

На правах рукописи



Лепехова Анфиса Александровна

**Разработка диагностических биомаркеров для персонифицированной терапии
больных тяжелыми буллезными дерматозами**

3.1.23. Дерматовенерология

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Теплюк Наталия Павловна
Духанин Александр Сергеевич

Официальные оппоненты:

Матушевская Елена Владиславовна – доктор медицинских наук, профессор, Академия постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», кафедра дерматовенерологии и косметологии, профессор кафедры

Чикин Вадим Викторович – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел дерматовенерологии, старший научный сотрудник отдела

Шегай Марина Михайловна – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко», ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Защита диссертации состоится «18» мая 2026 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.17 при ФGAOУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская д. 19

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФGAOУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, доцент

Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Буллезные дерматозы (БД) представляют собой тяжелые, жизнеугрожающие, органоспецифические, мультифакториальные заболевания, в основе которых лежит генетическая предрасположенность.

К группе БД относятся: акантолитическая пузырчатка (АП), буллезный пемфигоид Лёвёра (БП), буллезный эпидермолиз, герпетиформный дерматит Дюринга, токсический эпидермальный некролиз (ТЭН), а также синдром Стивенса-Джонсона (ССД) и другие.

Известно, что при АП различные эпигенетические факторы могут индуцировать формирование аутоантител против адгезивных компонентов в коже и слизистых оболочках с одной стороны, а с другой, основой формирования тяжелых аллергических реакций, например, ТЭН, является CD8⁺ Т-клеточная цитотоксичность, приводящая к тотальной отслойке эпидермиса [Marchitto M. C., 2018; Estrella-Alonso A., 2017].

В основе развития БД лежит ассоциация с HLA-антигенами гистосовместимости I и II классов [Yang M., 2019]. По данным литературы у носителей DR4 и DR14 аллелей вероятность развития АП была выше [Moro F., 2019]. Однако наличие предрасполагающих аллелей зависело от этноса пациентов. Следует отметить, что HLA-аллели II класса в российской популяции изучались на небольшой выборке пациентов [Дрождина М. Б., 2025]. Разные популяции могут иметь свои уникальные аллели, что связано с историческими, экологическими и этническими факторами [Petzl-Erler M. L., 2020].

Именно HLA-аллели II класса по данным многих источников ассоциированы с антителопосредованными заболеваниями. При БП, в частности, активация антиген-специфичных В-клеток и секреция IgG антител зависит от взаимодействия между Т-клеточными рецепторами и классическими молекулами HLA II класса [Zakka, L. R., 2011]. Известно, что в развитии тяжелых лекарственно-индуцированных аллергических реакций HLA-аллели I и II классов также играют важную роль. Большинство лекарственных препаратов и их метаболитов являются прогаптенами [Hoetzenecker W., 2016]. В связи с этим возникновение заболевания связано с иммуногенностью, опосредованной ковалентным связыванием с белками-носителями (гаптеновым антигеном). Гаптеновые антигены формируют комплекс с HLA в антиген-презентирующих клетках и затем распознаются Т-клеточными рецепторами [Yu K., 2017; Shing P. T., 2012].

Системные глюкокортикостероиды (СГК) являются препаратами первой линии для лечения БД. Однако в настоящее время участились случаи развития стероидной резистентности (СР) к терапии высокими дозами СГК у больных АП и БП, что подчеркивает необходимость проведения

целенаправленных исследований по изучению причин ее возникновения при данных заболеваниях [Теплюк, Н. П., 2011; Antonucci A., 2007]. Так, СР может выявляться не только на уровне внутриклеточных α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов (ГР), но также на уровне полиморфизмов генов, в частности гена NR3C1, кодирующего ГР [Fang S., 2017; Kubin M., 2016]. Данный полиморфизм исследовался при бронхиальной астме, ревматоидном артрите, системной красной волчанке и АП на небольшой выборке больных [Derijk R. H., 2001; Piotrowski P., 2007; Varricchio L., 2011]. При АП Fang S et al. 2017 выявили полиморфизмы SNP rs 11745958 C/T и rs17209237 A/G, которые были связаны с развитием СР [Fang S., 2017]. Однако следует отметить, что именно полиморфизм A3669G (rs6198) гена NR3C1 β -изоформы ГР, а также его влияние на тяжесть и развитие СР при БД, в частности, при АП не исследовался. В литературных источниках не было представлено научных работ о возможной ассоциации HLA-DRB1 и DQB1 аллелей II класса с тяжелым течением БД и недостаточным ответом на базовую терапию СГК.

