, что чрезвычайно важно для выбора тактики ведения больных.

Заключение посвящено подробному анализу каждого из вариантов заболеваний с обоснованием значимости факторов риска, их роли в формировании определенного клинико-патогенетического варианта заболевания. Согласно представленному анализу, миома матки и аденомиоз, в сочетанных и изолированных вариантах, с различными морфологическими типами узлов и лейомиосаркома матки представляется автором различными вариантами ответа органа мишени – матки на повреждение определенными факторами. При этом характер ответа прогнозировать чрезвычайно сложно, так как каждая женщина неповторима. Но, установленные в ходе работы клинико-anamnestические, иммунологические и молекулярно-генетические закономерности призваны облегчить эту задачу. Выявленные и логично связаны закономерности реагиро-

вания автор предлагает использовать в практической деятельности. На основании проведенного молекулярно-генетического исследования обосновывается дифференцированный выбор тактики ведения больных с различными вариантами пролиферативных заболеваний матки.

Объем исследований достаточен. Значимость исследования подтверждена результатами математического анализа и статистической обработкой материала, что делает обоснованными выводы и практические рекомендации диссертационной работы.

Поставленная цель и задачи исследования соответствуют полученным результатам диссертационного исследования. Выводы и практические рекомендации научно обоснованы, логичны и непосредственно вытекают из результатов работы.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Материалы диссертации нашли отражение в 18 опубликованных работах, из которых 15 работ входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованный ВАК при Минобрнауки России, имеется три патента РФ на изобретение, что является достаточным для отражения основных результатов диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

Заключение. Диссертационная работа Шрамко Светланы Владимировны тему «Пролиферативные заболевания матки: клинко-иммунологические и молекулярно-генетические критерии персонализации лечебной тактики» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная проблема гинекологии — уточнение особенностей патогенеза и разработка обоснованного персонализированного алгоритма лечебной тактики у больных с пролиферативными заболеваниями матки, имеющей важное научно-практическое значение в гинекологии.

Диссертационная работа Шрамко С.В. соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции

постановления Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. № 335 и от 28.08.2017 г. № 1024), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а автор достоин присуждения искомой степени по специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология.