

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Манухина
Игоря Борисовича на диссертационную работу Амирханян Армине
Самвеловны на тему «Особенности диагностики и тактики ведения
пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с
папилломавирусной инфекцией» представленной на соискание ученой
степени кандидата медицинских наук по специальности

14.01.01 – акушерство и гинекология

Актуальность

В настоящее время проблема цервицитов, занимающих лидирующие позиции в структуре патологии шейки матки среди женщин репродуктивного возраста привлекает пристальное внимание исследователей. Цервициты, ассоциированные с папилломавирусной инфекцией, встречаются в 15-40% случаев, среди патологии шейки матки. Вместе с тем, известно, что вирус папилломы человека высокого онкогенного риска - основной этиологический фактор развития предрака и рака шейки матки, являясь самой распространенной инфекцией среди молодых сексуально активных женщин обладает низкой иммуногенностью не вызывающей развития воспалительной реакции. Согласно результатам многочисленных исследований показано, что хроническое воспаление может приводить к нарушению дифференцировки клеток и пролиферации эпителия шейки матки. Факторы, способствующие персистенции ВПЧ и запуску патологического процесса на шейке матки, недостаточно изучены. По результатам многочисленных публикаций выявлено, что для женщин молодого возраста характерна транзиторная инфекция с самостоятельной элиминацией вируса в 90% случаев, в то время как у женщин старше 30 лет – чаще наблюдается персистенция ВПЧ в течение 2 лет и более, что является одним из факторов риска развития предрака и рака шейки матки.

Применяемые в современной практике клинико-лабораторные методы исследования - цитологический, ДНК-тестирование ВПЧ, расширенная кольпоскопия, морфологическое исследование и исследование микробиоты влагалища выявляют уже существующие поражения шейки матки. Диагностика цервицита, ассоцииированного с ПВИ, затруднена вследствие отсутствия ярко выраженных клинических проявлений заболевания. Помимо этого, нередки случаи расхождения результатов клинического, цитологического, кольпоскопического методов исследования и ВПЧ-тестирования. На сегодняшний день нет эффективного метода диагностики и прогнозирования течения дисплазии шейки матки, что нередко приводит к необоснованным, зачастую агрессивным хирургическим воздействиям на шейку матки у молодых женщин репродуктивного возраста.

Как показано в работах ряда авторов, воспаление нижнего отдела половых путей женщины сопровождается изменениями иммунологических показателей. Данные об изменении транскрипционной активности генов иммунной системы при ВПЧ-ассоциированных хронических цервицитах немногочисленные. Изучение представленности мРНК генов иммунной системы в качестве маркеров воспаления и определение уровня метилирования промоторного участка гена WIF1 позволит совершенствовать диагностику и прогнозировать развитие хронического цервицита, ассоцииированного с ВПЧ, а комплексное применение современных клинико-лабораторных методов исследования определит возможность оптимизации и дифференцированного подхода к тактике ведения пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с ВПЧ.

Обоснование и достоверность полученных результатов

Обследование достаточного количества пациенток ($n=202$), включенных в исследование с применением современных методов диагностики, соответствующих цели и задачам исследования, подтверждает достоверность результатов исследования. Анализ полученных результатов проведен с применением статистических методов обработки. Выводы и практические

рекомендации, вытекающие из результатов исследования, подтверждают положения, выносимые на защиту.