Исследование пузырной жидкости у больных БД имеет важное значение для диагностики и понимания их патогенеза. Kowalski EH et al. 2019 в мета-анализе исследовали различия в цитокиновом профиле в пузырной жидкости и сыворотке у больных АП и БП с целью оценки каскада механизмов воспаления непосредственно в месте формирования пузыря. Авторы выявили статистически значимые различия в сыворотке у больных АП и БП по уровню цитокинов и интерлейкинов. Так, IL5, IL6, IL8, IL17, CCL17 и CCL26 были статистически значимо выше в сыворотке у больных БП, тогда как пузырная жидкость больных АП преимущественно была представлена высоким уровнем IL10, IL17 и CCL17. У больных БП в пузырной жидкости чаще встречались высокие уровни IL5, IL6, IL8, CCL11 и TNF- α [Kowalski E. H., 2019; Echigo T., 2006]. Интересно также, что IL17 находился на высоком уровне в сыворотке у больных с частыми рецидивами БП даже после лечения высокими дозами СГК [Plée J., 2015]. Таким образом, клеточный состав пузырной жидкости при разных БД значительно отличается и может быть использован в качестве источника маркеров тяжести течения этих заболеваний и для дифференциальной диагностики [Chung W. H., 2008]. Следует отметить, что возможная корреляция уровней цитокинов IL4, IL10, TNF- α , IL15, хемокинов CCL11 и CXCL8, а также гранулизина в пузырной жидкости с тяжестью течения, а также развитием СР у больных БД не исследовалась. Кроме того, не оценивалось влияние комбинированной терапии с введением иммуноглобулина (IVIg) и плазмафереза на цитокиновый и хемокиновый профили, а также уровень гранулизина в сыворотке у стероид-резистентных больных АП.

Степень разработанности темы исследования

Тяжелые буллезные дерматозы (БД) представляют собой жизнеугрожающие заболевания, в основе которых лежат аутоиммунные механизмы (АП и БП) или Т-клеточная цитотоксичность (ССД/ТЭН).

Небольшая, но достаточно существенная часть пациентов с данными заболеваниями и, в частности, чаще всего с АП не отвечают адекватно на проводимую терапию СГК. Механизмы СР изучались на уровне рецепторов при бронхиальной астме, ревматоидной артрите, красной волчанке, АП и БП. Однако на геномном уровне, механизм СР в связи с полиморфизмом А3669G гена NR3C1 (кодирующего ГР), у больных с различными БД до сих пор не изучался. Изменения в структуре ГР могут повлиять на активацию или подавление различных сигнальных путей, связанных с воспалением, что может привести к недостаточной реакции на лечение. Полиморфизм А3669G (rs6198) мог бы использоваться в качестве потенциального предиктора ответа таких пациентов на проводимую терапию. Также в литературе не было работ по оценке взаимосвязи определенных HLA аллелей II класса, в частности, DRB1 и DQB1 с тяжестью течения БД, а также СР. Таким образом, все это диктует необходимость определения комплекса потенциальных предикторов/биомаркеров СР у больных БД на геномном и негеномном уровнях. Такое исследование позволит выявить СР на ранних этапах развития заболевания, что обеспечит своевременное назначение адъювантной терапии, ускорит регресс высыпаний и существенно снизит риск развития потенциальных побочных эффектов и рецидивов.

Исследование пузырной жидкости у больных АП, БП и ССД/ТЭН также позволило бы выявить некоторые различия при данных заболеваниях на уровне формирования пузыря (ранняя стадия заболевания), что могло бы быть использовано в качестве диагностических маркеров на ранних этапах дифференциальной диагностики БД, включая такие тяжелые алергодерматозы, как ССД/ТЭН. Пузырная жидкость с точки зрения ассоциации ее различий в цитокиновом, белковом и хемокиновом профилях у стероид-резистентных больных БД также в нашей стране не исследовалась. Кроме того, получение пузырной жидкости представляет собой малоинвазивную методику, что делает ее достаточно удобным и практичным методом для диагностики, дифференциальной диагностики, оценки тяжести БД разной этиологии на ранних этапах заболевания, а также прогноза ответа на терапию у данных больных.

Наряду с этим, применение методов машинного обучения на основании анализа базы данных по геномным и негеномным механизмам чувствительности пациентов к проводимой терапии также позволило бы классифицировать больных БД по риску развития заболевания и формированию резистентности к СГК.

Цель и задачи исследования

Цель исследования – разработать комплекс диагностических биомаркеров при буллезных дерматозах на геномном и негеномном молекулярном уровне, определяющих их тяжесть течения и позволяющих классифицировать эти заболевания по стероидной резистентности и прогнозу развития, а также разработать новый метод терапии стероид-резистентных больных пузырчаткой плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином.

