

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Зароченцевой Нины Викторовны 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

Рак шейки матки (РШМ) является одной из наиболее серьезных медицинских и социальных проблем женского репродуктивного здоровья. По данным литературы треть случаев РШМ, приходится на женщин, регулярно проходивших скрининговое обследование.

В Российской Федерации (РФ) РШМ занимает 2-е место по распространенности среди злокачественных новообразований у женщин в возрасте до 45 лет. Важно отметить, прирост заболеваемости среди молодых женщин в возрастной группе до 29 лет, который за 10 лет составил 150%. По данным официальной государственной статистики в 2017 году в РФ выявлено 17 587 новых случаев рака шейки матки, средний прирост заболевания составил 25,81%, смертность - 6 480 женщин.

Последнее десятилетие ознаменовалось прогрессом в области изучения инфекционных и онкологических заболеваний. Доказана индуцирующая роль вируса папилломы человека (ВПЧ) в патогенезе плоскоклеточных интраэпителиальных поражений (SIL) и рака шейки матки. Пик инфицированности ВПЧ по данным литературы приходится на возраст 15 - 30 лет, после 30 лет инфицированность ВПЧ снижается, в то время как частота выявление SIL и рака шейки матки увеличивается. Доказано, что через 3 года после инфицирования ВПЧ и его персистенции плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени (HSIL) развивается у 27% женщин, малигнизация наблюдается в 5-12% случаях. По данным

литературы, к концу XX-го столетия было выявлено более 30 миллионов женщин с поражениями шейки матки низкого риска и более 10 миллионов высокого риска. В РФ плоскоклеточные интраэпителиальные поражения шейки матки в структуре гинекологической заболеваемости у женщин репродуктивного возраста варьируют от 10,7% до 38,8%. Учитывая факт возможной онкотрансформации плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки, распространенность рака шейки матки, ранняя диагностика плоскоклеточных интраэпителиальных поражений на сегодняшний день является значимой и актуальной проблемой.

Несмотря на достигнутые успехи в диагностике заболеваний шейки матки, ассоциированных с ВПЧ, риск прогрессирования SIL шейки матки остается достаточно высоким. Рациональность используемых методов неоднозначна в связи с их разной чувствительностью и специфичностью. Используемые традиционные методы диагностики (ВПЧ - тест, цитологическое исследование (test – Papanicolaу)), часто повышают необоснованные воздействия на шейку матки, приводящие к различным осложнениям. Отсутствие универсально доступных и высокоэффективных методов диагностики, требует внедрения новых эффективных молекулярных онкомаркеров, способных не только выявить, но и прогнозировать течение SIL у каждой пациентки с указанием времени и длительности процесса.

В настоящее время предпринимаются попытки поиска маркеров, прогнозирующих развитие и прогрессирование неопластической трансформации эпителия шейки матки. Наибольший интерес представляет изучение комплекса молекулярно-генетических маркеров, в частности, генотипирование с определением 21 типа ВПЧ и вирусной нагрузки, изучение экспрессии различных онкобелков (*p16ink4a/Ki67*), изменение экспрессии микроРНК, гиперметилирование генов. Все это обосновывает необходимость выполнения настоящего исследования.

Таким образом, работа Черновой Виктории Федоровны, посвященная совершенствованию ранней диагностики плоскоклеточных

интраэпителиальных поражений шейки матки на основе комплексного изучения клинико-морфологических, иммуноцитохимических, молекулярно-генетических и эпигенетических маркеров, представляется актуальной. Своевременное выявление и лечение патологии шейки матки, обусловленной ВПЧ, сохраняет репродуктивное здоровье женщин и повышает качество жизни. Отчетливо сформулирована цель, задачи соответствуют поставленной цели.

Обоснованность и достоверность полученных данных

Клинико-лабораторные исследования представлены в достаточном объеме для решения поставленных задач и получения статистически значимых данных. 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. Примененные в ходе работы методы исследования современные и высокоинформативные. Статистическая обработка полученных данных обеспечила точность и достоверность вытекающих результатов исследования. Выводы и практические рекомендации отражают фактический материал, изложенный в диссертации.

Научная новизна

Изучены генотипы вируса папилломы человека, вирусная нагрузка и частота их встречаемости среди пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями шейки матки в возрасте до 30 лет и старше. Автором, показано отсутствие достоверных различий по выявленным генотипам ВПЧ, установлено, что вирусная нагрузка и частота выявления ВПЧ 16, 33, 31 и 18 генотипов коррелируют со степенью тяжести цервикальных поражений вне зависимости от возраста пациентки. Впервые исследован статус метилирования гена WIF 1 и экспрессия микроРНК (miR-92a, miR-22, miR-25) у пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями и плоскоклеточным раком шейки матки и определена

корреляционная связь между уровнем метилирования гена WIF1, экспрессией микроРНК с тяжестью цервикальных поражений шейки матки. Определена чувствительность и специфичность комплекса методов диагностики (p16ink4a/Ki67, ВПЧ-тест, жидкостная цитология), а также новых неинвазивных маркеров (метилирование гена WIF1, экспрессия miR-92a, miR-22, miR-25) для ранней диагностики SIL и плоскоклеточного рака шейки матки.

