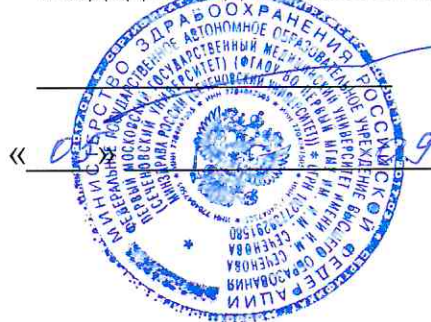


УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-исследовательской
работе ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
кандидат медицинских наук, доцент

Д.В. Бутнару

2022 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

на основании решения заседания кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Диссертация «Показатели мукозального иммунитета шейки матки в мониторинге клинического течения и эффективности фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук выполнена на кафедре клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Душкин Александр Дмитриевич, 02.06.1997 года рождения, гражданство Российская Федерация, в 2020 году окончил федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по специальности «Лечебное дело».

В 2021 году прикреплен в качестве соискателя ученой степени кандидата медицинских наук при кафедре клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 1475/Аэ от 7 июня 2022 года выдана в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Научный руководитель:

Афанасьев Максим Станиславович, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

Текст диссертации был проверен в системе «Антиплагиат» и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

По итогам обсуждения диссертационного исследования «Показатели мукозального иммунитета шейки матки в мониторинге клинического течения и эффективности фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции», представленного на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология, принято следующее заключение:

- **Оценка выполненной соискателем работы**

Диссертационная работа «Показатели мукозального иммунитета шейки матки в мониторинге клинического течения и эффективности фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, посвященную изучению актуальной научной проблемы в области иммунологии. Работа обладает научной новизной, теоретической и практической ценностью.

В диссертационном исследовании Душкина Александра Дмитриевича изучены: показатели мукозального иммунитета шейки матки, а именно экспрессия мРНК Toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8) на поверхности эпителиоцитов; степень инфильтрации и морфологический тип иммунокомпетентных клеток лимфоидного ряда и нейтрофилов (ИКК), инфильтрирующих ткань шейки матки; число лейкоцитов в цервикальном секрете; цифрового интегрального значения (IndGV) поверхности шейки матки при папилломавирусной инфекции, отражающего площадь поражения эпителия экзоцервикса по данным уксусной и йодной проб; действие фотодинамической терапии (ФДТ) на эрадикацию вируса папилломы человека и злокачественную трансформации эпителиальных клеток шейки матки.

- **Актуальность темы диссертационного исследования** обусловлена ростом числа новых случаев, в Российской Федерации и мире, терминальной стадии течения папилломавирусной инфекции шейки матки – рака шейки матки, решением 73-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения «Глобальная стратегия по элиминации рака шейки матки как проблемы общественного здравоохранения» и посланием ФГБУ «Российская академия наук» о «Выявление отдельных клинико-эпидемиологических особенностей проявлений ПВИ должно способствовать разработке новых и оптимизации существующих профилактических программ в отношении широкого спектра ВПЧ-ассоциированных заболеваний». Несмотря на постоянно увеличивающееся число программ первичной профилактики рака шейки матки – вакцинация от ВПЧ, проблема эффективного скрининга и методик лечения до сих пор не решена. Результаты мета-анализов и систематических обзоров по различным методикам скрининга демонстрируют отсутствие единых данных и эффективных подходов для мониторинга клинических форм ПВИ шейки матки и эрадикации ВПЧ. Это и явилось побуждающим мотивом к выполнению данного исследования, предопределив его цель – изучить маркёры мукозального иммунитета и эффективность фотодинамической терапии для улучшения диагностики и эрадикации папилломавирусной инфекции шейки матки. Таким образом, диссертационная работа Душкина Александра Дмитриевича на тему «Показатели мукозального иммунитета шейки матки в мониторинге клинического течения и эффективности фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции» является актуальной темой современной иммунологии.