Для реализации цели исследования были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать распространенность HLA-DRB1 и DQB1 аллелей, а также гаплотипов у больных буллезными дерматозами различной степени тяжести на уровне низкого и высокого разрешений, а также их возможную взаимосвязь со стероидной резистентностью и степенью тяжести течения заболевания.
2. Оценить экспрессию α - и β - изоформ глюкокортикоидных рецепторов у больных тяжелыми буллезными дерматозами.
3. Исследовать полиморфизм гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных буллезными дерматозами и оценить его роль в развитии стероидной резистентности.
4. Создать прогностическую модель с помощью методов машинного обучения на основании полученных данных по геномным и негеномным механизмам для осуществления прогноза развития стероидной резистентности у больных буллезными дерматозами.
5. Оценить уровень IL10, IL15, IL4, TNF- α , CCL11, CXCL8 и гранулизина у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных буллезными дерматозами различной степени тяжести в пузырной жидкости и сыворотке, а также динамику этих показателей в сыворотке до и после лечения монотерапией СГК и комбинированной терапией СГК, плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином.
6. Оценить клиническую эффективность комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином у стероид-резистентных больных пузырчаткой.

Научная новизна

Впервые проведено сравнительное исследование случай-контроль на большой выборке больных редкими тяжелыми буллезными дерматозами (150 пациентов) для оценки ассоциации различных HLA аллелей DRB1 и DQB1, а также гаплотипов с развитием стероидной резистентности и тяжелым течением заболеваний.

Впервые исследовался полиморфизм A3669G гена β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных буллезными дерматозами, а также его взаимосвязь с тяжестью течения этих заболеваний и стероидной резистентностью.

Впервые разработана инновационная модель машинного обучения, интегрирующая геномные (HLA-DRB1/DQB1, полиморфизм A3669G β -изоформы ГР, экспрессия α/β -изоформ) и негеномные (цитокины, хемокины, гранулизин) биомаркеры для осуществления прогноза развития стероидной резистентности у больных буллезными дерматозами.

Впервые в России получены данные по различиям в цитокиновом, хемокиновом профилях и уровню гранулизина в сыворотке и пузырной жидкости у больных буллезными дерматозами, а также их корреляции с тяжестью течения и стероидной резистентностью.

Впервые представлена оценка эффективности комбинированной терапии с применением плазмафереза и человеческого иммуноглобулина на основании исследования цитокинового, хемокинового профилей и уровня гранулизина в сыворотке у стероид-резистентных больных акантолитической пузырчаткой.

Впервые метод машинного обучения позволил классифицировать буллезные дерматозы на стероид-резистентные и стероид-чувствительные на геномном и негеномном молекулярном уровне.

Теоретическая и практическая значимость работы

Разработан комплекс диагностических биомаркеров тяжести течения и рефрактерности к СГК у больных тяжелыми буллезными дерматозами на основании методов машинного обучения (метод «опорных векторов»), включавшего следующие параметры: HLA аллели DRB1 и DQB1 II класса, экспрессию α - и β -изоформ ГР, полиморфизм A3669G β -изоформы ГР, а также исследование цитокинового, хемокинового профилей и гранулизина в сыворотке и пузырной жидкости.

Пузырная жидкость может быть использована для диагностики и дифференциальной диагностики пузырных дерматозов, а также для прогнозирования тяжести течения и рефрактерности больных к проводимой терапии. Результаты гистологического исследования кожи и анализ пузырной жидкости могут также представить комплиментарную информацию и должны интерпретироваться вместе. Кроме того, необходимо при проведении биопсии оценивать уровень формирования пузыря (эпидермальный, субэпидермальный), а также уровень воспаления и лейкоцитарной инфильтрации.

Разработана комбинированная схема терапии плазмаферезом и человеческим внутривенным иммуноглобулином стероид-резистентных больных пузырчаткой на фоне снижения малых доз СГК, которая позволяет в 94% случаев достичь полной ремиссии заболевания, ускорить снижение дозы преднизолона, а также предотвратить возникновение рецидивов в среднем на 2,87 года.

Методология и методы исследования

Методология исследования разработана в соответствии с поставленной целью, а также стандартов доказательной терапии и рекомендаций по иммуногенетике аутоиммунных заболеваний (STROBE, STREGA guidelines).

Протокол исследования зарегистрирован в системе clinicaltrials.gov под номером NCT05284929. Работа выполнена в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом (протокол №03-22 от 03.02.2022).

Проведено открытое, простое, проспективное сравнительное, нерандомизированное исследование случай-контроль с элементами проспективного когортного наблюдения. В качестве объекта исследования рассматривались больные буллезными дерматозами (АП, БП, ССД/ТЭН). В качестве предмета исследования – особенности клинико-лабораторных, иммуногенетических, цитокиновых и молекулярно-биологических показателей при данных тяжелых и жизне-угрожающих заболеваниях, а также возможность прогнозирования тяжести течения патологического процесса, стероидной резистентности и оптимизации адъювантной терапии (комбинированная терапия плазмаферезом и IVIG).

