

ОТЗЫВ

официального оппонента профессора РАН, доктора медицинских наук, профессора Ярмолинской Марии Игоревны на диссертационную работу Межлумовой Натальи Арсеновны на тему «Повышение эффективности методов диагностики и прогнозирования течения различных форм наружного генитального эндометриоза на основании определения молекулярных маркеров», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология

Актуальность исследования

Эндометриоз является одним из наиболее распространенных гинекологических заболеваний и поражает до 12% женщин репродуктивного возраста. Этиология и патогенез эндометриоза в настоящее время до конца неизвестны. Предложено множество теорий, объясняющих происхождение и развитие этого заболевания, однако, ни одна из них окончательно не подтверждена. Эндометриоз является мультифакториальным заболеванием со сложным патогенезом, включающим генетические, эндокринологические, иммунологические и экологические факторы.

В настоящее время как медикаментозные, так и хирургические методы лечения не обеспечивают долгосрочного избавления от симптомов заболевания. Расширение представлений о патогенезе эндометриоза лежит в основе поиска новых мишеней для разработки более эффективных терапевтических средств и диагностических методик.

На сегодняшний день единственным методом окончательной диагностики наружного генитального эндометриоза является лапароскопическое вмешательство с биопсией и гистологическим исследованием удаленных очагов. Учитывая, что данный метод является инвазивным, пациентки зачастую отказываются от проведения оперативного лечения, в связи с чем постановка диагноза откладывается на несколько лет от момента возникновения первоначальных симптомов заболевания. Этот временной интервал составляет 8-11 лет. Известно, что в 50% случаев заболевание может быстро

прогрессировать. Необходимо отметить, что после хирургического лечения эндометриоза сохраняется вероятность возникновения рецидива заболевания, частота которого значительно варьирует в различных исследованиях и колеблется от 6 до 67%. В среднем, каждая вторая женщина после хирургического лечения повторно подвергается лапароскопической операции.

Таким образом, ранняя диагностика наружного генитального эндометриоза при помощи малоинвазивных методик имеет ключевое значение для профилактики прогрессирования и рецидивирования, а также сохранения репродуктивного здоровья женщин.

В последнее время активно изучается роль малых некодирующих РНК, таких как микроРНК (microRNA) и пивиРНК (piwiRNA) в регуляции экспрессии генов как в норме, так и при патологии. Установлено, что данные РНК выполняют роль посттранскрипционных репрессоров за счет взаимодействия с мРНК-мишенями, что приводит либо к деградации соответствующей мРНК, либо к остановке трансляции. Идентификация малых РНК в эутопическом и эктопическом эндометрии, определение роли регулируемых ими генов-мишеней в патогенезе различных форм эндометриоза, а также выявление предикторов рецидивирования заболевания позволит определить новые диагностические подходы, выявить фармакологические мишени для терапевтического воздействия, а также индивидуализировать ведение пациенток после хирургического лечения. В результате многолетних исследований изучены различные механизмы возникновения эндометриоза, однако методы ранней неинвазивной диагностики и эффективные схемы лечения до сих пор отсутствуют.

В связи с этим, диссертационная работа Межлумовой Натальи Арсеновны, посвященная повышению эффективности методов диагностики и прогнозирования течения эндометриоза на основании определения значения молекулярных маркеров у пациенток репродуктивного возраста, является чрезвычайно актуальной в настоящее время. Автором убедительно

сформулирована цель исследования, а поставленные задачи соответствуют обозначенной цели.

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

Диссертационная работа Межлумовой Натальи Арсеновны выполнена на достаточном клиническом материале. Достоверность проведенного исследования не вызывает сомнений в связи с высоким научным и методологическим уровнем исследования, а также анализом данных при помощи современных статистических методов.

Произведено общеклиническое обследование и оперативное лечение 100 пациенток, находившихся на лечении в отделении гинекологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в период с 2017 по 2019 гг. В зависимости от локализации наружного генитального эндометриоза 100 исследуемых пациенток были разделены на две группы: I – 55 пациенток с эндометриоидными кистами яичников, II группа – 45 пациенток с ретроцервикальным эндометриозом. Группу контроля составили 30 пациенток без эндометриоза, прооперированные по поводу трубно-перитонеального фактора бесплодия. Эти пациентки не имели эндометриоза по данным ультразвукового исследования и последующего лапароскопического вмешательства.

Объем оперативного лечения зависел от степени распространенности эндометриоза: проводили резекцию яичников или иссечение эндометриоидных гетеротопий в пределах визуально здоровых тканей, гистероскопию и отдельное диагностическое выскабливание эндоцервикса и эндометрия с последующим гистологическим исследованием операционного материала.

