

ОТЗЫВ

официального оппонента Кубышкина А.В. на диссертационную работу Тихаевой Ксении Юрьевны «Роль желатиназы В и магний-кальциевого баланса в патогенезе хронического воспаления эндометрия (клинико-экспериментальное исследование)», представленной в диссертационный совет Д 208.038.02 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на соискание степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 - патологическая физиология

Актуальность избранной темы исследования

Хроническое воспаление эндометрия, или хронический эндометрит, можно отнести к разряду важных медицинских проблем, так как его развитие во многих случаях сопровождается нарушением репродуктивной функции, в том числе развитием бесплодия или привычного невынашивания беременности. В этой связи, рассматриваемая в диссертационном исследовании проблема является актуальной.

Можно сказать, что воспаление эндометрия является одним из ключевых факторов развития различных осложнений. В частности, в наших исследованиях, недавно опубликованных в *Inflammation Research* (А.Кубышкин et al., 2016), показано, что воспаление является неотъемлемой составляющей гиперпластических процессов эндометрия и от его выраженности во многом зависит в дальнейшем возможность малигнизации.

Кроме того, согласно современным данным, этиологическим фактором хронического эндометрита, не связанного с гиперплазией, является не облигатный монопатоген, а условно-патогенная флора, микст-инфекция с преобладанием анаэробов. Во многом это предопределяет дальнейшее течение воспалительного процесса: длительно, порой бессимптомно,

поддерживается деструкция тканей, вторичная альтерация, экссудация, без логичного завершения воспаления - полной и адекватной репарации. Тот факт, что стандартное эрадикационное лечение в большинстве случаев не эффективно, также указывает на необходимость поиска иных мишеней для эффективной патогенетически обоснованной терапии.

Следует отметить, что течение многих воспалительных процессов определяется не только свойствами флогена, но и механизмами резистентности тканей к повреждению, в том числе, ответом иммунной системы и интенсивностью пролиферации. Роль внеклеточного матрикса рассматривалась в аспекте многих нозологий. Баланс между синтезом компонентов матрикса и их деградацией является основой ремоделирования любой ткани. Причем, в последнее время в механизмах ремоделирования, особое значение придается протеиназам, в том числе матриксным металлопротеиназам, которые являются одним из основных регуляторов обмена белков внеклеточного матрикса. В связи с этим, изучение роли ММП-9 (желатиназы В) и магний-кальциевого баланса, от которого во многом зависит регуляция ее активности, в патогенезе хронического эндометрита является весьма актуальной задачей.

Степень достоверности и новизна результатов исследования

Соискателем использованы методы исследования, позволяющие решить поставленные задачи. Для реализации цели исследования, проведены эксперименты на 60 самках крыс линии Wistar с моделированием эндометрита. Клинический фрагмент выполнен на 45 образцах эндометрия, полученных у женщин с бесплодием. В работе использовались морфологические, иммуногистохимические, биохимические, статистические методы параметрической и непараметрической статистики (расчетные коэффициенты Стьюдента и Манна-Уитни), а так же методы экспериментального моделирования хронического воспалительного процесса

в эндометрии на основании оригинальной модели, разработанной автором исследования.

В процессе проведенных исследований автором выявлена роль желатиназы В в патогенезе экспериментального воспаления эндометрия. В исследовании впервые определено уменьшение удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа В-позитивных клеток в стромально-клеточном компоненте эндометрия на фоне его хронического воспаления у крыс. Полученные в эксперименте данные подтверждены в образцах эндометрия, полученных у женщин с хроническим эндометритом и повторяющимися неудачами имплантации при лечении бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий.

Выявлено, что при экспериментальном хроническом воспалении эндометрия, происходила интенсификация перекисного окисления липидов в крови из нижней полой вены, оттекающей от поврежденных тканей, проявляющаяся увеличением как первичных, так и вторичных продуктов пероксидации. При этом, содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида находилось в отрицательной корреляционной связи с удельным числом и интенсивностью экспрессии желатиназы В в строме эндометрия у крыс, что свидетельствует о продолжающемся повреждении и нарушении процессов ремоделирования ткани. Выявлено влияние магнезии на показатели активности желатиназы В, которое проявлялось положительной зависимостью показателей активности желатиназы В от уровня магния в эритроцитарной массе крови из нижней полой вены. В группе животных с применением магнийсодержащей композиции, включающей полименерал «Бишофит», восстанавливалось удельное число, интенсивность экспрессии желатиназа В позитивных клеток. Кроме того применение магнийсодержащего препарата приводило к снижению содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, на фоне увеличения активности каталазы, что трактуется как фактор уменьшения деструкции ткани.