Проведено обследование 252 человек (160 больных буллезными дерматозами и 92 здоровых доноров). В соответствии с критериями включения и исключения было отобрано и детально обследовано 150 пациентов. Выполнены исследования цитокинового и хемокинового профиля, а также оценка эффективности комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и внутривенным человеческим иммуноглобулином.

В общей сложности были проанализированы 7 основных групп пациентов: АП, БП, ССД/ТЭН (согласно патоморфологической и клинической картине); стероид-резистентные (по консенсусу Murrell 2008) и стероид-чувствительные; группа пациентов получавших монотерапию СГК и группа больных получавших комбинированную терапию СГК, плазмаферезом и IVIG. Среди исследуемых пациентов также были выделены подгруппы с учетом тяжести заболевания (по шкалам PDAI, BPDAI, BSA, SCORTEN).

Исследование базировалось на принципах доказательной медицины и реализовывала поставленные задачи, осуществлялось на основе комплекса современных общенаучных методов и подходов. В ходе проводимой работы были соблюдены основные методологические принципы (целостность, комплексность, объективность и достоверность), использовались клинические, иммунологические, иммуногенетические (типирование HLA-DRB1/DQB1 методом ПЦР в реальном времени, генотипирование rs6198 методом TaqMan), молекулярно-биологические (экспрессия мРНК α - и β -изоформ ГР методом ПЦР), биохимические (определение цитокинов, хемокинов и гранулизина методом ИФА), морфологические (иммуногистохимия, прямая РИФ), статистические методы, а также модели машинного обучения для прогноза СР. Был проведён анализ результатов для выявления ключевых особенностей и улучшения стандартов диагностики, дифференциальной диагностики и лечения аутоиммунных и лекарственно-индуцированных БД. При выполнении исследования использовались российские и международные научные базы данных: PubMed, Medscape, Google Scholar, eLIBRARY.RU, Scopus).

Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления диссертационного исследования. Планирование работы, поиск и анализ литературы по теме диссертации, набор пациентов, формирование базы данных, статистическая обработка, обобщение и анализ полученных результатов, формулировка выводов, написание статей и текста диссертации выполнены автором лично. Вклад Лепеховой А.А. является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от определения цели и постановки задач до клинической реализации исследования, анализа результатов, представления их на мероприятиях международного уровня и предложений практических рекомендаций.

Положения, выносимые на защиту

1. С буллезным пемфигоидом ассоциированы аллели HLA-DRB1*14, DRB1*04, DRB1*04:02 и DQB1*03:02. Предиктором развития синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза является аллель HLA-DRB1*14. HLA-DRB1*04, DRB1*14, DRB1*04:02, DRB1*14:05, DQB1*03:02 аллели и гаплотипы DRB1*04/DQB1*05, DRB1*14/DQB1*03, DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*04:02/DQB1*05:01, DRB1*04:02/DQB1*03:02, DRB1*14:05/DQB1*03:02, DRB1*14:04/DQB1*03:02 предрасполагают к развитию акантолитической пузырчатки. DRB1*11, DRB1*16, DRB1*3, DRB1*11:04 и DQB1*03:01 аллели исключали ее развитие.

2. Равнозначное повышение уровней α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов у больных пузырчаткой, буллезным пемфигоидом, синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом по сравнению с группой контроля связано с компенсаторным ответом на воспаление, вызванным аутоиммунной и цитотоксическими реакциями и тенденцией к увеличению экспрессии β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов у стероид-резистентных больных акантолитической пузырчаткой. На основе логистической регрессии была разработана формула, свидетельствующая о том, что вероятность развития буллезного дерматоза превышает 50% при увеличении экспрессии α -изоформы глюкокортикоидного рецептора до уровня 36,7 единиц и выше.

3. Полиморфизм A3669G β -изоформы глюкокортикоидного рецептора предрасполагает к развитию пузырчатки и является генетическим предиктором стероидной резистентности, а также более тяжелого течения заболевания. Аллель A ассоциируется с адекватным ответом на терапию СГК, тогда как аллель G является предиктором развития стероидной резистентности.

4. Метод опорных векторов демонстрирует более высокую вероятность развития стероидной резистентности у больных буллезными дерматозами, особенно у больных пузырчаткой при наличии DQB1*05:02, DRB1*13:02, DQB1*02:01, DQB1*05:01, DQB1*03:01 аллелей, тогда как присутствие аллелей DQB1*06:02, DQB1*01:01, DQB1*04:03, и DQB1*06:03

повышает вероятность адекватного ответа на терапию СГК, что позволяет на геномном уровне классифицировать больных буллезными дерматозами на стероид-резистентных и стероид-чувствительных.

