

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора Прасолова Владимира Сергеевича на диссертационную работу Шрамко Светланы Владимировны на тему «Пролиферативные заболевания матки: клинко-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.**

В Послании президента Российской Федерации в 2018 году отмечено падение численности населения нашей страны за последние два года. Неблагополучная демографическая обстановка, сложившаяся в России последние годы безотлагательно требует развития новых эффективных методов диагностики и лечения заболеваний органов репродуктивной системы.

В свете этого диссертационная работа Светланы Владимировны Шрамко «Пролиферативные заболевания матки: клинко-иммунологические и молекулярно-генетические критерии персонализации лечебной тактики», безусловно, является актуальной и будет способствовать решению этой остро стоящей проблемы.

Молекулярно-генетические механизмы, лежащие в основе развития миомы и аденомиоза до настоящего времени установлены не достаточно полно, что приводит к неэффективности подходов, применяемых при их лечении. Это, в свою очередь, приводит к снижению фертильности молодых женщин и необходимости удаления матки в конечном итоге.

Ценность проведенного исследования, прежде всего, заключается в том, что автор провел системную оценку совокупности клинических и различных биологических аспектов заболеваний с учетом характера повреждающих механизмов в конкретных условиях индивидуальной реактивности и преморбидного фона. Последнее включает в себя изучение ключевых сигнальных путей MAPK/ERK и PI3K-AKT-mTOR, нарушение регуляции которых, лежит в основе возникновения любого пролиферативного процесса. Логичным является включение в



исследование изучение экспрессии антиапоптогического белка Bcl-2 и маркера пролиферативной клеточной активности Ki-67 наряду с геном опухолевого супрессора *P TEN* – антагониста фосфоинозитол-3-киназного пути сигналинга (PI3K), способного подавлять PI3K-AKT-mTOR сигнальный путь, индуцировать апоптоз и останавливать клеточное деление.

Известно, что в основе пролиферативных заболеваний матки лежат процессы, обусловленные нарушением баланса синтеза либо рецепции половых стероидов. Поэтому трудно переоценить важность изучения активности генов, ответственных за поддержание такого баланса, а именно генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов непосредственно в органе-мишени, как наиболее объективного и точного метода, приближающего к пониманию сути пролиферативных процессов. Работа Шрамко С.В. представляет собой анализ локальных изменений в тканях матки и в общей циркуляции, наряду с оценкой особенностей преморбидного фона и клинико-анамнестических данных. Системный подход с применением математического анализа позволили автору выявить предикторы различных вариантов пролиферативных процессов в матке и персонализировать лечебную тактику. Работа выполнена на высоком профессиональном уровне с использованием современных методов. Результаты диссертационного исследования Шрамко С.В. не вызывают сомнения.

**Степень обоснованности и достоверности полученных научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна.** Обоснованность научных положений, сформулированных в диссертации Светланы Владимировны Шрамко, обусловлена адекватной программой, современными методами и объемом исследований, обеспечивающим статистически значимые положения, заключение и выводы. Проспективное исследование включало 200 женщин с миомой матки (простой и клеточной), аденомиозом в сочетанных и изолированных вариантах, а также с чрезвычайно редкой гладкомышечной злокачественной опухолью – лейомиосаркомой.

Автором выполнено современное иммунохимическое и гормональное исследование сыворотки крови, а также трудоемкое иммунопатогисто-



химическое и биохимическое исследование тканей матки (патологических образований и окружающего миометрия). Проведен ретроспективный анализ 149 медицинских карт пациенток, пролеченных ранее в оперативном гинекологическом отделении и онкологическом диспансере г. Новокузнецка. Используя метод логистической регрессии, выполнен математический анализ клинико-anamnestических данных, особенностей преморбидного фона и иммунохимических показателей для выявления предикторов различных вариантов пролиферативных заболеваний матки. Построены модели заболеваний и разработаны балльные шкалы оценки риска, развития различных вариантов пролиферативных заболеваний матки, наиболее часто встречающихся в практике врача. Результаты исследования подтверждают гормональный генез миомы матки и аденомиоза в изолированных вариантах и отсутствие таковой зависимости при лейомиосаркоме. При сочетании миомы матки и аденомиоза определена ведущая роль воспалительных механизмов в патогенезе заболеваний. На основании этого предложен алгоритм ведения пациенток с пролиферативными заболеваниями матки.

Все исследования автора научно обоснованы. Выводы и практические рекомендации логичны и непосредственно вытекают из результатов, полученных при выполнении диссертации.

