

## ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Минкиной Галины Николаевны на диссертационную работу Некрасовой Марии Евгеньевны на тему «Ранняя диагностика и прогнозирование течения предраковых заболеваний шейки матки, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией, методами молекулярно-генетического и липидомного анализа», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология**

### **Актуальность темы исследования**

Несмотря на сформированные в настоящее время четкие понятия об этиологии и патогенезе предраковых процессов и рака шейки матки (РШМ), а также внедренный в клиническую практику диагностический контроль, РШМ остается одной из самых острых и актуальных проблем в онкогинекологии и не имеет тенденции к снижению показателей заболеваемости и смертности. Прогноз течения заболевания при поражении эпителия шейки матки легкой степени и вопросы ведения данных пациенток, сложность дифференциальной диагностики CIN2 и высокая частота рецидивов после аблативных и эксцизионных методов лечения шейки матки, проблема неоправданных и, наоборот, недостаточно радикально проведенных хирургических вмешательств на шейке матки, в результате которых в дальнейшем нередко наблюдаются осложнения, в том числе акушерские и перинатальные (ИЦН, невынашивание беременности, преждевременные роды с рождением глубоко недоношенных маловесных детей и т.п.), делают актуальным поиск молекулярно-генетических, протеомных, метаболомных, липидомных маркеров неопластической трансформации эпителия шейки матки.

В настоящее время большой интерес для поиска новых биомаркеров предрака и рака органов репродуктивной системы представляет липидомика. На сегодняшний день известны перспективы изучения липидома методом

масс-спектрометрии в различных областях медицины, включая акушерство и гинекологию (преэклампсия, эндометриоз, миома матки) и онкологию (рак молочной железы, эндометрия, яичников). Однако изучение липидного состава пораженных тканей шейки матки при ВПЧ-ассоциированных заболеваниях различной степени тяжести, включая РШМ, в мире еще не проводилось. В связи с этим, диссертационная работа Некрасовой Марии Евгеньевны, посвященная липидному анализу пораженных тканей шейки матки методом масс-спектрометрии, является актуальной, “пионерской”, представляет большой научный и практический интерес. Цель исследования сформулирована четко, 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 110 женщин репродуктивного возраста, обратившихся в научно-поликлиническое отделение ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова». В зависимости от результатов гистологического исследования биоптатов шейки матки было сформировано 4 группы: I группа – хр. цервицит + ВПЧ ВР (n=30); II группа – LSIL (n=30); 3 группа – HSIL (n=30); IV группа – РШМ (n=20). Диссертантом четко определены критерии включения и исключения из исследования.

Автором проведено комплексное обследование пациенток: проанализированы результаты морфологических, молекулярно-генетических исследований (изучена частота встречаемости различных типов ВПЧ с оценкой вирусной нагрузки, а также уровень экспрессии мРНК генов по группам) и расширенной кольпоскопии. Методом масс-спектрометрии всем пациенткам с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями различной степени тяжести, включая РШМ, был проведен липидный анализ пораженных тканей шейки матки. Проведен корреляционный анализ

идентифицированных липидов в пораженных тканях шейки матки с гистологическим диагнозом и уровнем экспрессии мРНК генов, регулирующих клеточный цикл, пролиферацию, апоптоз, рецепторный аппарат.

Отдельно хочется отметить проведенный автором ретроспективный анализ отдаленных результатов аблативного и хирургического лечения 347 пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки с оценкой осложнений, влияющих на репродуктивную функцию. Автором впервые проведено одномоментное ВПЧ-тестирование и цитологическое исследование, представлены выводы и рекомендации по применению ВПЧ-теста наряду с цитологией у данной группы пациенток.

Примененные в ходе работы методы исследования являются современными и высокоинформативными. Статистическая обработка полученных данных обеспечила точность и достоверность полученных результатов исследования. Выводы и практические рекомендации отражают фактический материал, изложенный в диссертации.

### **Научная новизна**

Автором впервые в мире методом масс-спектрометрии проведен липидомный анализ пораженных тканей шейки матки при заболеваниях, ассоциированных с вирусом папилломы человека высокого канцерогенного риска, у пациенток репродуктивного возраста. В результате исследования липидного состава пораженных тканей шейки матки методом масс-спектрометрии идентифицированы три класса фосфолипидов - фосфатидилхолины, фосфатидилэтаноламины и плазмалогены, ассоциированные с неопластической трансформацией и малигнизацией эпителия шейки матки. Диссертант в ходе исследования доказал, что липидный состав тканей шейки матки при доброкачественных (хронический цервицит), предраковых (LSIL, HSIL) и злокачественных заболеваниях (РШМ) достоверно различается. Продемонстрирована высокая

чувствительность и специфичность метода масс-спектрометрии в дифференциальной диагностике предраковых поражений и рака шейки матки. В представленной работе автор делает акцент на высокий диагностический потенциал метода масс-спектрометрии - установлена положительная корреляция уровней липидов в пораженных тканях шейки матки и гистологического диагноза, позволяющая дифференцировать степень тяжести поражения эпителия (LSIL, HSIL, РШМ). Совместно с молекулярно-генетическими методами (определением уровней экспрессии мРНК генов) продемонстрирована прогностическая значимость масс-спектрометрии для раннего выявления группы риска по развитию HSIL и РШМ.