При проведении клинического фрагмента исследования обнаружено, что в образцах эндометрия, полученных у женщин с хроническим эндометритом, так же отмечалось снижение удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа В позитивных клеток. При этом рекомендуемая в такой ситуации стандартная этиотропная терапия не приводила к существенным изменениям, фиксируемым по данным морфологического и иммуногистохимического исследования. В то же время применение электрофореза с 10% сульфатом магния в составе комплексной терапии женщин с хроническим эндометритом проявлялось тенденцией к увеличению показателей активности желатиназы В, что может свидетельствовать об усилении процессов ремоделирования тканей эндометрия.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе сформулировано 4 положения, выносимых на защиту, и 5 выводов, которые обоснованы данными экспериментального и клинического фрагмента исследования. Содержание выводов и положений, выносимых на защиту, вытекает из данных, полученных при проведении морфологических, иммуногистохимических и биохимических методов, и соответствует поставленным цели и задачам исследования. Использованные методы исследования являются современными, адекватными поставленным задачам и цели исследования и дают возможность получить объективные результаты.

Научная и практическая значимость результатов исследования, конкретных рекомендаций по их использованию

Научно-практическая значимость работы заключается в получении новых данных об изменении активности желатиназы В в тканях эндометрия при хроническом эндометрите. Показано снижение удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа В-позитивных клеток в стромально-

клеточном компоненте тканей эндометрия. Кроме того, выявлена взаимосвязь между уровнем магнестии и показателями активности желатиназы В у крыс на фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия.

В рамках проведенного исследования был разработан метод моделирования экспериментального хронического воспаления эндометрия у крыс, отличающийся воспроизводимостью, простотой и доступностью для проведения эксперимента. Полученные с помощью данной модели экспериментальные данные позволяют уточнить ряд звеньев патогенеза формирования хронического эндометрита, определить степень взаимосвязи деструктивных и репаративных процессов в ткани эндометрия.

Важной практической составляющей работы является выявленная особенность применяемой магнийсодержащей композиции, использование которой в комплексном лечении приводит к уменьшению уровня первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов в крови, тенденции к восстановлению числа и интенсивности экспрессии желатиназа В-позитивных клеток в тканях эндометрия.

Степень завершенности исследования в целом и качество оформления диссертации

Поставленные диссертантом цель и задачи были достигнуты при проведении диссертационного исследования. Диссертация выполнена в традиционном стиле, содержит введение, обзор литературы, главу материалы и методы исследования, 3 главы результатов собственных исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, практические рекомендации и литературный список, включающий труды российских и зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 13 таблицами, 20 рисунками. Выводы сформулированы в соответствии с поставленными задачами.

Глава введение включает типовые разделы, отражающие актуальность, новизну исследования, значимость полученных результатов для науки и

практики, а так же положения, выносимые на защиту, помимо этого во введении отражена полнота публикаций основных результатов исследования.

В главе «Обзор литературы» автор всесторонне анализирует литературные данные по этиопатогенезу хронического воспаления с акцентом на ткани репродуктивной области, роль внеклеточного матрикса, металлопротеиназ, магния в патологии, в частности в механизмах повреждения и пролиферации в зоне воспаления.

В главе «Материалы и методы исследования» детально описываются морфологические методы, полуколичественные методы оценки инфильтрата в эндометрии. Для оценки активности желатиназы В проведено иммуногистохимическое исследование интенсивности экспрессии и удельного числа желатиназа В позитивных клеток в тканях эндометрия. Для оценки активности перекисного окисления липидов проведено исследование содержания первичных и вторичных продуктов пероксидации и активности фермента антиоксидантной защиты биохимическими методами.