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием статистических пакетов SAS 9.4 и STATISTICA12 и IBM-SPSS-23. Анализировался массив данных, который содержал 349 наблюдений, включавших 49 качественных признаков и 32 количественных с использованием критериев Колмогорова-Смирнова, Шапиро-Уилка, Крамера-фон-Мизеса и Андерсона-Дарлинга. Для построения математических моделей использовалась логистическая регрессия, метод принудительного включения с использованием теста Хосмера-Лемешева и критерия Колмогорова-Смирнова. Качество модели оценивалось с помощью ROC-кривой. Выбор предикторов для включения в модель осуществлялся на основе комбинации индекса Джини и критерия Хи-квадрат. Это позволило автору получить аргументированные данные и сделать обоснованные выводы.



**Научная новизна данной работы заключается в том, что впервые установлены определенные клинические предикторы развития аденомиоза и миомы матки в сочетанных и изолированных вариантах.**

Установлено, что характер изменения реактантов воспаления: лактоферрина (ЛФ), альфа-1-антитрипсина ( $\alpha$ -1-АТ), альфа-2-макроглобулина ( $\alpha$ -2-МГ), ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-8 и фактор роста – VEGF) в крови при новообразованиях в матке соответствовал типичной системной воспалительной реакции и коррелировал с тяжестью патологического процесса, нарастая от изолированных форм заболеваний к сочетанным, достигая максимума при лейомиосаркоме.

Молекулярно-генетическое исследование показало, что ткани изолированной миомы (как простой, так и клеточной) значительно отличаются от тканей изолированного аденомиоза по уровню экспрессии генов прогестероновых и эстрогеновых рецепторов, в то время как при сочетанной патологии экспрессия генов вышеперечисленных рецепторов была сравнимой. Наиболее низкий уровень экспрессии генов этих рецепторов отмечен в тканях лейомиосаркомы.

Полученные различия в уровнях экспрессии гена опухолевого супрессора PTEN при злокачественной лейомиосаркоме и миоме матки подтверждают участие различных сигнальных путей – MAPK/ERK при изолированной миоме, активируемого прогестероном и PI3K-AKT-mTOR сигнального пути – при лейомиосаркоме. Выключение PI3K-AKT-mTOR сигнального пути при изолированной миоме указывает на отсутствие риска ее малигнизации. И, напротив, его активация при аденомиозе в сочетанном и изолированном вариантах указывает высокий риск их злокачественного перерождения. В связи с этим, предложено показатели уровня экспрессии гена PTEN использовать в качестве прогностического маркера после миомэктомии.

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

Результаты диссертационного исследования Шрамко Светланы Владимировны следует оценить как заметный вклад в науку и практику. Работа выполнена на современном научно-методическом уровне и имеет важное значение для решения актуальных проблем в гинекологии. Несомненным достоинством



работы являются проведение молекулярно-генетического исследования у больных с различными вариантами пролиферативных заболеваний матки: аденомиоза (эстрогенассоциированного), миомы (прогестеронзависимой) и гормональнонезависимой злокачественной лейомиосаркомы в рамках одного исследования. Это, с одной стороны, подтвердило ранее известное и уже доказанное другими исследователями, с другой стороны, – позволило выявить некоторые принципиально важные моменты. Так, высокая частота воспалительных изменений, выявленных в удаленном материале при сочетанных формах заболеваний, наряду с равной между собой и незначимой экспрессией генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов свидетельствует о возможном переключении сигнализации с MAPK/ERK пути на PI3K-AKT-mTOR сигнальный путь и участии в механизмах регуляции клеточного роста воспалительных факторов. Полученные результаты имеют и практическое значение, так как позволяют объяснить неэффективность гормонального лечения и частое рецидивирование пролиферативного процесса у такой категории больных, что, безусловно, требует пересмотра лечебной тактики.

Следует отметить, что данные об уровне экспрессии гена опухолевого супрессора *PTEN* подтвердило мнение ряда авторов о риске малигнизации при сочетанных формах заболевания.

Не менее важное значение имеют результаты исследования некоторых острофазовых белков, как положительных реактантов (ЛФ,  $\alpha$ -1-АТ), так и отрицательного ( $\alpha$ -2-МГ), а также фактора роста (VEGF) и провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 и хемокина - ИЛ-8), которые позволяют относиться к пролиферативным процессам матки как к ответной реакции органа на повреждение.

Результаты многофакторного математического анализа с использованием метода логистической регрессии позволили выявить факторы риска (анамнестические, клинические, иммунологические) для каждого из вариантов заболеваний и разграничить их по степени значимости, а также разработать балльные шкалы оценки риска развития данных заболеваний.