### **Практическая значимость**

В представленной работе автором оптимизирован алгоритм ведения пациенток с плоскоклеточными интраэпителиальными поражениями легкой степени (LSIL) на основе изучения клинических, морфологических, молекулярно-генетических методов и липидного анализа пораженных тканей шейки матки методом масс-спектрометрии, что в дальнейшем поможет снизить число неоправданных, чрезмерно радикальных хирургических вмешательств на шейке матки, особенно у молодых пациенток, не реализовавших репродуктивную функцию.

Для точной верификации степени тяжести поражения эпителия шейки матки диссертантом доказана целесообразность применения в клинической практике панели липидов-маркеров, идентифицированных методом масс-спектрометрии, в качестве дополнительного исследования у пациенток с гистологическим диагнозом CIN1-2 / CIN2-3.

Внедрение разработанного автором малоинвазивного подхода к раннему выявлению ВПЧ-ассоциированных предраковых заболеваний и РШМ и точной дифференциальной диагностике степени тяжести поражения эпителия будет способствовать предупреждению развития злокачественных

процессов шейки матки, сохранению репродуктивной функции и повышению качества жизни женщин.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертационная работа Некрасовой М.Е. написана в традиционном стиле, соответствует предъявляемым требованиям и состоит из введения, 4-х глав (обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения), выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка использованной литературы. Диссертация написана грамотным литературным языком. Работа изложена на 130 страницах, иллюстрирована 13 таблицами, 41 рисунком, включает 5 приложений. Библиографический указатель содержит 98 источников. Работа выполнена на достаточном объеме выборки, в связи с чем не вызывает сомнений статистическая достоверность полученных автором результатов.

*Введение* раскрывает актуальность выбранной темы, из которой вытекает цель работы. Сформулированные диссертантом задачи исследования полностью отображают поставленную цель. Научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту, внедрение результатов, апробация научной работы и личный вклад автора ясно обозначены и в полной мере соответствуют требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

*Первая глава (обзор литературы)* написана на высоком научном уровне с использованием большого количества новейших литературных источников, преимущественно зарубежных. В обзоре автор раскрывает современные тенденции в диагностике ВПЧ-ассоциированных заболеваний аногенитальной области. Также в первой главе диссертант делает акцент на проблеме скрининга РШМ. Липидомика рассмотрена автором в аспекте ее перспективного применения в клинической практике в различных областях медицины, в первую очередь, в акушерстве и гинекологии, онкологии, продемонстрирована ее научная и клиническая значимость.

Во *второй главе* автор представил общую программу и объем обследования пациенток. Материал исследования достаточен. Диссертантом были использованы современные методы исследования: клинические, молекулярно-биологические, морфологические, расширенная кольпоскопия, и специальные – липидомный анализ пораженных тканей шейки матки методом масс-спектрометрии с электрораспылительной ионизацией и определение уровня экспрессии мРНК генов p16, Ki67, PGR, BCL2. Все вышеперечисленное позволило автору грамотно обосновать результаты исследования и представить их в виде положений, выносимых на защиту.

В *третьей главе* изложены результаты собственных исследований. Автором был проведен тщательный анализ клинико-анамнестических данных обследуемых пациенток. Согласно критериям включения и исключения, в одномоментное проспективное когортное исследование было набрано 110 пациенток. В зависимости от результатов гистологического диагноза было сформировано 4 группы: хронический цервицит в сочетании с ВПЧ-инфекцией (n=30), LSIL (n=30), HSIL (n=30) и РШМ (n=20). Диссертантом при помощи масс-спектрометрии изучен липидом тканей шейки матки у женщин с ВПЧ-ассоциированными поражениями различной степени тяжести и раком шейки матки в сравнительном аспекте. Выявленные липиды автор сравнивал с липидами-онкомаркерами, представленными в Lipid Maps и Human Metabolome Database. Для малоинвазивной диагностики HSIL и РШМ, прогнозирования течения LSIL (CIN1) диссертантом предложена панель глицерофосфолипидов, состоящая из фосфатидилхолинов, фосфатидилэтаноламинов и плазмалогенов. В представленной работе автор доказал, что липидомный анализ пораженных тканей шейки матки методом масс-спектрометрии может быть использован в качестве дополнения к морфологическим методам исследования, что имеет важное практическое значение. Следует особо отметить, что на основании полученных данных диссертантом представлены математические модели для ранней и дифференциальной диагностики ВПЧ-ассоциированных

заболеваний шейки матки. Данные модели подтверждают высокий диагностический потенциал масс-спектрометрии и демонстрируют перспективы ее применения в практической гинекологии. Кроме того, автором проанализирована встречаемость типов ВПЧ при поражениях шейки матки различной степени тяжести с оценкой вирусной нагрузки и уровня экспрессии мРНК генов, проведен корреляционный анализ масс-спектрометрических показателей (липидома) с гистологическим диагнозом, демонстрирующий высокую диагностическую значимость масс-спектрометрии при заболеваниях шейки матки, ассоциированных с ВПЧ ВР.