В трех главах собственных результатов описаны полученные данные морфологического, иммуногистохимического исследований образцов эндометрия у женщин с неоднократными неудачами имплантации и хроническим эндометритом. Изложены результаты экспериментальной части, полученные при проведении морфологических, иммуногистохимических и биохимических методов у крыс с моделированием хронического эндометрита. Отдельный раздел содержит данные об эффективности патогенетической терапии препаратами магния в условиях эксперимента и в клинике.

В главе «Обсуждение» проведен анализ и интерпретация полученных данных, сопоставление результатов диссертационного исследования с результатами, полученными другими авторами. Выводы сформулированы исходя из результатов собственных исследований и соответствуют поставленным задачам.

Результаты работы позволили сформулировать практические рекомендации для использования как в практической деятельности, так и в образовательном процессе.

В работе цитирован обширный список литературы российских и зарубежных авторов, в числе которых как фундаментальные труды по теме диссертации, так и новейшие результаты клинических и экспериментальных исследований по изучаемой тематике.

Полнота опубликования основных результатов исследования и соответствие автореферата основным положениям диссертации

Основные результаты исследования в достаточном объеме опубликованы в научных изданиях. По материалам работы получен патент на изобретение, опубликованы 3 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК РФ для опубликования материалов диссертаций. Так же результаты исследования были представлены на научных и научно-практических конференциях.

Автореферат полностью отражает содержание и основные положения диссертации.

Недостатки работы

Несмотря на общее положительное впечатление от работы, при изучении материалов выявлены некоторые погрешности и стилистические недочеты. Принципиальных замечаний влияющих на общую положительную оценку работы нет. Но есть недочеты, требующие пояснения.

Во-первых, не совсем понятно, чем отличались при проведении экспериментального исследования группы 1 – исходное состояние и группа 2 – контроль? Сравнение все равно проводилось с контрольной группой.

Во-вторых, в работе сразу утверждается, что после 41 суток при моделировании эндометрита развивается хроническое воспаление. В связи с этим исследования в эксперименте проведены на 51 день. Но логично бы

было показать, как развивается острый эндометрит в короткие сроки после моделирования и затем чем отличается хронический эндометрит.

Кроме этого, в порядке обсуждения хотелось бы получить ответы на следующие вопросы:

1. Почему для оценки антиоксидантной активности было выбрано определение активности каталазы? Ведь можно было провести оценку супероксиддисмутазы, пероксидазы, церулоплазмينا?
2. В чем смысл выбора минерал «Бишофит» в виде суппозиторий для коррекции магниевого дисбаланса при экспериментальном лечении хронического эндометрита у крыс?
3. Исходя из полученных Вами данных что скорее всего может является первичным нарушением: гипомагнегистия или снижение активности желатиназы В?
4. В литературе можно найти работы в которых показано увеличение активности желатиназы В при различных воспалительных процессах, в Вашей работе показано снижение. С чем Вы это связываете?

Заключение

Диссертация К.Ю. Тихаевой «Роль желатиназы В и магний-кальциевого баланса в патогенезе хронического воспаления эндометрия (клинико-экспериментальное исследование)» является законченным исследованием, посвященным актуальной проблеме современной патофизиологии репродуктивной системы. В работе решены поставленные задачи: определены механизмы развития хронического воспаления эндометрия с участием процессов свободнорадикального окисления, желатиназы В и состояния магний-кальциевого баланса и проведен поиск новых методов патогенетической терапии.

По актуальности, объему материала, методологическому уровню, новизне полученных результатов теоретической и практической значимости диссертация полностью отвечает требованиям п.9 «Положения о

присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Тихаева Ксения Юрьевна заслуживает присуждения искомой степени по специальности: 14.03.03 - патологическая физиология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой общей

и клинической патофизиологии

Медицинской академии имени С.И. Георгиевского

Федерального государственного автономного

образовательного учреждения высшего образования

«Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»,

доктор медицинских наук, профессор

Кубышкин Анатолий Владимирович

Адрес: 295006, Республика Крым, г. Симферополь, бульвар Ленина 5/7,
тел.: 8(3652) 554-940, 8(3652) 554-906, e-mail: Kubyshekin_av@mail.ru

09.09.2017

