ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Мингалевой Наталии Вячеславовны 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

Проблеме хронических цервицитов, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией, которые занимают лидирующие позиции в структуре патологии шейки матки (15-40%) уделяется в настоящее время большое внимание, т.к. в ряде случаев именно эти состояния являются фоном и предиктором развития предрака и рака шейки матки. Высокий процент выявления ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР) среди женщин с хроническим цервицитом (ХЦ), вызывает особый интерес исследователей, так как присутствие вируса является угрозой генетической стабильности и, согласно результатам ряда исследований, увеличивает вероятность возникновения трансформированных клеток. Поэтому на сегодняшний день представляется актуальным поиск эффективных методов диагностики и главное прогнозирования течения заболевания путем определения молекулярно-генетических маркеров ВПЧ-ассоциированного хронического цервицита.

Рядом авторов показано, что хроническое воспаление ШМ приводит к пролиферации и нарушению дифференцировки клеток многослойного плоского эпителия и сопровождается изменениями профиля про- и противовоспалительных цитокинов. Определение их уровня даст дополнительную характеристику имеющегося воспалительного процесса и

позволит прогнозировать дальнейшее течение заболевания. Проведение комплексного обследования пациенток, с внедрением в клиническую практику новых высокоэффективных неинвазивных методов диагностики наряду с традиционными методами исследования, позволит усовершенствовать тактику ведения пациенток с ХЦ ассоциированным с ВПЧ у женщин в репродуктивном возрасте и избежать необоснованных, зачастую агрессивных хирургических воздействий у молодых женщин.

Обоснование и достоверность полученных результатов

Обследование достаточного количества пациенток (n=202), включенных в исследование с применением современных методов диагностики, соответствующих поставленной цели и задачам исследования, подтверждает достоверность результатов исследования. Методология и методы проведенной работы соответствует основным требованиям к научному исследованию.

В продольное проспективное исследование, предусматривающее наблюдение естественного развития заболевания в динамике с повторным клинико-лабораторным обследованием пациенток были включены 202 женщины, обратившиеся на амбулаторно-поликлинический прием с целью диагностики и лечения патологии шейки матки. В зависимости от результатов обследования, включая жидкостную цитологию и/или гистологический метод исследования, ВПЧ-генотипирование автором сформированы 2 группы женщин, каждая их которых разделены на 2 подгруппы. Первую группу составили 108 пациенток с ХЦ: 1а подгруппа – 52 женщины с ВПЧ-позитивным тестом, 1б – 56 пациенток с ВПЧ-негативным тестом; вторая группа включала 94 пациентки без признаков ХЦ: 2а подгруппа 44 женщины с ВПЧ-позитивным тестом, 2б – 50 пациенток с ВПЧ-негативным тестом (контрольная подгруппа). Анализ полученных результатов проведен с применением статистических методов обработки. Выводы и практические рекомендации, вытекающие из результатов исследования, подтверждают положения, выносимые на защиту.

Научная новизна

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 кольпоскопические, 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, TNFα, 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 эпидермального 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

На основании полученных данных предложена усовершенствованная диагностика и тактика ведения пациенток с ВПЧ-ассоциированным ХЦ с учетом результатов современных методов диагностики (жидкостной цитологии, ВПЧ-генотипирования, расширенной кольпоскопии, 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 необоснованных воздействий на шейку матки, особенно у нереализовавших репродуктивную функцию молодых женщин.

В работе определен статус метилирования гена *WIF1* в качестве неинвазивного маркера в диагностике ВПЧ-ассоциированного ХЦ, который позволяет прогнозировать развитие предрака и рака шейки матки у этой группы пациенток.

Автором разработан и предложен алгоритм ведения пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с ВПЧ, на основании комплексного обследования, с применением клинико-лабораторных методов исследования и акцентом на молекулярно-генетические маркеры воспалительного процесса шейки матки.

Оценка содержания работы

Диссертационная работа Амирханян А.С. построена по традиционному плану: содержит 4 главы – включая введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов, а также выводы и практические рекомендации, списка сокращения и списка литературы. Работа написана грамотным литературным языком, традиционно, изложена на 175 страницах, иллюстрирована 28 рисунками, включает 31 таблицу. Работа выполнена на достаточном объеме выборки, в связи с чем статистическая достоверность полученных автором результатов не вызывает сомнений.