- **Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

В выполненной работе вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном его участии на всех этапах исследования: от выбора направления исследования до публикации научных статей, докладов. Диссертант лично выполнил статистическую обработку полученных данных, анализ результатов исследования, подготовку статей к публикации, написание глав диссертационной работы. Душкин Александр Дмитриевич лично участвовал в апробации результатов исследования.

- **Степень достоверности результатов проведенных исследований**

Достоверность и обоснованность результатов диссертационной работы основана на использовании достаточного по объему и качеству материала, современных методах исследования и статистической обработке данных. Комиссия по проверке первичной документации пришла к заключению, что достоверность и подлинность первичных материалов диссертации не вызывает сомнений, полнота и качество представленных материалов соответствуют теме и содержанию диссертационной работы, текст диссертации также написан лично Душкиным Александром Дмитриевичем.

- **Научная новизна результатов проведенных исследований**

Разработан оригинальный метод цифровой количественной оценки изображения аномальных кольпоскопических картин при ПВИ шейки матки с использованием уксусной пробы (*патент на изобретение РФ № 2758330*).

Исследована экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки, число лейкоцитов в цервикальном секрете, расширенной лейкоцитарной формулы общего анализа крови; степень инфильтрации и морфологического типа клеток лимфоидного ряда и нейтрофилов, инфильтрирующих ткань шейки матки; цифровое интегрального значения поверхности шейки матки, отражающего площадь поражения эпителия экзоцервикса по данным уксусной и йодной проб в соответствии с клинической формой папилломавирусной инфекцией. Установлена их статистическая значимость как объективных предикторов клинических форм ПВИ шейки матки. Относительно экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки проведена оценка состояния мукозального иммунитета шейки матки при урогенитальной инфекции (*патент РФ № 2715618*), выраженности инфекционного процесса при урогенитальной инфекции (*патент РФ № 2715626*) и разработан способ прогнозирования течения урогенитальной инфекции с помощью экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки (*патент РФ № 2720135*).

Рассчитана математическая модель прогнозирования течения клинических форм папилломавирусной инфекции с использованием клинко-эпидемиологических показателей (возраст, начало половой жизни), уровня экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки, числа лейкоцитов в цервикальном секрете, расширенной лейкоцитарной формулы общего анализа крови, значений цифрового интегрального значения поверхности шейки матки с использованием логистической регрессии.

Отдельно изучена экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8, концентрации IL-1 β , IL-4, IFN- α , IFN- γ , TNF- α , sIgA и числа лейкоцитов в цервикальном секрете до и после фотодинамической терапии шейки матки *in vivo*. Обоснована значимость фотодинамической терапии как иммуномодулирующего метода лечения папилломавирусной инфекции шейки матки в онкогинекологии. Разработан протокол проведения ФДТ для эрадикации ВПЧ и злокачественной трансформации эпителиальных клеток шейки матки. Дополнительно выполнена оценка влияния фотодинамической терапии шейки матки на эрадикацию вируса папилломы человека и остановку злокачественной трансформации эпителиальных клеток шейки матки в соответствии с клинической формой ПВИ более чем для 1000 пациенток.

• **Практическая значимость проведенных исследований**

Включение в исследование комплекса объективных инструментально-диагностических методов расширило существующий спектр данных в части развития клинических форм папилломавирусной инфекции. Данные, которые позволяют расширить существующий спектр: экспрессия мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов, степень инфильтрации и морфологический тип клеток лимфоидного ряда и нейтрофилов, инфильтрирующих ткань шейки матки, число лейкоцитов в цервикальном секрете и цифровое интегральное значения поверхности шейки матки, отражающего площадь поражения эпителия экзоцервикса по данным уксусной и йодной проб при папилломавирусной инфекции. Определено, что при папилломавирусная инфекция без плоскоклеточного интраэпителиального поражения наибольший уровень экспрессии мРНК имеет TLR3. Вирусная нагрузка имеет положительную умеренную корреляцию с экспрессией мРНК TLR3 при данном состоянии.

Доказано, что папилломавирусная инфекция с легкой степенью плоскоклеточного интраэпителиального поражения имеет максимальный уровень экспрессии мРНК TLR2, TLR4 и TLR8. При угнетении экспрессии мРНК данных TLRs плоскоклеточное интраэпителиальное поражение легкой степени прогрессирует в более тяжелые формы папилломавирусной инфекции шейки матки.

