

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук, профессора, профессора кафедры микробиологии имени В.С. Киктенко Медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» Гизингер Оксаны Анатольевны, на диссертацию Душкина Александра Дмитриевича на тему: «Показатели мукозального иммунитета шейки матки в мониторинге клинического течения и эффективности фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности:

3.2.7. Аллергология и иммунология

### Актуальность избранной темы

Диссертация Душкина Александра Дмитриевича выполнена в рамках одного из важнейших направлений иммунологии и посвящена изучению маркеров мукозального иммунитета у больных с папилломавирусной инфекцией шейки матки, возможностью использования маркеров для прогнозирования, возникновения и течения вирусных поражений шейки матки, оценки эффективности проводимой в лечебных целях фотодинамической терапии. Важность разрабатываемой А.Д. Душкиным темы определяется тем, что ПВИ шейки матки является одной из самых распространенных в мире инфекций, передаваемой половым путем, которая с высокой частотой приводит к раку шейки матки, характеризуются высокой степенью летальности, занимает 5-е место в структуре всех злокачественных новообразований и 4-ое в структуре злокачественных новообразований женщин на 2020 год

В настоящее время необходимость изучения иммунных механизмов ПВИ связана с пониманием важности врожденного и адаптивного иммунитета в патогенезе данной патологии. Исследование роли паттерн-распознающих рецепторов, в том числе Toll-подобных рецепторов (TLRs), клеточных факторов врожденного иммунитета проведенное в диссертационной работе расширяет представление о патогенетических механизмах ПВИ, повышает эффективность терапевтических и профилактических программ. Автором показано, что для оценки течения папилломавирусной инфекции шейки матки может быть использован комплекс клинических и иммунологических показателей, оценивающих состояние пациентки на органном, тканевом, клеточном и молекулярном уровнях. Среди параметров оценки состояния макроорганизма важнейшая роль в развитии плоскоклеточного интраэпителиального поражения (SIL) и раке шейки матки отводится Toll-подобным рецепторам. Выявление, оценка значимости и применение иммунологических маркеров в комбинации с клинико-морфологическими и

цифровыми показателями дает возможность построить математическую модель и определить состояние шейки матки при различной степени выраженности ПВИ.

Учитывая вышеизложенное, исследование Душкина А.Д., цель которого заключается в изучении маркеров мукозального иммунитета у больных папилломавирусной инфекцией шейки матки и возможность их использования для прогнозирования возникновения и течения этого заболевания, а также оценки эффективности фотодинамической терапии, представляется актуальным для аллергологии и иммунологии.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Актуальность разрабатываемой проблемы, теория построения исследования основанная на известных, проверяемых фактах, разработка программы оценки состояния мукозального иммунитета шейки матки для прогноза заражения ВПЧ, возникновения и прогрессирования плоскоклеточного интраэпителиального поражения и развития рака шейки матки и создание устройства для скрининга патологии наружных и внутренних половых органов у женщин делают обоснованными все этапы исследования. Сформулированные соискателем задачи соответствуют цели исследования, а выводы полностью отражают решение поставленных задач. Основные положения, выносимые на защиту, адекватно формулируют наиболее значимые теоретические закономерности, установленные автором. Обоснованность положений, выводов, сформулированных в диссертации, вытекает из актуальности разрабатываемой проблемы, построении исследования на известных, проверяемых фактах, достаточный объем исследований, адекватной оценке и интерпретации полученных результатов. Выводы грамотно сформулированы и адекватны цели, задачам исследования, вытекают из полученных автором материалов.

### **Достоверность и новизна результатов исследования, полученных результатов**

Достоверность результатов, сформулированных положений и выводов подтверждена достаточным объемом проведенных исследований, а также корректной статистической обработкой полученных результатов, полнотой литературно-библиографической справки, глубоким и аргументированным анализом полученных результатов.

Автором, впервые установлена статистическая значимость экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки; числа лейкоцитов в цервикальном секрете и периферической крови, степени инфильтрации и морфологического типа клеток лимфоидного ряда и нейтрофилов, инфильтрирующих тканей шейки матки; цифрового интегрального значения поверхности шейки матки, отражающего площадь поражения эпителия экзоцервикса по данным уксусной и йодной проб в соответствии с клинической формой папилломавирусной инфекцией как объективных предикторов клинических форм ПВИ шейки

матки. На основании анализа клинико-эпидемиологических показателей разработана математическая модель клинического течения ПВИ шейки матки с применением классифицирующих уравнений логистической регрессии для прогноза заражения ВПЧ, возникновения и прогрессирования плоскоклеточного интраэпителиального поражения и развития РШМ. Автором впервые разработан оригинальный метод цифровой количественной оценки изображения аномальных кольпоскопических картин при ПВИ шейки матки с использованием уксусной пробы с получением патента на изобретение. Впервые проведена оценка эффективности фотодинамической терапии у больных ПВИ по вирусологическим и цитологическим критериям в зависимости от исходной степени плоскоклеточного интраэпителиального поражения шейки матки. По результатам исследований получены патенты на изобретения: патент РФ № 2715618, патент РФ № 2715626, патент РФ № 2720135, патент на изобретение РФ № 2758330.

#### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Результаты диссертации имеют фундаментальное значение. В исследовании Душкина А.Д. представлены данные, уточняющие особенности течения ПВИ. В частности показано, что при папилломавирусной инфекции без плоскоклеточного интраэпителиального поражения наибольший уровень экспрессии мРНК имеет TLR3. Вирусная нагрузка имеет положительную умеренную корреляцию с экспрессией мРНК TLR3 при данном состоянии. Для прогнозирования клинических форм папилломавирусной инфекции Душкиным А.Д. обоснована целесообразность применения таких показателей, как возраст пациентки, начало половой жизни, уровень экспрессии мРНК TLR2, TLR3, TLR4 и TLR8 на поверхности эпителиоцитов шейки матки, число лейкоцитов в цервикальном секрете и периферической крови, цифровое интегральное значение поверхности шейки матки, доказано положительное действие фотодинамической терапии на ткань шейки матки относительно эрадикации ВПЧ и остановки процесса злокачественной трансформации эпителиальных клеток. Практически значимой является доказанная автором эффективность фотодинамической терапии клинических форм папилломавирусной инфекции шейки матки, что обуславливает целесообразность проведения работ по изучению эффективности и безопасности фотодинамической терапии в комбинации с другими методами лечения. Для внедрения полученных результатов в сферу образовательного практического здравоохранения разработаны: учебно-методическое пособие, программа для ЭВМ. Программа позволяет использовать результаты предиктивного анализа для оценки течения инфекционного процесса шейки матки. В пособие подробно изложен алгоритм проведения фотодинамической терапии.

### **Соответствие паспорту научной специальности**

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 освещения результатов диссертации в опубликованных работах**

По результатам исследования автором опубликовано 17 работ, в том числе 6 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 4 статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science, Scopus, PubMed, 2 иные публикации по результатам исследования, 4 патента на изобретение, 1 патент на полезную модель, 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ, 3 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 2 зарубежные конференции).

### **Содержание и оформление диссертации**

Диссертация изложена на 128 страницах, содержит 2 приложения ( А, В) 12 таблиц и 34 рисунка, построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы результатов собственных исследований, заключения, выводов, списка используемой литературы, приложения А, приложения В. Список литературы включает 220 источников (18 – отечественных и 202 – зарубежных авторов).

Во введении подробно и четко изложена актуальность избранной темы, сформулированы цель и задачи, научная новизна и ее практическая значимость, положения, выносимые на защиту, которые в полной мере отражают содержание диссертации. Приведены сведения о личном вкладе автора, апробации основных результатов исследования их внедрении и полноте представления в публикациях.

Обзор литературы написан в соответствии с концепцией «EVPi» - ожидаемой ценности совершенной информации и плану проведения литературного обзора по Харту. В литературном обзоре представлены современные данные об особенностях эпидемиологии и медико-

социальной значимости папилломавирусной инфекции шейки матки. Сделан акцент на роли иммунологического надзора шейки матки в обеспечении локального иммунного ответа. Подробно описаны эпителиальные и рассеянные клетки иммунной системы шейки матки. Представлены интересные сведения о том, что эпителиальные клетки шейки матки обладают иммуногенностью, которая блокирует проникновение восходящей инфекции в верхнюю часть женского генитального тракта, способностью к экспрессии паттерн-распознающих рецепторов, распознающих молекулярные паттерны, ассоциированные с патогеном (PAMPs) на микроорганизмах (бактериях, паразитах и вирусах). В обзоре литературных данных автором детально проанализирована научная информация, характеризующая иммунные клетки слизистой оболочки экзоцервикса, клетки зоны трансформации шейки матки, иммунные клетки слизистой оболочки эндоцервикса. Автором приведена характеристика Toll-подобных рецепторов, описаны сигнальные пути TLRs внутри клетки, описание механизмов сопровождается рисунками. В обзоре литературы уточнена роль факторов мукозального иммунитета в патогенезе папилломавирусной инфекции шейки матки, приведены современные представления о механизмах развития рака шейки матки, детально рассмотрены методы скрининга и терапии папилломавирусной инфекции шейки матки. Проанализированы механизмы фотодинамической терапии, роль Toll-подобных рецепторов, клеток врождённого иммунитета при фотодинамической терапии шейки матки. Проведенный анализ отечественных и зарубежных литературных источников явился логической базой для проведения собственного исследования и критической интерпретации его результатов.

В главе «Материалы и методы» автором представлен общий дизайн исследования, который состоял из трех этапов, детально описан каждый из этапов исследования, описаны общеклинический молекулярно-генетический, морфологический, цифровой, приведено описание метода фотодинамической терапии и проанализирован выбор статистических методов исследования. Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, разрабатывалась с помощью метода линейной регрессии. Построение прогностической модели вероятности определенного исхода выполнялось при помощи метода логистической регрессии. Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент  $R^2$  Найджелкерка. Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена. При сравнении нормально распределенных количественных показателей, рассчитанных для двух связанных выборок, использовался парный t-критерий Стьюдента. При сравнении количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, в

папилломавирусной инфекцией шейки матки и возможности их использования для прогнозирования возникновения и течения этого заболевания, а также оценки эффективности фотодинамической терапии, имеющей существенное значение для аллергологии и иммунологии, что соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора от 06.06.2022 г. № 0692/Р, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Душкин Александр Дмитриевич заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности – 3.2.7. Аллергология и иммунология.

Официальный оппонент,  
доктор биологических наук, профессор, (3.2.7. Аллергология и иммунология),  
профессор кафедры микробиологии имени В. С. Киктенко  
Медицинский институт  
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»  
117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6;  
+7 (499) 936-87-87; e-mail: rudn@rudn.ru  
Гизингер Оксана Анатольевна

Подпись д.б.н., профессора О.А. Гизингер заверяю:

Должность  
ФГАОУ ВО «РУДН»  
Ученый секретарь ученого совета  
Медицинского института РУДН



Г.В. Мокошова

29.11.2022