

ОТЗЫВ

официального оппонента д.мед.н., профессора Поповой Инги Мовлиевны на диссертацию Шавровой Надежды Игоревны на тему «Разработка новых патогенетически обоснованных диагностических и лечебных подходов при гиперплазии эндометрия (экспериментально-клиническое исследование)», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа Шавровой Н.И. «Разработка новых патогенетически обоснованных диагностических и лечебных подходов при гиперплазии эндометрия (экспериментально-клиническое исследование)» посвящена актуальной проблеме – изучению закономерностей взаимосвязанных гиперпластических, воспалительных и иммунных изменений эндометрия, что представляет интерес для диагностики и патогенетической коррекции в гинекологии и репродуктивной медицине.

Гиперплазия эндометрия является не только медицинской, но и социальной проблемой и встречается более чем у 5 % гинекологических пациенток. Гиперплазия эндометрия приводит к нарушению репродуктивной функции, а ее прогрессия сопряжена с риском развития аденокарциномы. Аномальные маточные кровотечения у женщин не репродуктивного возраста с риском до 20 % сопровождают атипическую гиперплазию либо рак эндометрия, что требует немедленного морфологического исследования. Для обозначения атипической гиперплазии эндометрия применяют международный термин «эндометриальная интраэпителиальная неоплазия», что подчеркивает высокий риск развития прогрессии в аденокарциному при отсутствии терапии. Очевидно противоречие между эффективностью хирургического лечения (гистерэктомия) как метода выбора и отсутствием

перспектив репродуктивной стратегии у таких пациенток. Выбор между хирургическим и патогенетическим подходом очевиден, особенно для молодых женщин: при отсутствии риска карциномы важна персонализированная патофизиологически обоснованная консервативная терапия. В настоящее время актуальны исследования морфологических и молекулярно-генетических подтипов гиперплазии, стратификации групп с риском рака эндометрия, важны профилактические и лечебные подходы, основанные на знаниях патогенеза. Исходя из вышеизложенного, диссертационное исследование Шавровой Н.И. считаю актуальным.

Научная новизна результатов исследования, выводов и рекомендаций полнота опубликования результатов

Впервые разработана релевантная и легко воспроизводимая модель гиперплазии эндометрия, на которой проведено исследование процессов пролиферации, изучение местного иммунного ответа, апоптоза, неоангиогенеза в эндометрии лабораторных белых крыс. Автором усовершенствована техника овариэктомии и схема трансдермального введения эстрогенов лабораторным животным для создания гиперэстрогении и эффективного быстрого моделирования гиперплазии эндометрия. На данной модели изучена роль воспаления в процессе гиперплазии при использовании трех схем патогенетической терапии разными группами препаратов (нестероидные противовоспалительные средства, иммуномодуляторы, антиэстрогенные фитопрепараты).

Впервые в эксперименте изучено влияние негормональной терапии на молекулярно-биологические механизмы пролиферации, апоптоза, неоангиогенеза и иммунных процессов при гиперплазии эндометрия: изучены маркеры рецепторов овариальных гормонов (ER, PrR), клеточного цикла (Ki-67, bcl-2, CD95), ангиогенеза (VEGF) и воспаления (CD138, CD4, CD8, CD20, CD56). Впервые показана эффективность нестероидных

противовоспалительных средств для коррекции гиперпластических процессов в эндометрии, изучен эффект иммуномодулирующих препаратов и фитогормонов для фармакологической коррекции гиперплазии без атипии.

В эндометрии пациенток впервые изучена взаимосвязь молекулярно-биологических показателей и морфологического варианта эндометриальной гиперплазии. Впервые разработаны новые диагностические подходы с применением молекулярно-биологических морфологических методов и усовершенствована схема терапии с учетом представления о роли не только гормонального дисбаланса, но и воспаления при данном состоянии.

На основании этого, впервые разработана технология, представляющая патогенетически обоснованный диагностический подход, позволяющий персонализированно выявить роль воспаления при гиперплазии эндометрия. Технология определяет перечень доступных иммуногистохимических маркеров, протоколы их исследования и критерии оценки, а также алгоритм ведения пациенток с гиперплазией эндометрия с учетом роли воспалительного процесса в ее патогенезе.