Для прогнозирования клинических форм папилломавирусной инфекции обоснована целесообразность применения таких показателей, как клинико-эпидемиологические (возраст, начало половой жизни), уровень экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки, число лейкоцитов в цервикальном секрете, расширенная лейкоцитарная формула общего анализа крови, цифровое интегральное значение поверхности шейки матки.

Разработана программа ЭВМ «TLR Screen» для оценки состояния мукозального иммунитета шейки матки (*свидетельство о регистрации ЭВМ № 2021681068*) и устройство для скрининга патологии наружных и внутренних половых органов у женщин (*патент на полезную модель №210078*).

Определено перспективное направление для оптимизации методик иммунологического мониторинга папилломавирусной инфекции шейки матки.

Доказано действие фотодинамической терапии на ткань шейки матки относительно эрадикации ВПЧ и остановки процесса злокачественной трансформации эпителиальных клеток на статистически репрезентативном материале. Метод может быть рекомендован для оптимального неинвазивного лечения папилломавирусной инфекции шейки матки. Доказанная эффективность фотодинамической терапии клинических форм папилломавирусной инфекции шейки матки, обуславливает целесообразность проведения дальнейших работ по

изучению эффективности и безопасности фотодинамической терапии в комбинации с другими методами лечения такими, как системная лекарственная терапия (химиотерапия, таргетная терапия, иммунотерапия), лучевая терапия, хирургическое лечение терминальных стадий рака шейки матки.

- **Ценность научных работ соискателя ученой степени** заключается в комплексной иммунологической оценке течения и доказанной эффективности ФДТ папилломавирусной инфекции шейки матки. Научные результаты, полученные автором, достаточно полно представлены в его публикациях в рецензируемых журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ, перечень Сеченовского Университета и индексируемых в Web of Science, Scopus и PubMed. Научные работы соискателя дополняют фундаментальные знания о патогенезе папилломавирусной инфекции шейки матки. Ценность научных работ соискателя подтверждена зарегистрированными 4 патентами на изобретения, 1 патентом на полезную модель и 1 свидетельством о государственной регистрации программы для ЭВМ.

- **Внедрение результатов диссертационного исследования в практику**

Основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации Душкина Александра Дмитриевича на тему «Показатели мукозального иммунитета шейки матки в мониторинге клинического течения и эффективности фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции» внедрены в учебный процесс кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплин «Иммунология» и «Клиническая иммунология» акт № 116 от 04.07.2022.

- **Этическая экспертиза научного исследования в Локальном этическом комитете (по медицинским и фармацевтическим наукам)**

Исследование было одобрено на заседании Локального этического комитета федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) протокол № 15-21 от 01.09.2021.

- **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

Направление диссертационного исследования соответствует п. 2 «Выяснение механизмов распознавания чужеродных субстанций, их удаления из организма и формирования иммунологической памяти.», п. 3 «Изучение механизмов врожденного и адаптивного иммунитета в норме и при патологии.», п. 4 «Исследование молекулярных и клеточных основ противобактериальной, противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, противопаразитарной

иммунной защиты», п. 7 «Разработка фундаментальных основ иммунопрофилактики, иммунодиагностики и иммунотерапии» и п. 10 «Проектирование и создание оптимальных биоинформационных и математических моделей функционирования иммунной системы» паспорта специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология (медицинские науки).

• **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

По результатам исследования автором опубликовано 17 работ, из них 6 статей в изданиях, индексируемых в международных базах (Web of Science, Scopus, PubMed), 2 иные публикации по результатам исследования, 6 патентов, 3 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 2 зарубежных конференций).