5. Метод машинного обучения с учетом категориальных признаков (CatBoost) и метод «случайного леса» наиболее точно предсказывают вероятность стероидной резистентности у больных буллезными дерматозами при наличии следующих ключевых признаков: высокий уровень IL15, IL4 и CXCL8 в пузырьной жидкости, высокий уровень гранулизина в сыворотке, диагноз акантолитическая пузырчатка, тяжесть пузырчатки и наличие сахарного диабета 2 типа в качестве сопутствующего заболевания.

6. Анализ пузырьной жидкости (IL4, IL10, TNF- α , CCL11, CXCL8, гранулизин) может быть использован в качестве экспресс-диагностики, дифференциальной диагностики тяжелых буллезных дерматозов, а также прогноза тяжести течения и ответа на терапию при данных заболеваниях.

7. Комбинированная терапия плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином в процессе снижения малых доз СГК демонстрирует высокую клиническую эффективность и иммуномодулирующее действие у больных стероид-резистентной формой акантолитической пузырчатки.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук соискателя кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) соответствует научным специальностям 3.1.23. Дерматовенерология (пункты №2, 3, 4, 5, 6, 8), 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (пункты №1, 9, 12, 13, 17, 20).

Степень достоверности и апробация результатов

Автором обследованы 150 больных тяжелыми буллезными дерматозами. Выводы и практические рекомендации диссертации основаны на результатах обследования большой выборки. План обследования пациентов соответствовал цели и задачам исследования. Результаты работы научно обоснованы. Достоверность полученных результатов подтверждена проведенным статистическим анализом. Первичная документация (протоколы исследований, компьютерные базы данных, анкеты) проверена и соответствует материалам, включенным в диссертацию.

Материалы диссертации изложены на юбилейной научно-практической конференции Московского общества дерматовенерологов и косметологов (Москва, октябрь 2021 г.); третьем мировом конгрессе по дерматологии и эстетической медицине (3-d World Congress on

Dermatology and Aesthetic Medicine, Париж, Франция, март 2021 г.); 31-м конгрессе Европейской академии дерматологии и венерологии (31st EADV Congress, Милан, Италия, сентябрь 2022 г.); международной конференции «Проблемы и инновации в практике врача-дерматовенеролога» (ноябрь 2022 г.); 25-м Всемирном конгрессе дерматологии (25th World Congress of Dermatology, Сингапур, июль 2023 г.); XXII, XXIV и XXV Всероссийских съездах дерматовенерологов и косметологов (Москва, сентябрь 2022, 2024 и 2025 гг.); весеннем симпозиуме Европейской академии дерматологии и венерологии (EADV Spring Symposium 2025, Прага, Чехия, май 2025 г.); 34-м конгрессе Европейской академии дерматологии и венерологии (34th EADV Congress, Париж, Франция, сентябрь 2025 г.); VII Международной научно-практической конференции «Новые технологии и методы терапии в медицине» (Ташкент, Узбекистан, ноябрь 2025 г.);

Апробация работы состоялась 23 декабря 2025 года на совместной научно-практической конференции кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) и кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии им. академика П.В. Сергеева медико-биологического факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Пироговский Университет).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты, полученные в ходе исследования, используются в работе клиники кожных и венерических болезней УКБ№2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), в учебном процессе на кафедре кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и в учебном процессе кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии им. Академика П.В. Сергеева медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 35 работ, в том числе 5 научных 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 доктора наук; 7 статей в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus, 11 иных публикаций по результатам исследования, 1 учебное пособие, 3 главы в книге «Clinical Cases in

Exfoliative Dermatitis» (на английском языке), 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ, 7 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 5 зарубежных конференций).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 355 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав «Материалы и методы исследования», «Результаты», «Обсуждение», заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 3 клиническими примерами, 94 таблицами и 116 рисунками. Список литературы содержит 403 источника, из которых 35 отечественных и 368 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Определения и термины, используемые в работе:

1. Стероидная резистентность (СР) определялась как отсутствие ответа на терапию СГК в дозе 1,5 мг/кг/сут в течение 3-х недель (появление новых высыпаний, отсутствие заживления эрозий) согласно консенсусу Murrell D. F., 2008;

2. Тяжесть дерматозов оценивалась по шкалам PDAI (АП), BPDAI (БП), BSA и SCORTEN (ССД/ТЭН);

3. Диагнозы АП, БП и ССД/ТЭН устанавливались на основании клинической картины, гистологии, прямой реакции иммунофлюоресценции и определения антител IgG к десмоглеинам 1 и 3, BP180 и BP230 в соответствии с отечественными и международными клиническими рекомендациями.

Дизайн исследования

Работа выполнена в рамках четырёх клинических исследований: одного комбинированного исследования «случай–контроль» и трёх дополнительных проспективных когортных исследований (Таблица 1).