В продольное проспективное исследование, предусматривающее наблюдение естественного развития заболевания в динамике с повторным клинико-лабораторным обследованием пациенток на последующем визите через 12 месяцев включены 202 женщины, обратившиеся на амбулаторно-поликлинический прием с целью диагностики и лечения патологии шейки матки. Согласно результатам цитологического и/или гистологического метода исследования и ВПЧ-генотипирования сформированы 2 группы женщин, которые разделены на 2 подгруппы. 1 группу составили 108 пациенток с ХЦ: 1а подгруппа – 52 женщины с ВПЧ-позитивным тестом, 16 – 56 пациенток с ВПЧ-негативным тестом; 2 группа – 94 пациентки без признаков ХЦ: 2а подгруппу составили 44 женщины с ВПЧ-позитивным тестом, 26 – 50 пациенток с ВПЧ-негативным тестом (контрольная подгруппа). Четко определены критерии включения и исключения из исследования. В ходе выполнения работы наряду с традиционными методами исследования (клиническими, инструментальными, лабораторными) проведены специальные современные и информативные методы исследования: определение экспрессии 21 мРНК гена человека и бисульфитное секвенирование гена WIF1. Тщательная статистическая обработка полученных результатов обеспечила точность и достоверность, вытекающих из результатов исследования выводов и рекомендаций для практического здравоохранения.

Объем исследования является достаточным для получения убедительных данных, а методологическая работа построена четко и соответствует основным требованиям, предъявляемым к научному исследованию. Выводы и практические рекомендации соответствуют содержанию фактического материала, изложенному в диссертации.

Научная новизна

В диссертационной работе А.С. Амирханян изучена частота выявления ВПЧ-ассоциированного хронического цервицита, определены наиболее часто встречающиеся типы ВПЧ и оценена роль вирусной нагрузки в развитии заболевания у женщин репродуктивного возраста. Определены колъпоскопические, клинико-морфологические и молекулярно-генетические особенности ВПЧ-ассоциированного хронического цервицита.

Впервые проведено комплексное изучение экспрессии 21 гена человека регулирующих пролиферацию и клеточный цикл (*KI67, CCND1, CDKN2A/P16*), апоптоз (*BCL2*), рецепторный аппарат клеток (*PGR, EGFR*), генов врожденного иммунитета (*IFNAR1, IL1RN, IL1b, IL10, IL18, TNFa, GATA3, TLR4, TGFB1, CD68, CXCL5, CXCL10, CXCL13*), матриксных металлопротеиназ (*MMP8, MMP9*) у пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с вирусом папилломы человека. Определена роль иммунорегуляторных молекул *IL10, IL1RN* и *TGFB1* в контроле за воспалительной реакцией, а также рецепторов прогестерона (*PGR*) и эпидерmalного фактора роста (*EGFR*) определяющих процессы пролиферации и регенерации эпителия шейки матки.

Впервые в России исследован статус метилирования промоторного участка гена *WIF1* у пациенток с ВПЧ-ассоциированным хроническим цервицитом.

Практическая значимость

Полученные результаты позволили обосновать алгоритм дифференцированного подхода к ведению и лечению пациенток с ВПЧ-ассоциированным ХЦ с учетом результатов современных методов диагностики (жидкостной цитологии, ВПЧ-генотипирования, расширенной колъпоскопии, исследования транскрипционного профиля генов *CDKN2A/p16, IL10, IL1β, TNFα, CD68* и бисульфитного секвенирования гена *WIF1*), позволяющих определить объем и сроки проведения диагностических и лечебных мероприятий, персонализировать подход к ведению пациенток в

неоднозначных клинических ситуациях и избежать необоснованные воздействия на шейку матки, особенно у не реализовавших репродуктивную функцию молодых женщин.

Определен статус метилирования гена *WIF1* в качестве неинвазивного маркера в диагностике ВПЧ-ассоциированного ХЦ, позволяющий прогнозировать развитие предрака и рака шейки матки.

На основании полученных данных для практикующих врачей разработан алгоритм ведения пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с ВПЧ на основании комплексного обследования с применением клинико-лабораторных методов исследования с акцентом на молекулярно-генетические маркеры воспалительного процесса шейки матки.

Оценка содержания работы

Диссертационная работа Амирханян А.С. построена по традиционно, состоит из введения, обзора литературы, характеристики материала и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов исследования, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, который содержит 82 источников отечественной и 126 – зарубежной литературы. Материал диссертации изложен на 175 страницах компьютерного текста, иллюстрирован 28 рисунками, включает 31 таблицу. Рисунки и таблицы достаточно информативны. Работа выполнена на достаточном объеме выборки, в связи с чем статистическая достоверность полученных автором результатов не вызывает сомнений.