Оригинальные научные статьи в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Университета/ВАК при Минобрнауки России:

1) Afanasiev M., Dushkin A., Grishacheva T., Afanasiev S., Nesvizhsky Y., Karaulov A., Pylev A. The Multi-Course Approach of Photodynamic Therapy to Treat Invasive Cervical Cancer IB2: A Case Report. **Case Reports in Oncology**. 2021; 14(1): 506–519. DOI: 10.1159/000514574 [**Web of Science, Scopus Q3**]

2) Душкин А.Д., Афанасьев М.С., Затевалов А.М., Алёшкин В.А., Миронов А.Ю., Афанасьев С.С., Борисова О.Ю., Гришачева Т.Г., Караулов А.В. Цифровой анализ и количественная оценка изменений поверхности шейки матки при дисплазии. **Клиническая лабораторная диагностика**. 2021; 66(7): 417-421. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-7-417-421 [**Scopus Q4**]

3) Dushkin A., Afanasiev M., Afanasiev S., Grishacheva, T. Digital analysis of colposcopic images in papillomavirus infection. **Journal of Physics: Conference Series**. 2021; 2127(1): 012063. DOI: 10.1088/1742-6596/2127/1/012063 [**Scopus Q4**]

4) Afanasiev M.S., Dushkin A.D., Grishacheva T.G., Afanasiev S.S., Karaulov A.V. Photodynamic therapy for early-stage cervical cancer treatment. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**. 2022; 37: 102620. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2021.102620 [**Web of Science, Scopus Q2**]

5) Душкин А.Д., Афанасьев М.С., Гришачева Т.Г., Афанасьев С.С., Несвижский Ю.В., Алёшкин А.В., Затевалов А.М., Борисова О.Ю., Караулов А.В. Цифровой анализ кольпоскопических изображений при уксуснобелом эпителии в режиме реального времени. **Вопросы гинекологии, акушерства и**

перинатологии. 2022; 21(2): 129–139. DOI: 10.20953/1726-1678-2022-2-129-139 [Scopus Q3]

6) Dushkin A., Afanasiev M., Afanasiev S., Kukina P., Pylev A., Burdyukov M., Karaulov A. Personalized approach to management of high-grade squamous intraepithelial lesion. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.** 2022; 39: 103038. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2022.103038 [Web of Science, Scopus Q2]

Иные публикации по теме диссертационного исследования:

1) Afanasiev M.S., Grishacheva T.G., Dushkin A.D. A Comprehensive Approach for Preventing and Treating Squamous Intraepithelial Lesions with HPV Infection. **EC Gynaecology.** 2021; 10(2): 25–31. <https://ecronicon.com/ecgy/ECGY-10-00568.php> [Publons]

2) Караулов А.В., Афанасьев М.С., Петрищев Н.Н., Гришачёва Т.Г., Несвижский Ю.В., Евсегнеева И.В., Афанасьев С.С., Несвижская М.Ю., Карсонова А.В., Пылёв А.Л., Душкин А.Д., Бондаренко Н.Л., Мальцева Т.Е. Фотодинамическая терапия: иммуномодулирующий метод в онкогинекологии. Учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей / А. В. Караулов, М.С. Афанасьев, Н.Н. Петрищев – М.: ООО «Контакт», 2020. – 144 с.

Патенты:

1) Душкин А.Д. Способ оценки состояния мукозального иммунитета при урогенитальной инфекции у беременных / С.С. Афанасьев, А.В. Караулов, В.А. Алёшкин [и др.] // Патент на изобретение RU № 2715618 С1, 02.03.2020. Бюл. №7. Заявка: 2019114012, 08.05.2019.

2) Душкин А.Д. Способ оценки выраженности инфекционного процесса при урогенитальной инфекции у беременных / С.С. Афанасьев, А.В. Караулов, В.А. Алёшкин [и др.] // Патент на изобретение RU № 2715626 С1, 02.03.2020. Бюл. №7. Заявка: 2019114010, 08.05.2019.

3) Душкин А.Д. Способ прогнозирования течения беременности при урогенитальной инфекции / С.С. Афанасьев, А.В. Караулов, В.А. Алёшкин [и др.] // Патент на изобретение RU № 2720135 С1, 02.03.2020. Бюл. №12. / Заявка: 2019114494, 17.04.2019.

