

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Тихомирова Александра Леонидовича на диссертационную работу Шрамко Светланы Владимировны на тему «Проллиферативные заболевания матки: клинико-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

Тема диссертационной работы Шрамко Светланы Владимировны имеет актуальное значение, так как посвящена распространенным заболеваниям в гинекологической практике – миоме матки и аденомиозу. Эти заболевания матки способны снижать фертильность, в связи с чем, появившаяся в последнее десятилетие тенденция к «омоложению» миомы и аденомиоза, придает особую важность проблеме лечения. Выбор рациональной тактики ведения сложен и требует системной оценки совокупности множества факторов. Известно, что в 70% наблюдений заболевания протекают без выраженной симптоматики, являясь диагностической находкой, но в 30% - требуют активного участия врача с персонализацией лечебной тактики. При этом даже индивидуально составленная программа лечения не позволяет быть в полной мере уверенным в положительном эффекте и полном излечении. После отмены лекарственных средств, а в ряде наблюдений и на фоне терапии или после органосохраняющего хирургического лечения, заболевания прогрессируют, приводя пациентку к гистерэктомии.

В настоящее время в гинекологии, как и во многих других сферах клинической медицины, для уточнения патогенетических механизмов заболеваний все чаще применяются молекулярно-генетические методы исследования, как наиболее точные способы. Значительная часть исследования Шрамко С.В. посвящена определению уровня экспрессии ключевых генов, определяющих направленность пролиферативных процессов и поддерживающих гормональный баланс, таких как *ER*, *PR*, *PTEN* непосредственно в тканях матки. Такой подход подчеркивает современность и актуальность диссертационного исследования Шрамко С.В.

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

Обоснованность научных положений, сформулированных в диссертации Шрамко Светланы Владимировны, обусловлена современными методами и объемом исследований, обеспечивающим статистически значимые положения, заключение, выводы. Проспективное исследование включало 200 женщин с миомой матки, аденомиозом в сочетанных и изолированных вариантах, а также в ряде наблюдений с чрезвычайно редкой гладкомышечной злокачественной опухолью – лейомиосаркомой. В работе выполнено современное иммунохимическое и гормональное исследование сыворотки крови, а также иммунопатогистохимическое и молекулярно-генетическое исследование тканей матки (патологических образований и окружающего миометрия). Проведен ретроспективный анализ 149 медицинских карт пациенток, пролеченных в оперативном гинекологическом отделении и онкологическом диспансере г. Новокузнецка за период с 1994г. по 2016г. С использованием метода логистической регрессии выполнен сравнительный анализ клинико-anamнестических 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 аденомиоза в сочетании с миомой матки, клеточного морфотипа узла лейомиомы и лейомиосаркомы матки. Результаты исследования подтверждают гормональный генез миомы матки и аденомиоза в изолированных вариантах, а также отсутствие гормональной зависимости лейомиосаркомы матки. При сочетании миомы матки и аденомиоза определена ведущая роль воспалительных механизмов в патогенезе заболеваний. На основании этого предложен алгоритм ведения пациенток с пролиферативными заболеваниями миометрия.

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

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием статистических пакетов SAS 9.4 и STATISTICA12 и IBM-SPSS-23. Анали-

зировался 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. Определение порогового балла, при построении скрининговой шкалы, осуществлялось с помощью критерия Юдена. 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 диссертационной работы

Впервые в качестве предикторов развития аденомиоза в сочетании с миомой установлено наличие варикозной болезни нижних конечностей и аппендэктомии в анамнезе, в развитии «клеточного» морфологического типа миоматозного узла – патологии щитовидной железы со снижением ее функции, лейомиосаркомы матки – сахарного диабета и ожирения.

Сравнительное изучение сывороточных уровней белков семейства макроглобулинов, их иммунных комплексов с IgG, острофазовых белков и провоспалительных цитокинов при лейомиосаркоме, «клеточной» и «простой» миоме матки в изолированных и сочетанных с аденомиозом вариантах, указывает на наличие типичного системного воспалительного ответа на повреждение органа с нарастанием изменений от изолированных заболеваний к сочетанным, с достижением максимума в случаях лейомиосаркомы.

В представленных наблюдениях узловых образований изолированной миомы матки, как «простой», так и «клеточной», установлено преобладание экспрессии генов прогестероновых рецепторов над эстрогеновыми. В очагах изолированного аденомиоза выявлено доминирование экспрессии генов эстрогеновых рецепторов над прогестероновыми. При сочетанных формах заболеваний гены эстрогеновых и прогестероновых рецепторов экспрессировались в равной степени и незначимо. В тканях лейомиосаркомы матки установлена крайне низ-

кая экспрессия генов стероидных половых рецепторов. Установлена роль угнетения экспрессии гена опухолевого супрессора *PTEN* в развитии злокачественной трансформации миометрия, и предложено использование данного показателя в качестве маркера лейомиосаркомы.