Выявленные фундаментальные закономерности и подходы к оценке гиперплазии в клинике, а также разработанный экспериментальный способ создания ее модели отличаются существенной новизной, что подтверждено публикациями в рецензируемых изданиях. По материалам опубликовано 14 работ: 1 монография (автором написан раздел), 2 статьи в журналах, индексируемых в Scopus; 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК России по шифру специальности работы, 1 статья в журнале ВАК по Акушерству и гинекологии, 6 работ в сборниках материалов конференций (1 международная, 4 всероссийские, 1 региональная), зарегистрирована заявка на изобретение Российской Федерации способа экспериментальной модели.

**Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций,
сформулированных в диссертации**

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационном исследовании Шавровой Н.И., основаны на достаточном количестве экспериментальных исследований, выполненных в виварии; достаточном наборе методик исследования структуры и функции эндометрия у животных и изучением клинического материала, а также использованием адекватных методов статистической обработки результатов. Достоверность полученных данных обеспечивается анализом представленных в работе материалов, анализом публикаций российских и зарубежных авторов по данной теме, исследованием работ, отражающих практические результаты в области патологической физиологии человека и животных, в частности патогенеза развития гиперплазии эндометрия и ее сопряженности с воспалительными и иммунными реакциями. На мой взгляд, очень ценно в методологии работы применение экспериментально-клинического дизайна. Это позволило автору на достоверной модели установить поэтапные структурные и молекулярные перестройки ткани слизистой оболочки матки при стимуляции эстрогенами в отсутствии прогестерона, а на клиническом материале выявить аналогичные молекулярно-биологические паттерны у пациенток. Экспериментальная часть позволила автору всесторонне исследовать материал эндометрия в условиях различных схем терапии.

Экспериментальное исследование выполнено на базе вивария и Центра коллективного пользования научным оборудованием «Молекулярная биология», созданном при ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», хорошо оснащенного и при использовании комплекса современных валидированных методик. Ценность выполнения клинической части работы подтверждается достаточным опытом автора в должности врача акушера-гинеколога. Публикации автора за период с 2014 года по настоящее время показывают ее активную научно-исследовательскую работу в области экспериментальной патофизиологии, начиная со студенческих лет. Морфологические и молекулярно-биологические исследования биоматериала крыс и биоптатов эндометрия человека выполнены в лицензированном на медицинскую

деятельность отдела патоморфологии и молекулярной онкологии Центральной научно-исследовательской лаборатории Инжинирингового центра «Генетические и клеточные биотехнологии» Медицинского института имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

Полученные автором результаты свидетельствуют о полном решении поставленных задач и обоснованности положений, выносимых на защиту. Выводы логически вытекают из полученных результатов. Практические рекомендации и внедрение результатов в практику открывает перспективы их практического применения и ряда дальнейших исследований.

Структура диссертации, ее оформление и содержание

Диссертационная работа структурирована классически, содержит введение, обзор литературы, главу, описывающую материалы и методы исследования, две главы с результатами собственных исследований (одна из них посвящена фундаментальным патофизиологическим аспектам, а одна – клиническим патогенетическим исследованиям), главу обобщения результатов, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы, содержащий 130 наименований современных работ. Диссертация изложена на 121 странице текста, иллюстрирована 7 таблицами, 29 рисунками (среди них блок-схемы, диаграммы, микрофотографии).

Во введении актуализирована тема работы, описаны данные о выполненном исследовании и его ключевых результатах, указаны сведения о широкой апробации авторских разработок и их публикации в профильных изданиях, подробно указан вклад автора в работу.

В первой главе автор анализирует известные из литературы этиологические сведения и патогенетические механизмы развития различных форм гиперплазии эндометрия, описывает известные способы ее моделирования в эксперименте и анализирует существующие способы диагностики и лечения, подробно излагает литературные данные о

возможной роли воспаления в развитии гиперплазии, что легло в основу научной гипотезы работы. На достаточном количестве источников мировой и отечественной литературы, рассмотрены современные представления об этиологии и патогенезе развития различных форм гиперплазии эндометрия, подходы к ее диагностике и терапии.

Результаты патофизиологических исследований роли воспаления и не только доступность, но необходимость морфологической диагностики, позволили сформулировать рабочую гипотезу о возможности использования данного патофизиологического пути структурных изменений эндометрия (взаимосвязи гиперплазии и воспаления) с целью создания нового подхода в диагностике и терапии, наиболее актуального для молодых женщин репродуктивного возраста.