4) Душкин А.Д. Способ определения степени дисплазии шейки матки / С.С. Афанасьев, А.Д. Душкин, В.А. Алешкин [и др.] // Патент на изобретение RU № 2758330 С1, 28.10.2021. Бюл. №31. Заявка: 2020120982, 25.06.2020.

5) Душкин А.Д. TLR screen / В.А. Алешкин, А.М. Затевалов, С.С. Афанасьев [и др.] // Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ RU № 2021681068. 17.12.2021. Заявка: 2021680158, 08.12.2021.

б) Душкин А.Д. Устройство для скрининга нижней части генитального тракта и наружных женских половых органов / М.С. Афанасьев, А.Д. Душкин, С.С. Афанасьев // Патент на полезную модель RU № 210078 U1. 28.03.2022. Бюл. № 10. Заявка: 2021132049, 02.11.2021.

Материалы конференций по теме диссертационного исследования

1) Душкин А.Д. Исследование противоопухолевой и противовирусной эффективности фотодинамической терапии в группах с легкой и тяжелой дисплазией шейки матки / М.С. Афанасьев, Т.Г. Гришачева, А.Д. Душкин, А.Л. Пылев // Материалы IX Международного конгресса «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика», Biomedical Photonics. 2020; 9(4s): 5-62

2) Dushkin A. PDT is an accomplished method to treat acute HPV infection, cervical intraepithelial neoplasia and invasive cancer / M. Afanasiev, T. Grishacheva, A. Dushkin // Program and abstracts «Photodynamic Therapy & Photodiagnosis Update 2020» E-CONGRESS. – 2020. – P. 11

3) Dushkin A. PDT on the guard of your health / «Photogenic Science Contest IPA 2021», Category: Clinical Science, Web conference. ??

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

1) 2nd International Conference on Photonics Research, November 4-9, 2019, Kemer/Antalya, Turkey;

2) IX Международном конгрессе «Фотодинамическая Терапия и Фотодиагностика», 23-24 октября 2020, Москва, Россия;

3) Photodynamic Therapy and Photodiagnosis Update 2020 E-CONGRESS, November 5-6, 2020, Nancy, France;

4) I Всероссийском Конгрессе с международным участием по фундаментальным проблемам лабораторной диагностики «Академия лабораторной медицины: новейшие достижения», 25-27 мая, 2021, Московская область, Красногорск, Россия;

5) X Международном конгрессе «Фотодинамическая Терапия и Фотодиагностика», 10–11 июня 2021, Москва, Россия;

6) 16th International Conference «Optical Methods of Flow Investigation», June 28 – July 02, 2021, Moscow, Russia;

7) Photogenic Science Contest IPA 2021, November 21, 2021, France;

8) Межрегиональной научно-практической конференции «X Розовая лента», 28–29 октября 2021, Тверь, Россия;

9) I Научно-практическая конференция «Лазерная и фотодинамическая терапия: актуальные вопросы, достижения, инновации», 25 марта 2022, Обнинск, Россия.

Заключение

Диссертация соответствует требованиям п. 21 Положения о присуждении ученых степеней в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом от 06.06.2022 г. № 0692/Р, и не содержит заимствованного материала без ссылки на авторов.

Первичная документация проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Диссертационная работа Душкина Александра Дмитриевича «Показатели мукозального иммунитета шейки матки в мониторинге клинического течения и эффективности фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.2.7. Аллергология и иммунология.

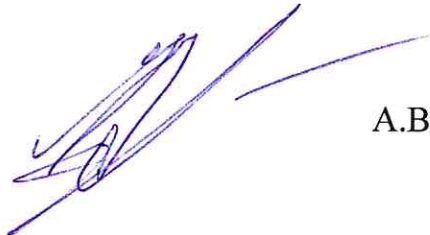
Заключение принято на заседании кафедры клинической иммунологии и аллергологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Присутствовало на заседании 9 человек.

Результаты голосования: «за» – 9 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел., протокол № 7 от «7» июля 2022 г.

Председательствующий на заседании

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,
заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии
Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
имени И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)



А.В. Караулов