Введение отображает актуальность темы, из которой вытекает цель исследования. Цель данной работы - усовершенствование тактики ведения пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с ПВИ у женщин репродуктивного возраста, на основании анализа клинических,

кольпоскопических, морфологических, молекулярно-генетических результатов обследования пациенток.

В первой главе раскрыта актуальность выбранной темы, научная и практическая значимость исследования. Обращает на себя внимание обзор литературы, с использованием отечественных и зарубежных литературных источников, посвященных современному взгляду на проблему ВПЧ-ассоциированного хронического цервицита. Проведен подробный анализ результатов исследований последних лет, на основе которых выводятся цель и задачи исследования, их актуальность в настоящий момент. Большое внимание в диссертационной работе уделено изучению современных неинвазивных методов диагностики: метилирования генов и определения особенностей транскрипционного (мРНК) профиля функциональных генов человека.

В главе, посвященной материалам и методам исследования, автором обосновано использование современных методов исследования в соответствие поставленным целям и задачам. 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 дизайн исследования хорошо представлен.

Результатам собственных исследований посвящена третья глава диссертационной работы, в которой согласно поставленным задачам определены выявляемость хронического цервицита, ассоциированного 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

характеристики имеющегося 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 при данной патологии. Внимание привлекает тот факт, что оценка статуса метилирования гена WIF1 может рассматриваться в качестве потенциального диагностического и прогностического маркера у пациенток с хроническим цервицитом, ассоциированным с ВПЧ.

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.

Во всех фрагментах работы корректно проведен логический анализ фактического материала, сделаны обоснованные и исчерпывающие заключения.

Выводы работы не вызывают сомнений.

Материалы диссертации прошли широкую апробацию на научно-практических конференциях, в том числе и с международным участием, что позволило ознакомиться с ними большому кругу практических врачей и научных работников.

Положения диссертации полно отражены в 9 научных работах, из которых 6 – в рецензируемых научных изданиях ВАК.

Объем исследований, и качественная обработка материала дают основание считать полученные результаты достоверными.

Работа имеет завершенный характер, поскольку представленные в ней задачи выполнены, заключения и полученные результаты обсуждены и сопоставимы с литературными данными, научные положения и выводы диссертации вытекают из результатов проведенных исследований и полностью им соответствуют.

Принципиальных замечаний по работе нет. Оценивая в целом диссертационную работу положительно, хотелось бы задать диссертанту следующие вопросы:

1. В работе изучена экспрессия 21 гена мРНК. Чем Вы руководствовались при выборе такого большого количества мРНК?
2. Какую практическую значимость несет предложенная Модель оценки степени выраженности воспалительного процесса у пациенток с хроническим цервицитом в сочетании с ВПЧ ВКР с точки зрения выбора алгоритма ведения?

Следует отметить, что вопросы не касаются основных положений диссертации, а вызваны теоретическим и практическим интересом к проблеме исследованной в работе, и ни коим образом не снижают ценности полученных результатов и положительной оценки.

Цель исследования диссертационной работы достигнута. Имеющиеся практические рекомендации основаны на выводах и могут быть внедрены в клиническую практику.

Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации, построен по традиционному плану, замечаний по его содержанию и оформлению 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 содержится решение актуальной научной задачи - усовершенствовать тактику 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, имеющей существенное значение в гинекологии. Научная новизна, достоверность и объективность материалов исследования, теоретическая и практическая значимость полученных результатов позволяют считать, что диссертационная работа Амирханян Армине Самвеловны соответствует критериям, установленным пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. №842 (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748), предъявляемым к искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, профессор кафедры акушерства и гинекологии и перинатологии ФПК и ППС
г. Краснодар, ул. Митрофана Седина д.4
доктор медицинских наук, профессор Мингалева Наталия Вячеславовна

Подпись доктора медицинских наук, профессора Мингалевой Н.В. «заверяю»:
Ученый секретарь Ученого совета

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России
доктор философских наук, профессор Ковелина Т.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Юридический адрес: 350063, г. Краснодар, ул. им. М. Седина, 4
Официальный сайт организации: http://ksma.ru
Телефон: 8 (861) 268-36-84
E-mail: corpus@ksma.ru

24 февраля 2020 год