Экспрессию малых РНК оценивали с использованием высокопроизводительного секвенирования нового поколения на платформе Illumina (NextSeq) и методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Протеомное

исследование состава белков стромальных клеток эндометрия проводили методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. Обработку данных транскриптомного и протеомного профилирования проводили при помощи биоинформационных программных пакетов и баз данных.

Диссертантом проведен анализ клинико-анамнестических характеристик пациенток с различными формами наружного генитального эндометриоза, выделены особенности течения заболевания, хирургического лечения и частоты бесплодия у пациенток с эндометриоидными кистами яичников и ретроцервикальным эндометриозом. Изучены ближайшие и отдаленные результаты хирургического лечения пациенток репродуктивного возраста с эндометриозом с целью оценки течения послеоперационного периода, восстановления репродуктивной функции и развития рецидивов заболевания.

Кроме того, обоснована целесообразность исследований молекулярных маркеров в тканях эктопического и эутопического эндометрия.

При выполнении диссертационной работы автором были использованы современные высокоинформативные методы исследования. Статистическая обработка полученных данных обеспечила точность и достоверность результатов исследования и логично вытекающих из них выводов. Выводы и практические рекомендации соответствуют материалам, приведенным в диссертационной работе.

Научной новизной работы являются представленные данные о патогенезе наружного генитального эндометриоза, связи его развития с наследственной предрасположенностью и отягощенным преморбидным фоном в виде воспалительных заболеваний в анамнезе. Также в ходе исследования была проведена оценка репродуктивной функции пациенток после оперативного лечения по поводу эндометриоза, в результате установлено, что беременность наступила у 52% женщин с бесплодием.

Впервые была проведена сравнительная оценка экспрессии микроРНК в тканях эндометриодных кист яичников и ретроцервикальных гетеротопиях относительно тканей эутопического эндометрия у больных с эндометриозом и у пациенток без данной патологии в пролиферативную и секреторную фазы менструального цикла. Также обнаружено влияние фазы менструального цикла на экспрессию микроРНК в исследуемых тканях эндометрия.

На основании биоинформационных баз данных и протеомного исследования определены потенциальные гены-мишени дифференциально экспрессированных микроРНК и регулируемые ими пути внутриклеточной сигнализации.

Проведен одновременный транскриптомный и протеомный анализ, который позволил выявить молекулярные маркеры (микроРНК и регулируемые ими белковые мишени) в стромальных клетках эктопического эндометрия. Сравнительный анализ образцов стромальных клеток эктопического эндометрия пациенток с рецидивом и без него определил потенциальные маркеры для прогнозирования рисков рецидивирования эндометриоза.

В проведенном исследовании впервые показана экспрессия пивиРНК в тканях эктопического и эутопического эндометрия. Биоинформационный анализ путей внутриклеточной сигнализации, регулируемых пивиРНК, указывает на то, что изменение их экспрессии может служить новым патогенетическим звеном при развитии эндометриоза.

Практическая значимость работы

Диссертационная работа Межлумовой Натальи Арсеновны имеет существенную практическую значимость для акушерства и гинекологии. Разработан и предложен алгоритм диагностики наружного генитального эндометриоза, который позволит выявить заболевание на ранней стадии, своевременно назначить лечение и предотвратить возникновение рецидивов. Комплексное исследование молекулярных маркеров в тканях эндометрия позволит осуществить более тщательный клиничко-лабораторный контроль за

течением заболевания. Мониторирование предложенных параметров позволит своевременно направлять пациенток для оперативного вмешательства и оценивать эффективность проводимого лечения

Апробация и внедрение работы в практику

Апробация работы и внедрение ее результатов в практику отвечают требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Апробация диссертации проведена на межклинической конференции и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Полученные научные и практические данные внедрены в работу гинекологического отделения ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Материалы и результаты диссертации доложены на научно-практических конференциях и конгрессах.

Оценка содержания работы

Диссертационная работа Межлумовой Натальи Арсеновны изложена в традиционном стиле на 143 страницах печатного текста и состоит из оглавления, введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, а также выводов, практических рекомендаций и списка используемой литературы.

Работа написана хорошим литературным языком, иллюстрирована 24 таблицами и 9 рисунками. Библиографический указатель содержит 299 источников, из них 55 отечественных и 244 зарубежных.

Во введении диссертант четко обосновывает актуальность темы, формулирует цель исследования, из которой логично вытекают поставленные задачи. Адекватно изложены научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту, внедрение результатов в практику и апробация научной работы, отражен личный вклад автора.