В ходе проведенного автором ретроспективного анализа были представлены результаты, свидетельствующие о высокой частоте встречаемости ВПЧ ВР (48%) и аномальной цитологии (27%) у женщин, перенесших в анамнезе хирургическое лечение шейки матки по поводу ВПЧ-ассоциированных заболеваний. Для выявления групп риска по развитию рецидивов HSIL и РШМ диссертант отмечает целесообразность использования ВПЧ-тестирования в качестве дополнения к ежегодному цитологическому скринингу у пациенток, перенесших хирургическое лечение шейки матки.

Анализ результатов исследования проведен с применением современных статистических методов. Для каждого параметра применены наиболее подходящие статистические методы обработки, позволяющие с высокой степенью точности описать полученные закономерности. Все это позволило автору поэтапно обосновать результаты исследования и конкретизировать их в виде выводов и научно обоснованных концептуальных рекомендаций. Полученные автором результаты статистически достоверны, выводы обоснованы.

В *обсуждении* подробно рассмотрены с позиции клинициста и сопоставлены с результатами других авторов полученные данные собственного исследования. Глава изложена в дискуссионном плане со ссылками на новейшие литературные источники.

Представленные в диссертационной работе данные помогут повысить эффективность ранней и дифференциальной диагностики ВПЧ-ассоциированных заболеваний шейки матки у женщин репродуктивного возраста, а также снизить число неоправданных хирургических вмешательств на шейке матки у молодых пациенток, и, тем самым, сохранить репродуктивное здоровье женщин.

В заключительной части работы представлены выводы и практические рекомендации, которые в полной мере соответствуют теме и содержанию диссертации. Заключение обобщает полученные данные, которые являются сопоставимыми с выводами других проведенных исследований по данной тематике. Итогом диссертационной работы Некрасовой М.Е. стала оптимизация алгоритма ведения пациенток с ВПЧ-ассоциированными заболеваниями шейки матки различной степени тяжести на основании использования малоинвазивных методов диагностики для раннего выявления HSIL и РШМ.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации. Принципиальных замечаний к диссертации нет.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертация Некрасовой Марии Евгеньевны на тему «Ранняя диагностика и прогнозирование течения предраковых заболеваний шейки матки, ассоциированных с папилломавирусной инфекцией, методами молекулярно-генетического и липидомного анализа» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение актуальной научной задачи акушерства и гинекологии – разработки лечебно-диагностических и профилактических подходов к ведению пациенток с ВПЧ-ассоциированными поражениями шейки матки в аспекте ранней диагностики предрака и рака.

Научная новизна, достоверность и объективность материалов исследования, теоретическая и практическая значимость полученных результатов позволяют считать, что диссертационная работа Некрасовой Марии Евгеньевны полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения 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, от 01.10.2018 г. №1168), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.

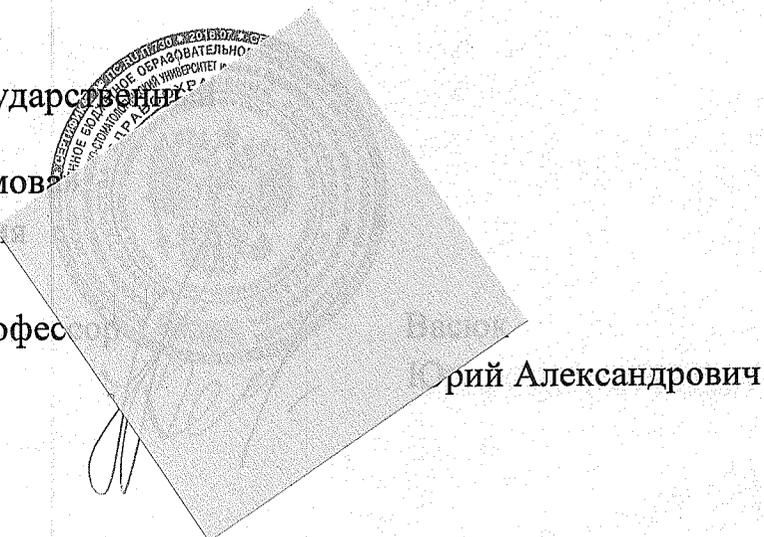
Профессор кафедры акушерства и гинекологии  
лечебного факультета ФГБОУ ВО «Московский  
государственный медико-стоматологический  
университет им. А.И. Евдокимова»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации,  
доктор медицинских наук, профессор



127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр.1.  
Тел.: +7 (495) 609-67-00  
e-mail: msmsu@msmsu.ru

Подпись доктора медицинских наук Минкиной Г.Н. заверяю:

Ученый секретарь  
ФГБОУ ВО «Московский государственный  
медико-стоматологический  
университет им. А.И. Евдокимова»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации,  
доктор медицинских наук, профессор



«      » \_\_\_\_\_ 2019 г.