Таблица 1 – Дизайн и структура диссертационного исследования

Направление исследования	Тип исследования	Количество пациентов	Основные конечные точки	Примечание
1. HLA-типирование (DRB1, DQB1) + полиморфизм A3669G (rs6198) NR3C1, оценка экспрессии α - и β -изоформ ГР	Случай-контроль	150 больных + 92 контроля подгруппа A3669G: 72 АП + 92 контроля	Частоты аллелей/гаплотипов, ОШ, ассоциации с риском, тяжестью и СР, предиктивные модели МО ¹	Подгруппа репрезентативна ClinicalTrials.gov NCT05284929

Продолжение Таблицы 1

2. Цитокиновый/хемокиновый профиль (TNF- α , IL15, IL10, IL4, CXCL8, CCL11, гранулизин) в сыворотке и пузырьной жидкости	Проспективное контролируемое одноцентровое когортное наблюдательное (случай-контроль)	67 больных в активной стадии заболевания (43 АП, 11 БП, 13 ССД/ТЭН) + 43 контроля	Уровни биомаркеров, ассоциации со СР, дифференциальная диагностика, предиктивные модели МО ¹	Критерий: свежие пузыри ≤ 3 дней
3. Эффективность и безопасность комбинированной терапии (СГК + плазмаферез + IVIG ⁴) у стероид-резистентных больных АП	Проспективное неконтролируемое когортное	32 СР ⁺² АП (30 ВП, 2 ЛП)	Динамика PDAI, доля полной/частичной ремиссии, безопасность, рецидивы в течение 3 лет	–
4. Динамика цитокинового и хемокинового профиля, а также гранулизина до и после терапии	Сравнительное проспективное когортное	102 больных АП (32 СР ⁺² комбинированная терапия; 70 СР ⁻³ + монотерапия СГК)	Изменение уровней IL10, IL15, IL4, TNF- α , CCL11, CXCL8, гранулизина через 3 месяца	Оценка иммуномодулирующего действия IVIG
Примечание: ¹ МО – машинное обучение, СР ⁺² - стероид-резистентные больные, СР ⁻³ – стероид-чувствительные больные, ⁴ – внутривенный человеческий иммуноглобулин				

В исследование случай-контроль всего входило 150 больных БД (пациенты, «случаи») из них 107 больных АП, 29 – БП, 14 – ССД/ТЭН. Группа контроля состояла из 92 здоровых доноров, сопоставимых по полу, возрасту и этнической принадлежности с группой больных, без аутоиммунных и тяжёлых хронических заболеваний в анамнезе. Следует отметить, что генотипирование полиморфизма A3669G (rs6198) гена NR3C1 β -изоформы ГР проводилось в подгруппе пациентов с АП (n=72). Данная подгруппа не отличалась от общей когорты по полу, возрасту и тяжести заболевания ($p > 0,05$), что подтверждает ее репрезентативность (Рисунок 1, 2).

Параллельно проводилось когортное наблюдательное исследование случай-контроль (рисунок 1, 2). Концентрации хемокинов, цитокинов и гранулизина в сыворотке крови и пузырьной жидкости определяли у 67 больных БД в активной стадии заболевания (наличие свежих пузырей ≤ 3 дней); 43 больных АП, 11 – БП, 13 – ССД/ТЭН и у 43 здоровых доноров.