В обзоре литературы отражены современные представления об этиологии и патогенезе наружного генитального эндометриоза, молекулярно-биологических особенностях эутопического и эктопического эндометрия

женщин с данным заболеванием, описаны методы лечения эндометриоза, а также возможные факторы риска развития рецидива.

В главе, посвященной материалам и методам исследования, автором описаны дизайн исследования, критерии включения и исключения в исследуемые группы, план обследования пациенток, представлена подробная информация по используемому хирургическому и последующему медикаментозному лечению, а также молекулярно-генетическим и гистологическим методам исследования.

В главе, посвященной результатам собственных исследований, проведен анализ клиничко-анамнестических характеристик пациенток с эндометриоидными кистами яичников и ретроцервикальным эндометриозом, также изучены ближайшие и отдаленные результаты после хирургического лечения, а именно, восстановление и реализация репродуктивной функции, развитие рецидивов заболевания.

Выполнен сравнительный анализ экспрессии микроРНК в эутопическом эндометрии больных эндометриозом относительно пациентов без данной патологии в пролиферативную и секреторную фазы менструального цикла. Пересечение списков дифференциально экспрессируемых микроРНК в двух фазах менструального цикла позволило выявить три общих микроРНК для обеих фаз: miR-143-3p, miR-106b-5p и miR-1-3p. Таким образом, установленные отличия в экспрессии данных микроРНК в перспективе могут иметь практическое применение, поскольку биопсия эндометрия является малоинвазивной процедурой, а анализ маркерных РНК может служить дополнительным методом диагностики эндометриоза.

Сравнительный анализ образцов клеток, полученных от пациенток, у которых впоследствии обнаружился рецидив эндометриоидной кисты яичника и без данного осложнения, выявил четыре белка: статмин-1, белок теплового шока А2, кальпонин-1 и аннексин-А4. Таким образом, оценка изменения экспрессии данных белков в тканях эктопического эндометрия может рассматриваться как потенциальный способ прогнозирования рецидива при эндометриоидных кистах яичников.

Полученные данные обработаны современными методами статистического анализа и иллюстрированы достаточным количеством таблиц и рисунков.

В главе, посвященной обсуждению полученных результатов, проведена подробная сравнительная оценка результатов данной исследовательской работы и результатов других исследователей в этой области. Автором также выделена необходимость дальнейшего исследования этиологии и патогенеза эндометриоза и механизмов его развития и рецидивирования.

Выводы, практические рекомендации и содержание автореферата соответствуют основным положениям диссертационной работы. По теме диссертации опубликовано 4 печатные работы, из которых 3 входят в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК.

В проведенной работе диссертант Межлумова Наталья Арсеновна показала себя зрелым исследователем и клиницистом, способным к грамотному подбору клинического материала, выбору адекватных методов исследования для решения поставленных задач и проведению грамотной статистической обработки данных на современном уровне.

Принципиальных замечаний к оппонируемой диссертационной работе нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая вышеизложенное, можно сделать заключение, что диссертационная работа Межлумовой Натальи Арсеновны на тему: «Повышение эффективности методов диагностики и прогнозирования течения различных форм наружного генитального эндометриоза на основании определения молекулярных маркеров», является законченным научно-квалифицированным исследованием и содержит новое решение актуальной научно-практической задачи акушерства и гинекологии – разработка методов малоинвазивной диагностики и прогнозирование течения эндометриоза на основании определения значения молекулярных маркеров у пациенток репродуктивного возраста.

Научная новизна, достоверность, теоретическая и практическая значимость полученных результатов исследования позволяют считать, что диссертационная работа Межлумовой Натальи Арсеновны на тему: «Повышение эффективности методов диагностики и прогнозирования течения различных форм наружного генитального эндометриоза на основании определения молекулярных маркеров» полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 01.10.2018 г. №1168), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант, Межлумова Наталья Арсеновна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности «14.01.01 – акушерство и гинекология».

Доктор медицинских наук,
профессор РАН, профессор,
руководитель отдела эндокринологии репродукции
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
акушерства, гинекологии и
репродуктологии имени Д.О.Отта»

Мария Игоревна Ярмолинская

Подпись доктора медицинских наук, профессора РАН,
профессора Ярмолинской М.И. заверяю:

Ученый секретарь
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
акушерства, гинекологии и
репродуктологии имени Д.О.Отта»
к.м.н.



Роман Викторович Капустин

«05» октября 2020 г
199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3
Тел: +7 (812) 328-98-89;
e-mail: iagmail@ott.ru
Web-сайт: <https://ott.ru>.