**Оценка содержания диссертации.** Диссертация изложена на 241 машинописной странице, содержит 46 таблиц и 42 рисунка. Текст диссертационной работы состоит из введения, обзора литературы, шести глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы.

Критический анализ 381 источников литературы позволил диссертанту логично обосновать цели и задачи исследования. Основная цель работы — оптимизация лечебной тактики больных с доброкачественными заболеваниями матки путем определения клинико-анамнестических, иммунологических и молекулярно-генетических предикторов развития различных вариантов пролиферативных процессов в миометрии. Семь задач соответствуют выбранной цели исследования. Научная новизна и практическая значимость не вызывают сомнений. Автором впервые проведен сравнительный анализ клинико-анамнестических данных, особенностей преморбидного фона, изменений на системном уровне (сывороточные концентрации белков острой фазы, цитокины, стероидные гормоны) и непосредственно в тканях матки (патологических образованиях и окружающем миометрии) при различных вариантах пролиферативных заболеваний матки.

Глава 1. Обзор литературы соответствует теме диссертации и вводит читателя в курс обсуждаемых проблем. Представленный обзор литературы свидетельствует о том, что автор хорошо изучил проблему и достаточно свободно ей владеет, демонстрируя эрудицию и умение анализировать материал. Обзор заканчивается кратким резюме, в котором обозначены нерешенные вопросы изучаемой проблемы.

Глава 2 посвящена подробному описанию используемых методов и характеристике материалов. Необходимо отметить, что именно такой междисциплинарный методологический подход, позволил автору получить новые научные данные, подтвердить некоторые уже существующие гипотезы, высказать ряд своих собственных идей по механизмам патогенеза пролиферативных заболеваний матки и предложить лечебно-тактический алгоритм, позволяющий персонафицировать выбор лечебно-профилактических мероприятий.



Глава 3 представлена описанием клинических групп, включающих 376 пациенток с верифицированными диагнозами. Используются методы математического многофакторного анализа и выявлена связь особенностей преморбидного фона с характером пролиферативного процесса в матке.

Глава 4 посвящена изучению уровней белков семейства макроглобулинов ( $\alpha$ -2-МГ, АБГ и их иммунных комплексов с IgG), острофазовых белков (ЛФ,  $\alpha$ -1-АТ) и провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 и хемокина-ИЛ-8) при пролиферативных заболеваниях в матке. Установлено, что характер изменений уровня содержания маркеров воспаления, типичен для воспалительной реакции и степень ее выраженности нарастает от изолированной патологии к сочетанной, достигая пика при лейомиосаркоме матки.

Глава 5 «Сывороточный профиль стероидных гормонов, экспрессия генов стероидных половых рецепторов и опухолевого супрессора *PTEN*». Предметом изучения обоснованно выбраны гены эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в тканях матки и уровень данных гормонов в общей циркуляции. Установлены значимые различия экспрессии генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в тканях матки при миоме, аденомиозе и лейомиосаркоме. В узловых образованиях изолированной миомы матки, как простой, так и клеточной выявлено преобладание экспрессии генов прогестероновых рецепторов над эстрогеновыми, в очагах изолированного аденомиоза – экспрессия генов эстрогеновых рецепторов доминировала над прогестероновыми. При сочетании миомы матки и аденомиоза гены эстрогеновых и прогестероновых рецепторов экспрессировались в равной степени. В тканях лейомиосаркомы экспрессия генов стероидных рецепторов установлена крайне низкой. В узлах изолированной миомы матки установлен высокий уровень экспрессии гена опухолевого супрессора *PTEN*, что может указывать на отсутствие риска малигнизации. В свою очередь, в тканях аденомиоза как в сочетании с миомой матки, так и в изолированном варианте установлено подавление активности гена опухолевого супрессора *PTEN*.

Глава 6. Раздел диссертации, посвященный патоморфологическому и иммуногистохимическому исследованию, хорошо иллюстрирован цветными фо-



тографиями и, несомненно, является украшением работы. Иммуногистохимическое исследование посвящено изучению образования антител к маркеру клеточной пролиферации Ki-67 и белку с антиапоптотической направленности Bcl-2. В результате исследования установлено, что рост изолированной миомы и прогрессия аденомиоза обусловлены подавлением апоптоза. Прогрессия злокачественной трансформации миометрия поддерживается усилением процессов пролиферации. В клеточных узлах и узловых образованиях сочетанной патологии процессы пролиферации и апоптоза имеют равные значения, что на взгляд автора, трудно объяснить с позиции простого соотношения процессов пролиферации и апоптоза. Высказано предположение, что рост клеточных узлов и узлов миомы, ассоциированных с аденомиозом, имеет сложную природу, что необходимо рассматривать одной из причин неэффективности медикаментозного и хирургического лечения клеточной миомы и сочетанных форм заболеваний.