Вторая глава посвящена прописанному поэтапно дизайну работ. Указаны основные части экспериментального раздела с подробным описанием техники овариэктомии, создания модели гиперэстрогении с демонстрацией способов верификации гиперпластического процесса в эндометрии, описаны схемы коррекционной терапии в эксперименте, представлены подробные технологии морфологических и молекулярно-биологических методик. Обоснованы методики исследований пациентов, методология клинического исследования. Описаны методы математической обработки полученных результатов для каждого вида работ.

В третьей главе описаны результаты экспериментальной работы с использованием самок крыс линии Вистар при овариэктомии, последующем введении эстрогенов и морфологической верификации развития гиперплазии с ее коррекцией тремя группами препаратов, включая нестероидные противовоспалительные средства, согласно задачам экспериментальной части исследования. Материалом являются гистологические препараты матки экспериментальных животных. Автор наглядно демонстрирует структурные, функциональные и молекулярные изменения эндометрия в эксперименте моделирования на животных гиперпластического процесса в результате

гиперэстрогении путем анализа изменений гистофизиологических показателей тканей в динамике. Представлены таблицы с количественными показателями статистической оценки динамики экспрессии маркеров.

В четвертой главе (*клинический раздел работы*) выполнен ретроспективный анализ клинических данных и гистологического архива биоматериала соскобов полости матки, полученных у женщин, обратившихся с аномальными маточными кровотечениями в клинику при ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского». Материалом являются соскобы полости матки, полученные в ходе фракционного диагностического выскабливания под контролем гистероскопии. Представлены результаты морфологических и молекулярно-биологических методов верификации патологии эндометрия и патофизиологической оценки его изменений у человека: общая морфология и иммуногистохимия (с маркерами овариальных гормонов, клеточного цикла, ангиогенеза и воспаления), использованы методы световой микроскопии, микросъемки и сканирования гистопрепаратов, морфометрия изображений.

В пятой главе на основании изложенного материала, автор сравнивает полученные результаты с данными отечественных и зарубежных исследователей. В этом разделе автор анализирует важные выводы, подводит итоги исследования, объясняет и обосновывает полученные данные.

В заключении автор коротко представляет суть наиболее значимых фундаментальных результатов выполненной работы и указывает ценность их практического применения.

Диссертация заканчивается пятью выводами и тремя практическими рекомендациями, основанными на фактических данных, полученных самостоятельно Н.И. Шавровой. Выводы демонстрируют достижение цели и отображают успешное решение всех задач работы, они аргументированы автором, логично вытекают из полученных данных.

Работа написана в хорошем научно-литературном стиле, язык изложения четкий и ясный. Текст логичный, краткий, без повторов, уместны обобщения и ссылки на результаты исследователей в обзоре литературы и

при обсуждении. Следует подчеркнуть, что все разделы иллюстрированы. К таблицам, оформленным наглядно и структурно, с логичным распределением цифровых данных и указанием статистически значимых отличий между группами сравнения, имеются пояснения, а к рисункам и диаграммам – детальные подписи, к микрофотографиям – указатели описываемых структур, не оставляющие сомнений в обоснованности авторских интерпретаций. Наиболее емкие, обобщающие данные проиллюстрированы блок-схемами, что облегчает восприятие материала. Результаты изложены в автореферате, который оформлен в традиционном стиле и достаточно отражает содержание, основные положения и выводы всей работы.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Автором разработан способ моделирования гиперплазии эндометрия у лабораторных грызунов с усовершенствованной техникой овариэктомии и трансдермальным введением эстрогенов с последующей гистологической верификацией. Данный способ минимизирует риски воспалительных осложнений, что важно для патофизиологических экспериментов и позволяет проводить морфологические исследования поэтапно с повторным оперативным вмешательством, что важно с точки зрения биоэтического подхода для минимизации количества исследуемых животных.

Автором показано, что воспаление играет существенную патогенетическую роль в развитии неатипической железистой гиперплазии эндометрия с истощением рецепторного аппарата в эндометрии, что требует коррекции медикаментозного лечения, с учетом этиологических факторов. В связи с чем, пациенткам с клинико-морфологическими признаками гиперплазии эндометрия рекомендовано иммуногистохимическое исследование с маркерами CD 138, CD 4, CD 8, CD 20, CD 56, ER, PR на материале соскобов полости матки или биопсии эндометрия.