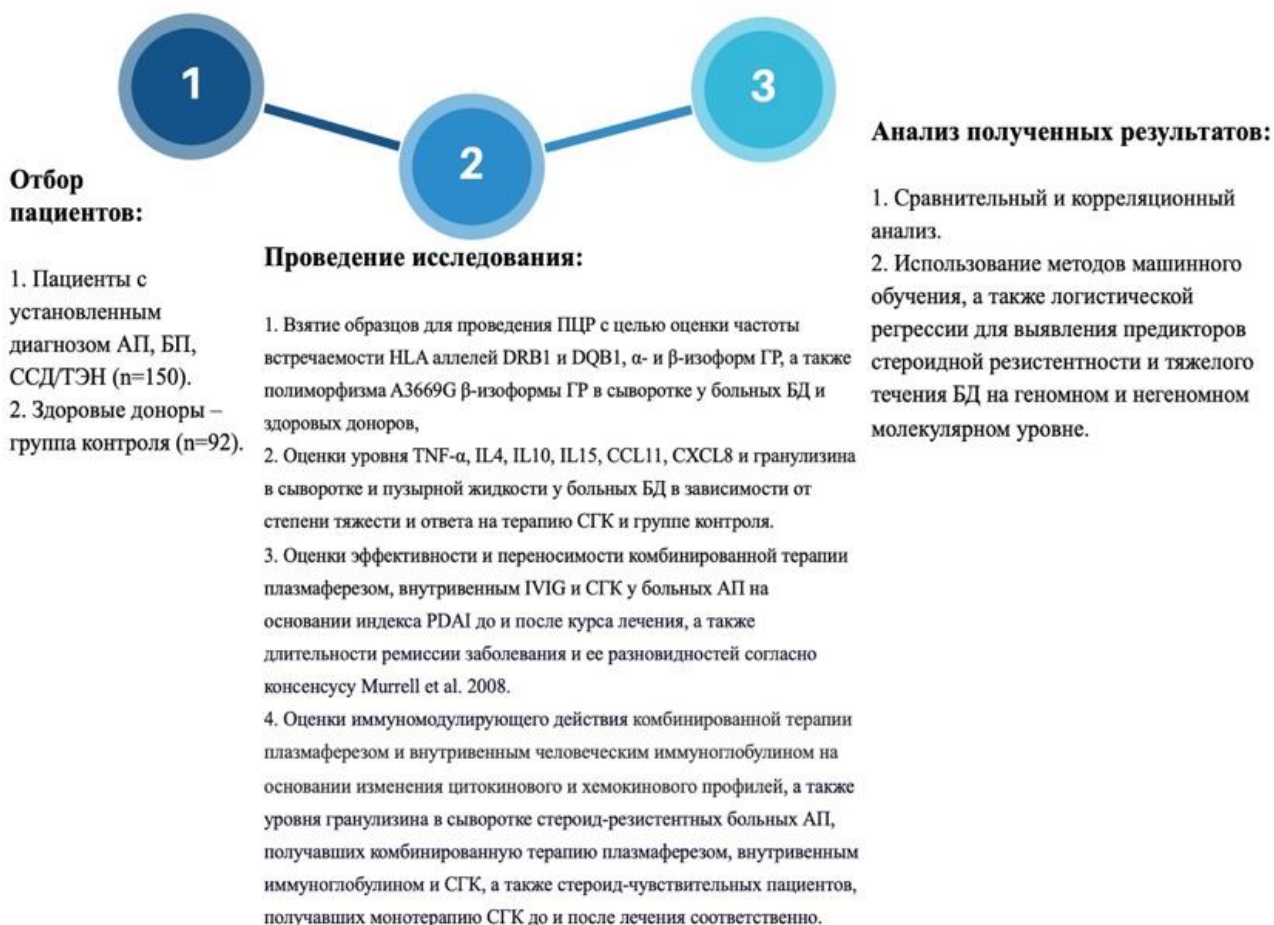
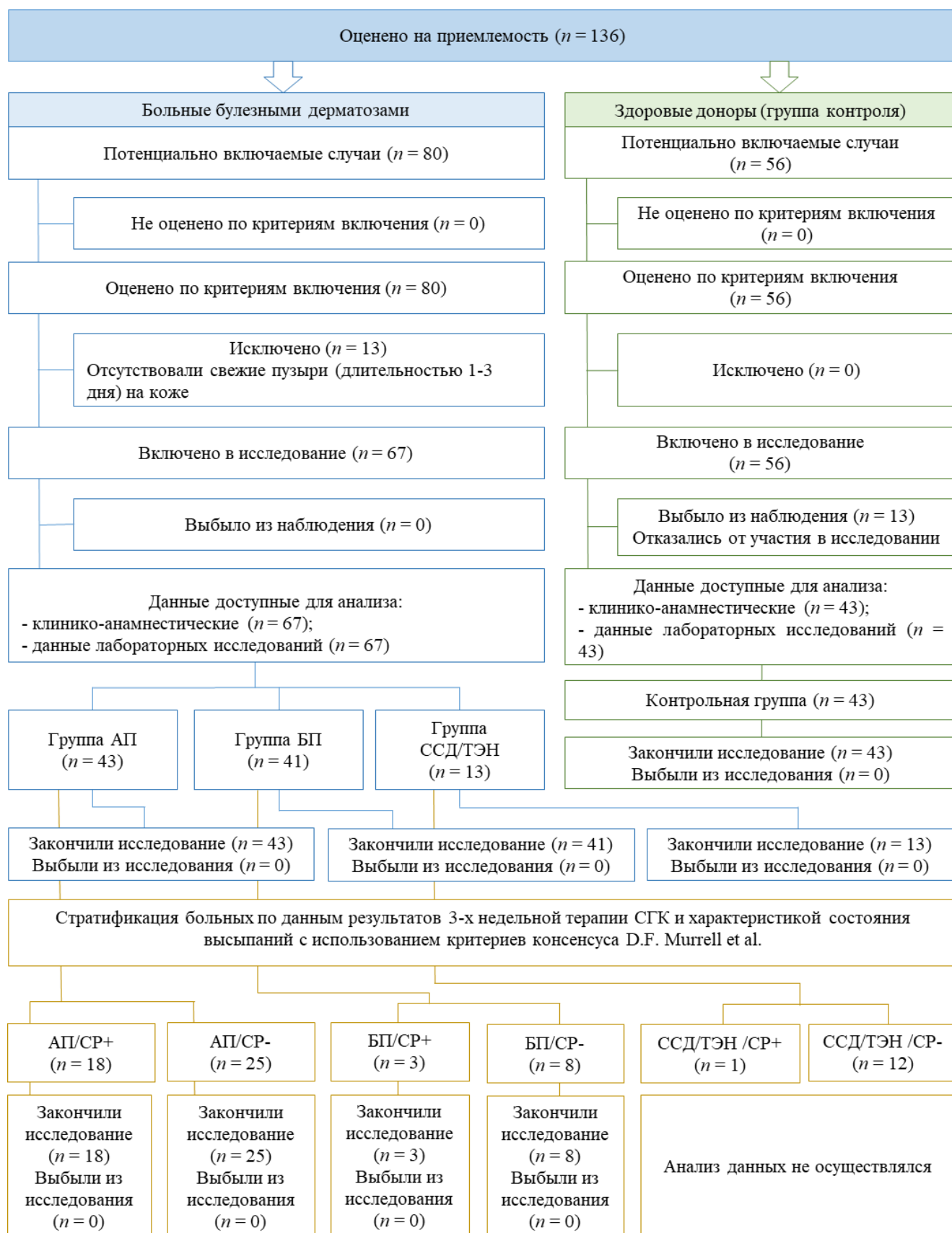