На основании выявленных клиничко-анамнестических предикторов развития различных вариантов пролиферативных заболеваний матки разработаны шкалы балльных оценок риска развития аденомиоза в сочетании с миомой матки, «клеточной миомы» и лейомиосаркомы, что позволяет персонифицировать лечебно-тактические подходы у больных с пролиферативными заболеваниями матки.

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

Результаты диссертационного исследования Шрамко Светланы Владимировны следует оценить как серьезный вклад в науку и практику. Работа выполнена на современном научно-методологическом уровне и имеет важное значение для решения актуальных проблем в гинекологии. Несомненным достоинством работы является проведение молекулярно-генетического исследования у больных с различными вариантами пролиферативных заболеваний миометрия. Такой подход, с одной стороны – подтвердил ранее известные и доказанные другими исследователями положения, что позволяет с доверием относиться к результатам исследования. С другой стороны – сравнительное исследование позволило выявить ряд принципиальных, до этого времени не изученных моментов. Исследование экспрессии гена опухолевого супрессора *PTEN*, наряду с его угнетением в тканях лейомиосаркомы, показало аналогичное снижение экспрессии гена в тканях изолированного аденомиоза и узловых образованиях миомы в сочетании с аденомиозом. По мнению автора это может настораживать в отношении теоретического риска малигнизации аденомиоза (изолированного или с сопутствующей миомой), высказанное ранее и рядом других авторов.

Результаты математического анализа с использованием метода логистической регрессии позволили выявить гипотетические факторы риска для каждого из вариантов заболеваний и разграничить их по значимости. Построены прогностические модели и шкалы балльной оценки развития миомы матки, ми-

омы матки, ассоциированной с аденомиозом, и, что особенно важно, лейомиосаркомы.

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.

Основная цель работы — оптимизация лечебной тактики путем определения клинико-anamnestических, иммунологических и молекулярно-генетических предикторов развития различных вариантов пролиферативных процессов в миометрии. Семь задач соответствуют выбранной цели исследования. позволил диссертанту логично обосновать цели и задачи исследования.

Глава 1 Представленный обзор литературы убеждает, что автор глубоко изучил проблему и хорошо ей владеет. Автор демонстрирует хорошую эрудицию, умение анализировать материал, выбирать главное направление и предлагать решения проблемных вопросов. Обзор заканчивается кратким резюме, в котором обозначены нерешенные вопросы изучаемой проблемы.

Глава 2 посвящена подробному описанию используемых методов и характеристике материалов.

Глава 3 представлена описанием клинических групп с подробным анализом анамnestических характеристик, соматического статуса, преморбидного фона и клинико-морфологических особенностей. При этом используются современные методы математического анализа, подробно изучаются взаимосвязи качественных признаков при помощи парных таблиц сопряженности, что позволило выявить важные закономерности. По информации автора, представленной в главе 3 изучение факторов риска, клинико-anamnestических особенностей в группах больных с пролиферативными заболеваниями матки базируется на изучении 376 медицинских карт пациенток с верифицированными диагнозами, хотя по информации диссертанта из других разделов диссертации следует, что в работу включено 149 ретроспективных историй болезни и 200 проспективных, то есть в сумме 349. Установлено, что больные с изолированной миомой матки меньше рожают, чаще страдают бесплодием и редко имеют воспали-

тельные заболевания половых органов в анамнезе. У них значимо реже наблюдается патология эндометрия и, они в меньшей степени подвергаются внутриматочным вмешательствам. В то же время диссертант отмечает особенности у больных «клеточной» миомой – высокая частота заболеваний щитовидной железы со снижением ее функции и частые оперативные вмешательства на матке во время беременности. По данным автора больные с аденомиозом, как в изолированном варианте, так и в сочетании с миомой матки чаще страдают нарушениями менструальной функции с периода менархе, реже - бесплодием и, в своем большинстве рожавшие. У пациенток с изолированным аденомиозом установлена высокая частота заболеваний эндометрия (полипы эндометрия, гиперплазия простая и атипическая), в связи с чем, они чаще подвергались внутриматочным вмешательствам. В группе зарегистрирован самый высокий уровень эктопии цилиндрического эпителия (у каждой второй были электрохирургические вмешательства на шейке матки). Кроме этого у них установлен самый высокий уровень заболеваний желудочно-кишечного тракта и холецистэктомии в анамнезе. Больные с сочетанием миомы и аденомиоза чаще подвергались выполнению медицинских абортов и, в большей степени страдали воспалительными процессами органов малого таза и шейки матки. В группе установлен самый высокий уровень варикозной болезни нижних конечностей и аппендэктомии в анамнезе. У больных с лейомиосаркомой матки наблюдался самый высокий уровень сахарного диабета и ожирения. Автором установлена высокая частота дистрофических изменений в узловых образованиях «клеточной» миомы и при сочетании миомы матки и аденомиоза.