Автором разработан алгоритм диагностики и лечения неполной морфологической картины хронического эндометрита на фоне неатипической железистой гиперплазии эндометрия для своевременного выявления пациенток, их наблюдения по расширенному протоколу с предлагаемыми описанными лабораторными и морфологическими методиками, включая преаналитический и аналитический этап оценки результата. Данный термин обоснованно введен автором при описании патологического состояния эндометрия, встречающегося у существенного процента пациенток репродуктивного возраста, предложенный подход позволяет эффективно выявить воспалительную составляющую в его формировании и на основании авторского алгоритма использовать дополнительные критерии поиска причины и подобрать верную терапию.

У автора имеются внедрения разработок в образовательную деятельность и медицинскую практику. Основные положения, вошедшие в диссертационное исследование, внедрены в практическую лечебную работу Многопрофильной клинической больницы Святителя Луки ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», г. Симферополь; диагностическую работу Отдела патоморфологии и молекулярной онкологии Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) Медицинского института им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», г. Симферополь и в образовательные программы студентов, ординаторов, аспирантов кафедры общей и клинической патофизиологии и кафедры патологической анатомии с секционным курсом Медицинского института им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского».

Замечания по диссертации

При общей положительной оценке работы следует указать, что в процессе ее изучения, к автору появился ряд вопросов и замечаний. В тексте встречаются опечатки, неудачные (с точки зрения стилистики) выражения.

Ряд микрофотографий с результатами иммуногистохимического исследования, сгруппированных по несколько штук (от 6 до 16), было бы желательно представить более крупно и при разных увеличениях. Это позволило бы продемонстрировать изменения ткани эндометрия на большей площади среза, оценив структуру большего числа желез и стромальных элементов, а также детализировать отдельные участки иллюстрации на больших увеличениях. Для ряда маркеров при описании результатов постановки иммуногистохимической реакции в эксперименте при отсутствии их экспрессии в ткани достаточно было указать это в тексте работы и не приводить данные в таблице (например, для bcl2 при изучении всех локализаций получены отрицательные результаты исследования экспрессии данного белка – табл. 5).

Перечисленные замечания не носят принципиального характера, поскольку приведены и проанализированы все количественные параметры, сделанные по правилам морфометрии и биостатистики. Выбор маркеров обоснован научной гипотезой, а результаты представлены в качестве объективных данных ее проверки. Таким образом, указанные недостатки не умаляют ценности и научной значимости проведенного исследования.

При прочтении работы возник ряд вопросов:

1. На Ваш взгляд, какой из маркеров, исходя из полученных результатов, наиболее ярко отражает развитие воспалительных изменений в эндометрии?
2. Для чего Вы проводили экспериментальную часть данной работы? Ведь используемые Вами в эксперименте лекарственные препараты можно применять в клинике, а лечебно-диагностическое выскабливание делает доступным для исследования и морфологический материал в объеме, достаточном для дополнительных молекулярных исследований. Что принципиально важного дал эксперимент?

3. Какие результаты Вашего диссертационного исследования можно напрямую использовать в клинической практике? Может ли врач использовать полученные Вами результаты в своей практической деятельности?

**Заключение о соответствии диссертации требованиям, установленным
Положением о присуждении ученых степеней**

Диссертационная работа Шавровой Надежды Игоревны на тему «Разработка новых патогенетически обоснованных диагностических и лечебных подходов при гиперплазии эндометрия (экспериментально-клиническое исследование)», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология, представляет собой законченное научное исследование, являющееся актуальной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой поставлена и успешно решена важная для патофизиологии задача изучения роли воспаления в механизмах развития гиперплазии эндометрия.

Заключение

Диссертация Шавровой Надежды Игоревны на тему «Разработка новых патогенетически обоснованных диагностических и лечебных подходов при гиперплазии эндометрия (экспериментально-клиническое исследование)», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной научно-практической задачи изучения роли воспаления в механизмах развития гиперплазии эндометрия.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО «Рост ГМУ»). Адрес: 344022, Ростовская Область, г. Ростов-на-Дону, пер Нахичеванский, зд. 29, Телефон: +7 (863) 305-89-00, E-mail: okt@rostgmu.ru, Официальный сайт <https://rostgmu.ru/>