

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Минкиной Галины Николаевны на диссертационную работу Черновой Виктории Федоровны на тему: «Клинико-морфологические и молекулярные критерии ВПЧ - ассоциированных заболеваний шейки матки у женщин различного возраста», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.

### **Актуальность исследования**

Плоскоклеточные интраэпителиальные поражения (SIL) шейки матки занимают лидирующие позиции в структуре заболеваний шейки матки и составляют 17-20%. Эпидемиологические и экспериментальные данные достоверно доказывают ключевую роль вируса папилломы человека (ВПЧ) в патогенезе SIL и рака шейки матки (РШМ).

За последнее десятилетие распространенность папилломавирусной инфекции (ПВИ) гениталий в мире возросла в более чем 10 раз, и выявляется у 13% населения. К наиболее онкогенным вирусам относят 5 генотипов ВПЧ (16, 18, 31, 33, 45), по данным различных авторов, они вызывают до 82% рака шейки матки.

Рак шейки матки представляет собой не только медицинскую, но и социально-экономическую проблему современности занимая первое место в структуре преждевременной смертности женщин репродуктивного возраста в развивающихся странах и второе место после рака молочной железы в мировой популяции. Значительный рост онкологической заболеваемости шейки матки и тенденция к омоложению заболевания являются весьма тревожным фактом, так как данный контингент женщин составляет репродуктивную часть населения и активную часть социального общества. Ранняя диагностика SIL является важным этапом профилактики РШМ. Диагностика SIL и РШМ затруднена в связи с разной чувствительностью и специфичностью используемых традиционных методов. На сегодняшний

день нет ни одного эффективного персонифицированного метода диагностики, способного прогнозировать течение SIL у конкретной пациентки с четким указанием времени и длительности процесса.

Открытие механизмов взаимодействия между геномом соматической клетки и ВПЧ расширило наши представления о канцерогенезе шейки матки и предоставило новые возможности в области молекулярной диагностики предрака и рака шейки матки, основанных на молекулярно-генетических технологиях, способных не только выявить, но и прогнозировать цервикальные поражения, ассоциированные с ВПЧ. Поиск новых биомаркеров, позволяющих на молекулярно-эпигенетическом уровне подойти не только к диагностике, но и к прогнозированию SIL и РШМ, в настоящее время остается весьма актуальным.

Таким образом, актуальность диссертационной работы Черновой Виктории Федоровны не вызывает сомнений и исследование, посвященное совершенствованию ранней диагностики заболеваний шейки матки, ассоциированных с ПВИ, с учетом молекулярно-генетических и эпигенетических особенностей, является крайне актуальной научно-практической задачей исследования.

### **Обоснованность и достоверность полученных данных**

Объем исследования представляется достаточным для получения статистически значимых данных, а методологическая часть соответствует основным требованиям к научному исследованию. В работе представлены результаты обследования 220 женщин, обратившихся в научно-поликлиническое отделение ФБГУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Четко определены критерии включения и исключения из исследования. При выполнении работы были использованы современные высокоинформационные методы исследования, а статистическая обработка полученных данных обеспечила точность и достоверность вытекающих

результатов исследования и выводов. Выводы и практические рекомендации соответствуют материалам, представленным в диссертации.

### **Научная новизна**

Изучены генотипы вируса папилломы человека (ВПЧ), его распространенность и вирусная нагрузка среди пациенток в возрасте до 30 лет и старше с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями (SIL) шейки матки. На основании проведенного исследования показано отсутствие различий по выявленным генотипам ВПЧ, установлено, что вирусная нагрузка и частота выявления ВПЧ 16, 33, 31 и 18 генотипов коррелирует со степенью тяжести цервикальных поражений, вне зависимости от возраста пациенток. Впервые в России исследован статус метилирования гена WIF 1 у пациенток с SIL и плоскоклеточным раком шейки матки (SCC), установлена корреляционная связь между уровнем аномального метилирования гена WIF1 и степенью тяжести SIL и SCC. Изучена экспрессия микроРНК (miR-92a, miR-22, miR-25) у пациенток с SIL и SCC, выявленные изменения в профилях экспрессии miR-92a и miR-22 позволяют дифференцировать SIL и рак шейки матки. По результатам исследования усовершенствован алгоритм ранней диагностики SIL и SCC с использованием новых неинвазивных маркеров.

### **Практическая значимость**

Проведенное исследование доказало необходимость включения в алгоритм ранней диагностики SIL и SCC комплекса неинвазивных методов (жидкостная цитология, ВПЧ – генотипирование, p16ink4a/Ki67). Для верификации степени тяжести SIL в качестве неинвазивного маркера предложен показатель уровня аномального гена WIF1. С целью выявления плоскоклеточных интраэпителиальных поражений с высоким злокачественным потенциалом (HSIL) и плоскоклеточного рака шейки

матки, в качестве дополнительных диагностических маркеров рекомендовано определение уровня экспрессии miR-92a и miR-22.