Одновременное изучение маркера подавления апоптоза и экспрессии гена опухолевого супрессора *PTEN* в рамках одного исследования не случайно и заслуживает обсуждения. Высокий уровень экспрессии антител к белку с антиапоптотической активностью Bcl-2 при изолированной миоме, свидетельствующий о подавлении апоптоза – ведущего механизма роста миомы матки, наряду с высокой экспрессией гена *PTEN*, призванного индуцировать апоптоз, по мнению автора, не вызывает противоречий. Напротив, служит подтверждением участия в механизмах роста изолированной миомы MAPK/ERK сигнального пути, активируемого прогестероном. В свою очередь, PI3K-AKT-mTOR сигнальный путь у больных изолированной миомой угнетен высокой экспрессией гена *PTEN* и не участвует в регуляции роста миомы матки.

Таким образом, автор еще раз подтверждает, что лейомиосаркома матки развивается «de novo», а миома матки не проявляет тенденцию к малигнизации.

Глава 7 «Алгоритм диагностики и прогноз течения пролиферативного процесса в матке» представляет теоретический и практический интерес. На основе выбранных факторов риска построены прогнозирующие модели с использованием метода принудительного включения – логистической регрессии с



оценкой вклада каждого фактора в прогнозируемый эффект. Автором рассчитаны скрининговые баллы для индивидуального прогнозирования в каждом конкретном случае и предложен лечебно-тактический алгоритм ведения больных с пролиферативными заболеваниями, что чрезвычайно важно для практического врача.

В заключении автор обсуждает каждый из вариантов заболевания, объясняя значимость факторов риска, их вклад в формирование определенного клинико-патогенетического варианта заболевания. Предложено рассматривать миому матки и аденомиоз, в сочетанных и изолированных вариантах и лейомиосаркому, как варианты ответа органа мишени – матки на повреждение определенными факторами. При этом вариант ответа предсказать сложно, он всегда индивидуален, как и каждая пациентка. Тем ни менее, автором выявлены определенные клинико-anamnestические, иммунологические и молекулярно-генетическими особенности. Установлены и логично представлены закономерности ответной реакции матки в ответ на повреждение, которые необходимо учитывать в практической деятельности. Светлана Владимировна Шрамко на основании проведенного исследования обосновывает дифференцированное лечение больных с различными вариантами пролиферативных заболеваний матки.

Объем исследований достаточен. Проведенная компьютерная статистическая обработка материала подтверждают достоверность результатов и делают обоснованными выводы и практические рекомендации, вытекающие из диссертационной работы.

Поставленная цель и задачи исследования соответствуют полученным результатам диссертационного исследования.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации и дает полное представление о выполненной работе.

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. На основе результатов диссертанта получено три патента РФ на изобретение, что является достаточным для отражения основных результатов диссертации на соискание ученой



степени доктора медицинских наук.

### **Замечания и вопросы по диссертационной работе**

1. Диссертация в целом написана ясным языком, однако следует заметить, что текст не лишен стилистических шероховатостей и опечаток.

Также встречаются и неоправданные повторы. Например, предложенная диссертантом гипотеза о различии патогенетических механизмов пролиферативных заболеваний матки повторяется в разделе «Обсуждение» два раза.

2. На мой взгляд, неправильно говорить о высокой частоте воспалительных изменений в удаленных органах (например, стр.7 автореферата). Эти изменения присутствуют в соответствующих отделах матки исходно до удаления. Просто анализ был проведен на секционном материале.

3. Обращает на себя внимание отсутствие указания размерности на оси ординат рисунков с 7 по 10 в тексте диссертации.

Отмеченные недостатки не умаляют фундаментальной и практической ценности диссертационного исследования и не снижают его актуальность.

### **Заключение**

Диссертационная работа Шрамко Светланы Владимировны тему «Проллиферативные заболевания матки: клиничко-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 персонифицированного алгоритма лечебной тактики у больных с пролиферативными заболеваниями матки, имеющей важное научно-практическое значение в гинекологии.

Диссертационная работа 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 уче-



ной степени доктора медицинских наук, а автор достоин присуждения искомой степени по специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология.

Главный научный сотрудник лаборатории  
клеточных основ развития злокачественных  
заболеваний Федерального государственного

---