

УТВЕРЖДАЮ

Исполняющая обязанности проректора
по научной и инновационной работе
ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ
Минздрава России

кандидат медицинских наук, доцент

А.Л. Ясенявская

« 23 » 27 / 2022 г.

Отзыв ведущей организации

на диссертационную работу Душкина Александра Дмитриевича на тему:
«Показатели мукозального иммунитета шейки матки
в мониторинге клинического течения и эффективности
фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции»,
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности: 3.2.7. Аллергология и иммунология
в Диссертационный совет ДСУ 208.001.25 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ
имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Актуальность темы выполненной работы

Известно, что папилломавирусная инфекция является одной из самых распространенных инфекцией, передаваемых половым путем. Папилломавирусная инфекция, среди всех инфекций нижнего генитального тракта женщины, является главной причиной развития рака шейки матки. Более 2869 млн женщин находятся в группе риска развития рака шейки матки в 2022 году по данным международного агентства по исследованию рака. В основе канцерогенного действия вируса папилломы человека на эпителиоциты шейки матки лежит антиапоптотическое и гиперпролиферативное действие. Однако, ведущая роль паттерн-распознающих рецепторов в распознавании вируса остается дискуссионной. Также отсутствуют убедительные данные о методах эрадикации папилломавирусной инфекции шейки матки.

В свете изложенного диссертация Душкина Александра Дмитриевича посвящена изучению маркеров мукозального иммунитета у больных папилломавирусной инфекцией шейки матки и возможности их использования для прогнозирования возникновения и течения этого заболевания, а также оценки эффективности фотодинамической терапии и является современным, актуальным исследованием не только с позиции научных исследований, но и для практического здравоохранения.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки

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).

Новизна исследования и полученных результатов

Впервые 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. 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.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Практическим результатом диссертационной работы Душкина А.Д. стали разработанные практические рекомендации: разработан алгоритм проведения клинико-иммунологического мониторинга папилломавирусной инфекции 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*). Разработано учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей «Фотодинамическая терапия: иммуномодулирующий метод в онкогинекологии» регистрационный номер рецензии № 876 ЭКУ от 19.09.2019.

Для практического здравоохранения важны полученные данные об эффективности такого неинвазивного метода лечения, как фотодинамическая терапия. Данные являются репрезентативными и подтверждены высокочувствительными и высокоспецифичными методами диагностики в длительном безрецидивном периоде наблюдения.

С научной точки зрения важны результаты об экспрессии мРНК Toll-подобных рецепторов 2, 3, 4 и 8 в динамике течения папилломавирусной инфекции. Автором представлены результаты тестирования экспрессии мРНК Toll-подобных рецепторов от момента инфицирования и до наступления рака шейки матки, что позволяет их использовать для прогнозирования течения папилломавирусной инфекции в сочетании с клинико-эпидемиологическими данными. Продемонстрирована роль фотодинамической терапии в инициации IFN- γ -зависимого противовирусного иммунного ответа.

Результаты исследования 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.

Личный вклад автора

Автором лично в полном объеме были выполнены все этапы диссертационного исследования: планирование, организация, систематизация и сбор первичных данных, анализ и статистическая обработка. Автором лично проведен анализ клинических проявлений ПВИ шейки матки, анализ показателей экспрессии TLRs на поверхности эпителиоцитов шейки матки при ПВИ до и после ФДТ, концентрации цитокинов в цервикальном секрете до и после ФДТ, разработан алгоритм интегральной оценки ПВИ шейки с учетом показателей маркеров мукозального иммунитета, лейкоцитарной реакции и вирусной нагрузки, анализа реакции врожденного иммунитета на клинические проявления ПВИ шейки матки, анализ реакции врожденного иммунитета на фотодинамическую терапию шейки матки, анализ влияния штаммов ВПЧ на клинические проявления ПВИ шейки матки, разработан алгоритм цифровой обработки и анализа кольпоскопических изображений. Автором лично проведены расчеты обобщенных значений показателей мукозального иммунитета шейки матки, вирусной нагрузки и цифрового анализа при клинических формах ПВИ. Автором лично разработаны предложения по внедрению системы диагностики, профилактики и лечению ПВИ шейки матки.

Личный вклад автора составляет 90% при сборе первичной информации, 90% при анализе обобщенных результатов исследования и формулировании оптимизации иммунологических, микробиологических и профилактических направлений при папилломавирусной инфекции шейки матки, 80% при оформлении и написании научных публикаций по теме диссертации.

Рекомендации по практическому использованию результатов и выводов диссертационного исследования

Полученные в процессе работы данные и сформулированные Душкиным А.Д. выводы могут служить основой для дальнейших исследований в данной области сотрудниками медицинских научно-исследовательских институтов. Материалы диссертации могут быть использованы в образовательных программах студентов, ординаторов, аспирантов и врачей разных

специальностей. Сформулированные автором практические рекомендации могут быть внедрены в работу как специализированных центров, так и в работу лечебно-практических учреждений любой направленности.