Практическая значимость

Для ранней диагностики поражений шейки матки ассоциированных с вирусом папилломы человека на основании проведенного исследования обоснована целесообразность включения комплекса современных неинвазивных методов (жидкостная цитология, ВПЧ – генотипирование методом ПЦР – РВ, ИЦХ с двойной окраской – p16ink4a/Ki67) в алгоритм обследования женщин различного возраста. Для дифференциальной диагностики доброкачественных заболеваний шейки матки (гиперпластических, метапластических процессов) и SIL рекомендован имуноцитохимический метод с определением коэкспрессии онкобелков p16ink4a и Ki67. Предложен в качестве неинвазивного маркера ранней диагностики и прогнозирования SIL и плоскоклеточного рака шейки матки показатель аномального метилирования гена WIF1 и показатель экспрессии miR-22 и miR-92a.

На основании полученных результатов усовершенствован алгоритм комплексной ранней диагностики плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки, с использованием предложенных новых высокоинформативных неинвазивных маркеров.

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. Рисунки и таблицы информативны.

Введение посвящено описанию актуальности темы, из которой лаконично вытекает цель работы. Задачи исследования отражают 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.

Автором проведен тщательный анализ отечественных и зарубежных литературных источников касающихся современных представлений о распространенности ВПЧ и его роли в развитии SIL и РШМ, факторах риска развития SIL и РШМ, о современных методах диагностики ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки. Использовано 237 литературных источников, из которых 62 отечественных и 165 иностранных. В работе подробно отражены все аспекты предраковых заболеваний шейки матки, обусловленных ВПЧ.

В главе «Материалы и методы исследования» подробно представлен дизайн исследования, процесс формирования групп пациентов, описание критериев включения/исключения, приведен дизайн этапов исследования. Автором тщательно описана методика общепринятых клинико-лабораторных и специальных молекулярно-генетических методов исследования. Статистические методы обработки изложены в соответствии с требованиями современного анализа.

В главе «Результаты собственных исследований» представлена детальная характеристика полученных результатов, что свидетельствует о способности автора полно и логично представить полученный материал, подводя к главе «Обсуждение полученных результатов».

После проведения анализа полученных результатов, автором определены наиболее часто встречающиеся генотипы ВПЧ в когорте

российских женщин в возрасте до 30 лет и старше с SIL – 16, 33, 31 и 18. Изучена диагностическая и прогностическая значимость методов: жидкостной цитологии, ВПЧ - теста, экспрессии онкобелков p16ink4a/Ki67, а также диагностическая и прогностическая значимость новых неинвазивных молекулярно-генетических (miR-22, miR-25, miR-92a) и эпигенетических маркеров (ген метилирования WIF1) при плоскоклеточных интрапителиальных поражениях и раке шейки матки. Проведен корреляционный анализ полученных результатов.

В главе «Обсуждение полученных результатов» проведен сравнительный анализ полученных данных с данными зарубежных исследований, объяснена важность комплексного использования таких методов, как жидкостная цитология, двойное окрашивание p16ink4a/Ki67, ВПЧ – тестирование, для повышения эффективности ранней диагностики ВПЧ – ассоциированных заболеваний шейки матки. В диссертационной работе представлен алгоритм ранней диагностики пациенток с SIL и раком шейки матки с использованием комплекса неинвазивных молекулярно-генетических и эпигенетических маркеров. Отчетливо сформулированы выводы, практические рекомендации соответствуют поставленным задачам и фактическим данным, полученным в результате выполненной диссертации. Основные положения диссертационной работы нашли свое отражение в 12 научных работах, отражающих ее основное содержание, 7 из них в рецензируемых научных журналах.

Итогом диссертационной работы Черновой В.Ф. стало усовершенствование алгоритма ранней диагностики пациенток с ВПЧ – ассоциированными заболеваниями шейки матки с использованием новых молекулярно-генетических и эпигенетических маркеров.

Принципиальных замечаний по оппонируемой диссертации нет.

Заключение

Диссертационная работа Черновой Виктории Федоровны на тему: «Клинико-морфологические и молекулярные критерии ВПЧ –

ассоциированных заболеваний шейки матки у женщин различного возраста», является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором содержится решение актуальной задачи в акушерстве и гинекологии – разработать алгоритм ранней диагностики плоскоклеточных интраэпителиальных поражений шейки матки. Основные результаты исследования, проведенного Черновой Виктории Федоровной, имеют значение для практического здравоохранения.

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:

Ведущий научный сотрудник отделения
гинекологической эндокринологии
ГБУЗ МО "Московский областной
научно-исследовательский
институт акушерства и гинекологии",
доктор медицинских наук, профессор РАН

Зарочен

101000, г. Москва, ул. Покровка, д. 22а

Тел.: 8 (495) 624-50-12

Подпись д.м.н. Н.В. Зароченцевой «заверяю»:

Ученый секретарь
ГБУЗ МО «Московский областной
научно-исследовательский институт
акушерства и гинекологии»,
кандидат медицинских наук