Глава 4 посвящена изучению уровней белков семейства макроглобулинов, острофазных белков и провоспалительных цитокинов. Автором установлены изменения, характерные для типичной воспалительной реакции, при этом степень выраженности воспалительной реакции нарастала от изолированных заболеваний к сочетанным, достигая пика при лейомиосаркоме матки. Автору удалось проследить взаимосвязь изменений сывороточных концентраций острофазовых показателей и цитокинов с клинико-морфологическими характеристиками и особенностями соматического состояния. По мнению диссертанта

высокие показатели маркеров воспалительной реакции в случаях лейомиосаркомы обусловлены гипергликемией и оксидативным стрессом за счет дисфункции митохондрий и гиперпродукции супероксидных радикалов у женщин с ожирением и сахарным диабетом. Выраженные изменения сывороточных показателей, характерных для острофазового ответа при сочетании миомы матки и аденомиоза сопряжены с высоким уровнем воспалительных изменений в удаленных матках при патоморфологическом исследовании и данными анамнеза, свидетельствующих о высокой частоте воспалительных процессов. Наоборот низкий уровень воспалительных процессов в удаленных органах, редкие воспаления половых органов в анамнезе у больных миомой без сочетания с аденомиозом, наряду с минимальным уровнем сывороточных маркеров воспаления представляются автору как вполне ожидаемый и логичный.

Глава 5 «Сывороточный профиль стероидных гормонов, экспрессия генов стероидных половых рецепторов и опухолевого супрессора *PTEN*». Результаты исследования подтверждают давно известное отсутствие значимых различий сывороточных концентраций половых стероидных гормонов в группах сравнения. В свою очередь, в наблюдениях автора отмечены значимые различия экспрессии генов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в тканях матки при миоме, аденомиозе и лейомиосаркоме. Это позволило автору сделать заключение о подтверждении концепции о том, что пролиферативный процесс в матке – это во многом локальный процесс, возникающий в ответ на повреждение органа, при этом характер процесса определяют особенности повреждающих факторов и организма женщины в целом. В узловых образованиях миомы матки без сочетания с аденомиозом, как «простой», так и «клеточной» выявлено преобладание экспрессии генов прогестероновых рецепторов над эстрогеновыми. В очагах изолированного аденомиоза, напротив, экспрессия генов эстрогеновых рецепторов доминировала над прогестероновыми. При сочетании миомы матки и аденомиоза гены эстрогеновых и прогестероновых рецепторов экспрессировались в равной степени и незначимо. В тканях лейомиосаркомы экспрессия генов стероидных рецепторов установлена крайне низкой. В узлах миомы мат-

ки без сочетания с аденомиозом зафиксирована высокая экспрессия гена опухолевого супрессора *PTEN*. при сочетании с аденомиозом – низкая.

Глава 6. Раздел диссертации, посвященный патоморфологическому и иммуногистохимическому исследованию иллюстрирован цветными фотографиями и, несомненно, является украшением работы. Иммуногистохимическое исследование посвящено изучению экспрессии антител к маркеру клеточной пролиферации Ki-67 и белку с антиапоптотической направленностью Bcl-2. С целью объективизации данных и исключения погрешности, применялась автоматизированная морфометрическая счетная программа, что свидетельствует о высокотехнологичном исполнении работы. В результате определения в удаленных препаратах этих давно известных основных маркеров апоптоза и пролиферации автор считает, что рост изолированной миомы (уточняя: по-видимому миомы матки без сочетания с внутренним эндометриозом матки) и прогрессия аденомиоза без миомы обусловлены подавлением апоптоза (отмечена повышенная экспрессия Bcl-2). Но при этом в «клеточных» узлах и узловых образованиях сочетанных форм заболеваний (миома+аденомиоз) процессы пролиферации и апоптоза имеют равные значения (то есть: сколько новых клеток появляется – столько и отмирает, кстати, как и в здоровом миометрии). На этом основании соискатель делает предположение, о том, что отмеченный в его наблюдениях рост узлов миомы матки, ассоциированных с аденомиозом, имеет более сложную природу, которая не укладывается в общепризнанные представления регуляции клеточного роста. Одновременное изучение процессов пролиферации, апоптоза и опухолевого супрессора *PTEN* не случайно в рамках одного исследования. Оно и отвечает на, казалось бы зарегистрированное противоречие: экспрессия антиапоптотического белка повышена, а соотношение пролиферации к апоптозу – как в здоровом миометрии. Зафиксированная автором в миомах матки высокая экспрессия гена *PTEN*, индуцирующего апоптоз, по сути нейтрализует антиапоптотический эффект Bcl-2. Таким образом у больных миомой матки без сочетания с аденомиозом соискатель предполагает конфликт двух сигнальных путей апоптоза: MAPK/ERK сигнального пути, активируемого прогестероном, и PI3K-AKT-mTOR сигнального пути, вызванного высокой