Публикации по теме диссертации

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 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 2 зарубежные конференции).

Содержание и оформление диссертации

Диссертационная работа Душкина А.Д. выполнена в соответствии с требованиями ВАК Минобрнауки РФ. Диссертация написана по традиционному плану и изложена на 128 страницах машинописного текста. Включает введение, главы «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты клинико-лабораторных исследований», заключение, перспективы дальнейших исследований, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы и приложения. Содержит 10 таблиц и 36 рисунков. Список литературы содержит 220 наименований, представленных 27 отечественными и 189 зарубежными источниками, а также 4 нормативно-правовых документах.

Во «Введении» автором приведена краткая информация об эпидемиологии и характеристиках папилломавирусной инфекции с позиции современной иммунологии и четко сформулированы задачи адекватно поставленной цели. Актуальность работы, ее научная новизна, а также практическая и теоретическая

значимость убедительно обоснованы. Представлены положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы», хорошо структурированном. Изложена актуальная информация о распространенности, патогенезе, роли Toll-подобных рецепторов, классификации, клиническом течении, диагностике и фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции.

В главе «Материалы и методы исследования» дана подробная характеристика отобранных групп пациенток с папилломавирусной инфекцией и группой контроля, дизайна исследования, методов обследования, статистических методов, использованных при выполнении диссертационной работы.

В главе «Результаты клинико-лабораторных исследований» подробно изложены полученные собственные данные. Представлены результаты проспективного многофакторного анализа большой ($n=122$) популяции больных папилломавирусной инфекцией различной степени тяжести с использованием клинико-иммунологических данных. Разработана математическая модель прогнозирования течения папилломавирусной инфекции. Представлены данные ретроспективного анализа эффективности фотодинамической терапии когорты из 1075 пациенток с папилломавирусной инфекцией шейки матки в возрасте от 20 до 61 года.

В главе «Заключение» автором проведены тщательный анализ полученных результатов и их сопоставление с результатами, полученными в ходе научных исследований другими научными коллективами.

Завершают работу выводы, которые логично вытекают из изложенного материала и отвечают на вопросы, сформулированные в задачах исследования.

В приложениях представлены таблицы подтверждающие результаты и выводы исследования, а также алгоритм клинико-иммунологического течения папилломавирусной инфекции и клинический пример, использованных в работе методик диагностики и лечения.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Работа написана стилистически грамотным научным языком. Научные положения, выводы и заключения вытекают из представленных автором клинико-лабораторных данных и теоретических положений. Диссертантом четко сформулированы и профессионально грамотно решены все поставленные в диссертационной работе задачи, убедительно и достоверно изложены полученные результаты. Выводы соответствуют цели и задачам исследования. Однако при общей положительной оценке диссертационной работы, при ее рассмотрении возникли следующие замечания:

- Иногда встречаются пунктуационные ошибки и незначительные опечатки.

Указанные замечания не снижают значимости диссертационной работы, полученные результаты и выводы не подлежат сомнению.

Хотелось бы обсудить следующие вопросы:

1. Целесообразно ли продолжать поиск прогностических признаков тяжелой степени плоскоклеточного поражения при папилломавирусной инфекции? Целесообразно ли внедрение данного алгоритма в существующие диагностические алгоритмы папилломавирусной инфекции шейки матки и ее клинических форм?

2. Применяется ли фотодинамическая терапия при эрадикации других бактериальных и вирусных инфекций? Целесообразно ли внедрение данного алгоритма в существующие диагностические алгоритмы папилломавирусной инфекции шейки матки и ее клинических форм?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Душкина Александра Дмитриевича на тему: «Показатели мукозального иммунитета шейки матки в мониторинге клинического течения и эффективности фотодинамической терапии папилломавирусной инфекции» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по изучению маркеров мукозального иммунитета у

больных 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.

Отзыв на диссертационную работу Душкина Александра Дмитриевича заслушан и утвержден на заседании кафедры микробиологии и вирусологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации протокол № 3 от 18.11.2022 г.

Рубальский Олег Васильевич
 доктор медицинских наук, профессор,
 заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии
 ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России
 Согласен на обработку персональных данных
 Специальность: 3.2.7. Аллергология и иммунология

1.5.11. Микробиология

Подписи заверяю: _____

Учёный секретарь ФГБОУ ВО
 «Астраханский государственный
 медицинский университет»
 Минздрава России,
 к.м.н., доцент Кульков В.Н.



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (414000, Астраханская область, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121; 8(851)252-41-43; e-mail: post@astgmu.ru).