Автором четко и конкретно сформулированы цель и задачи работы.

В первой главе раскрыта актуальность выбранной темы, научная и практическая значимость исследования. В обзоре литературы автор отразил все основные положения, касающиеся клиники и диагностики ВПЧ ассоциированного хронического цервицита. Большое внимание в диссертационной работе удалено изучению современных неинвазивных методов диагностики: метилирования генов и определения особенностей транскрипционного (мРНК) профиля функциональных генов человека.

Четко представлены использованные в работе методы исследования, с подробным описанием специальных методов исследования состояния шейки матки (определение экспрессии 21 мРНК гена человека и бисульфитное секвенирование гена WIF1). Выборка пациенток и материал исследования достаточны для проведения статистического анализа и получения значимых достоверных результатов. Использованные в диссертации методы статистической обработки полученных результатов являются современными. В целом хорошо представлен дизайн исследования.

Приводя результаты собственных исследований, диссертант отразил результаты обследования пациенток. Согласно поставленным задачам определены выявляемость хронического цервицита, ассоцииированного с ПВИ (по обращаемости), распространенность различных типов ВПЧ, особенности микробиоты влагалища женщин с ВПЧ-ассоциированным хроническим цервицитом. Диссертантом убедительно показано, что хронический цервицит сопровождается троекратным повышением уровня представленности мРНК генов IFNAR1, IL1B, TNFA, TLR4, CD68, TGFB1 и MMP9, что может рассматриваться в качестве диагностического маркера хронического воспаления. Также автору удалось выявить достоверное повышение уровня представленности иммуносупрессорного IL10, приводящего к подавлению местного иммунитета, и как следствие, дисбалансу нормальной и условно-патогенной флоры. Впервые автором исследован статус метилирования гена WIF1. Внимание привлекает тот факт, что оценка статуса метилирования гена WIF1 может рассматриваться его в качестве потенциального диагностического и прогностического маркер у пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с ВПЧ.

Результаты исследования полностью отражены в выводах и практических рекомендациях. На основании полученных результатов исследования разработан алгоритм ведения пациенток с ВПЧ-ассоциированным хроническим цервицитом и представлены практические

рекомендации, вытекающие из полученных данных. Алгоритм ведения пациенток включает в себя комплекс современных, высокоэффективных, неинвазивных методов диагностики и прогнозирования развития ВПЧ ассоциированного хронического цервицита на основании выделенных эпигенетических маркеров.

Сформулированные в диссертации положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации научно обоснованы, вытекают из результатов проведенного исследования и могут быть использованы в работе научных и лечебных учреждений здравоохранения.

Автореферат отражает содержание выполненной работы. Выводы и практические рекомендации сформулированы четко, соответствуют поставленным задачам и фактическим данным, полученным в результате выполненной диссертационной работы.

Работа написана хорошим литературным языком.

Принципиальных замечаний к диссертации нет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Амирханян Армине Самвеловны на тему «Особенности диагностики и тактики ведения пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с папилломавирусной инфекцией», является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований сформулированы и обоснованы научные положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение одной из актуальных задач акушерства и гинекологии – разработку и внедрение тактики ведения пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с папилломавирусной инфекцией у женщин репродуктивного возраста на основании анализа результатов клинических, кольпоскопических, морфологических и молекулярно-генетических методов исследования.

Диссертационная работа Амирханян Армине Самвеловны соответствует критериям п. 9, установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской

Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.00.01 – акушерство и гинекология

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой акушерства и
гинекологии
ФГБОУ ВО «Московский
государственный
медицинско-стоматологический университет
им. А.И. Евдокимова»,
доктор медицинских наук, профессор



Подпись профессора И.Б. Манухина удостоверяю:

Ученый секретарь Ученого совета ФГБОУ ВО
«МГМСУ им. А.И. Евдокимова»
доктор медицинских наук, профессор

Васюк Ю.А.

«21» февраля 2020 г.