экспрессией гена PTEN. На этих основаниях автор в конце-концов подтверждает, что миома матки без сочетания с аденомиозом не «малигнизируется», а лейомиосаркома матки всегда развивается «de novo». Наоборот, при сочетании миомы матки и аденомиоза экспрессия гена PTEN снижена, что по заключениям С.В. Шрамко может свидетельствовать о наличии потенциального предполагаемого риска «малигнизации» у данной категории больных. Только хотелось бы дополнительно уточнить – речь идёт о гипотетическом повышении возникновения риска рака эндометрия или лейомиосаркомы матки.

Глава 7 «Алгоритм диагностики и прогноз течения пролиферативного процесса в матке» представляет теоретический и практический интерес. На основании выбранных факторов риска построены прогнозирующие модели. Автором рассчитаны скрининговые баллы для построения индивидуального прогноза в каждом конкретном наблюдении. В зависимости от полученной суммы баллов определяется риск наличия аденомиоза, «клеточной» миомы и лейомиосаркомы. На основании полученных баллов предлагается диагностический и лечебно-тактический алгоритм ведения больных с пролиферативными заболеваниями миометрия, что чрезвычайно важно для практического врача.

В заключении автор обсуждает каждый из вариантов заболевания, объясняя значимость факторов риска, их вклад в формирование определённого клинико-патогенетического варианта заболевания. Автором подтверждена представленная более 20 лет назад концепция о возможности рассматривать миому матки и аденомиоз как варианты ответа органа мишени – матки на повреждение специфическими факторами. Хотя вариант ответа предсказать сложно, он всегда индивидуален, как и каждая конкретная пациентка, автором выявлены определенные клинико-anamnestические, иммунологические и молекулярно-генетические особенности, оценены и логично представлены возможные варианты реагирования, которые предлагается использовать в практической деятельности. На основании проведенного молекулярно-генетического исследования создаются предпосылки совершенствования дифференцированного подхода к лечению больных с различными вариантами пролиферативных заболеваний миометрия.

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

Поставленная цель и задачи исследования соответствуют полученным результатам диссертационного исследования.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Материалы диссертации нашли отражение в 18 опубликованных работах, из которых 15 – входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованный ВАК при Минобрнауки России. Издано учебно-методическое пособие, которое используется практическими врачами города, в обучающих программах кафедры, защищено 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. Не понятно, почему во введении речь идет о ретроспективном анализе 149 медицинских карт, проспективном исследовании 200 пациенток, то есть анализировался, по выражению диссертанта «массив данных 349 пациенток». в 3 главе речь идет о 376 медицинских картах. На это можно реагировать по-разному.

2. По данным диссертанта в тканях аденомиоза как в сочетании с миомой матки, так и в изолированном варианте установлено угнетение гена опухолевого супрессора PTEN, что по заключениям С.В. Шрамко может свидетельствовать о наличии потенциального предполагаемого риска «малигнизации» у данной категории больных. Хотелось бы дополнительно уточнить – когда говорят о «малигнизации» структур в миометрии, речь идет о гипотетическом повышении возникновения риска рака эндометрия или лейомиосаркомы матки.

Отмеченные недостатки не умаляют научной и практической ценности диссертационного исследования, не снижают его актуальности.

Заключение. Диссертационная работа Шрамко Светланы Владимировны на 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 совершенствование персонифицированного алгоритма лечебной тактики у больных с пролиферативными заболеваниями миометрия, 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 ученой степени доктора медицинских наук, а автор достоин присуждения искомой степени по специальности 14.01.01 – Акушерство и гинекология.