Апробация работы и внедрение ее результатов в практику отвечают требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Основные положения и выводы внедрены в практическую деятельность научно-поликлинического отделения ФБГУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова»

По теме диссертации опубликовано 12 работ, 7 из которых в изданиях, рецензируемых ВАК.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертация Черновой В.Ф. написана традиционным образом, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы собственных исследований и обсуждения полученных результатов, выводов, рекомендаций для внедрения в практику здравоохранения, списка литературы. Материал диссертации изложен на 145 страницах машинописного текста. Рисунки и таблицы являются информативным иллюстративным материалом.

В первой главе отображена актуальность выбранной темы, из которой вытекает цель работы. Задачи исследования раскрывают поставленную цель. Научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту, внедрение результатов и апробация научной работы четко отражены, в полной мере соответствуют требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Вторая глава работы посвящена подробному описанию программы обследования пациенток. Материал исследования достаточен. Детально описаны использованные в работе методы исследования: общеклинические, морфологические, молекулярно-генетические, иммуноцитохимические, бисульфитное секвенирование. Особое внимание уделено описанию методов статистической обработки данных. Все это позволило автору поэтапно обосновать результаты исследования и конкретизировать их в виде положений, выносимых на защиту.

Третья глава посвящена описанию анамнеза пациенток, анализу их клинических данных, результатов обследования. Автором определены наиболее распространенные генотипы ВПЧ среди женщин с цитологическим заключением SIL в возрасте до 30 лет и старше. Оценивалась связь между выявленными генотипами и показателем средней вирусной нагрузки ВПЧ с тяжестью цервикальных поражений. Проведен сравнительный анализ результатов цитологического исследования и расширенной кольпоскопии у пациенток с SIL. Изучена диагностическая чувствительность и специфичность комплекса неинвазивных методов (жидкостная цитология, ВПЧ - тест, p16ink4a/Ki67) и новых неинвазивных молекулярно-генетических (miR-22, miR-25, miR-92a) и эпигенетических маркеров (ген метилирования WIF1) для ранней диагностики SIL и рака шейки матки. Проведен сравнительный анализ результатов диагностических методов при патологии шейки матки, ассоциированной с вирусом папилломы человека.

В четвертой главе проведено обобщение полученных результатов. На основании полученных результатов объяснена важность проведения ВПЧ генотипирования (21 тип) с определением вирусной нагрузки методом ПЦР в режиме реального времени, а также расширенной кольпоскопии женщинам с цитологическим заключением SIL, вне зависимости от возраста.

Обосновано комплексное использование методов (жидкостная цитология, двойное окрашивание p16ink4a/Ki67, ВПЧ – тестирование) для ранней диагностики ВПЧ – ассоциированных заболеваний шейки матки.

В диссертационной работе у пациенток с SIL и SCC выявлены достоверные изменения экспрессии микроРНК (miR-22 и miR-92a) и аномальное метилирование промоторной области гена WIF1, что дает возможность использовать их в качестве дополнительных маркеров для неинвазивной диагностики заболеваний шейки матки ассоциированных с ВПЧ.

Заключение обобщает полученные данные, которые сопоставимы с выводами других проведенных исследований, посвященных данной тематике.

Итогом диссертационной работы Черновой В.Ф. стала разработка алгоритма ранней диагностики плоскоклеточных интраэпителиальных поражений и рака шейки матки на основе неинвазивных молекулярно-генетических и эпигенетических маркеров.

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения. Сделанные выводы в полной мере соответствуют задачам исследования и полученным результатам.

Работа написана хорошим литературным языком.

Принципиальных замечаний по оппонируемой диссертации нет.

### **Заключение**

Основные результаты исследования, проведенного Черновой Викторией Федоровной, имеют значение для практического здравоохранения. Внедрение сформулированных автором практических рекомендаций в систему здравоохранения позволит улучшить раннюю диагностику пациенток с ВПЧ - ассоциированными заболеваниями шейки матки.

Диссертационная работа Черновой Виктории Федоровны является научно-квалификационным исследованием, содержит решение актуальной задачи – снижение вероятности развития РШМ путем ранней диагностики плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки с использованием новых неинвазивных молекулярно-генетических маркеров.

Диссертационная работа Черновой Виктории Федоровны соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения 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 №335, от

02.08.2016 г. №748), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.

## **Официальный оппонент:**

Профессор кафедры акушерства и гинекологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук

127473, г. Москва,  
ул. Делегатская, д. 20, стр. 1  
Тел.: 8 (495) 609-67-00

**Подпись д.м.н., профессора Минкиной Г.Н. «заверяю»:**

Ученый секретарь  
Федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Московский государственный  
медицинско-стоматологический университет  
имени А.И. Евдокимова»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации,  
доктор медицинских наук, профессор