Рисунок 1 – Общий дизайн исследования (авторский рисунок)

Сокращение числа пациентов по сравнению с общей когортой обусловлено строгим критерием включения – обязательным наличием свежих пузырей на момент забора материала (Рисунок 1, 2). Далее каждая группа пациентов делилась на стероид-резистентных и стероид-чувствительных, а также по степени тяжести заболеваний согласно клиническим индексам PDAI, BPDAI, BSA и SCORTEN. Группы АП и БП по полу и возрасту были сопоставимы ($p > 0,05$; $\alpha = 0,05$). Пациенты с ССД/ТЭН были на 10 лет моложе. По степени тяжести группы были не сопоставимы из-за различий распределения категорий.



Примечания: блок-схема выполнена согласно рекомендациям STROBE. Сокращения: АП - акантолитическая пузырчатка; БП - булезный пемфигоид; ССД - синдром Стивенса-Джонсона; ТЭН - токсический эпидермальный некролиз; СГК - системные глюкокортикостероиды; СР+ - стероид-резистентные; СР- - стероид-чувствительные

Рисунок 2 – Дизайн когортного наблюдательного исследования случай-контроль (авторский рисунок)

В проспективное неконтролируемое когортное исследование было включено 32 стероид-резистентных больных АП (30 ВП, 2 ЛП; средний возраст 55 лет, 59% женщин). До комбинированной терапии (СГК + плазмаферез + IVIG) пациенты получали преднизолон в дозе $72,7 \pm 10,4$ мг/сут и азатиоприн ($n=30$) или ритуксимаб ($n=2$); СР определяли согласно консенсусу Murrell et al., 2008.

Схема лечения включала 4 сеанса дискретного плазмафереза через день (объем удаленной плазмы – 600-800 мл за процедуру). Сразу после завершения курса плазмафереза к проводимому лечению добавлялся IVIG, который вводился в дозе 0,04 г/кг ежедневно в течение 5 последовательных дней (общая доза на курс – 0,2 г/кг). 84% пациентов получили 3 курса с интервалом 6 месяцев, 16% – 5 курсов. Период наблюдения составил 3 года.

В проспективном когортном исследовании по оценке концентрации хемокинов, цитокинов и гранулизина, а также динамики данных показателей у стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных АП в сыворотке до и после лечения монотерапией СГК и комбинированной терапией плазмаферезом и IVIG принимали участие 102 больных АП. Из них: 32 стероид-резистентных пациента (СГК + плазмаферез + IVIG) и 70 стероид-чувствительных (монотерапия СГК). Соотношение групп соответствовало естественной клинической распространенности СР согласно данным литературы [Harman К.Е., 2017]. Группы были сопоставимы по полу и возрасту.

Критерии включения пациентов в исследование: наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании, женщины и мужчины старше 18 лет, подтвержденные гистологически и иммуногистохимически диагнозы АП, БП, ССД/ТЭН.

Критерии невключения пациентов в исследование: возраст младше 18 лет, пациенты, которые по какой-либо причине не смогут завершить участие в исследовании (отсутствие комплаенса и другие), аллергические реакции на человеческий иммуноглобулин (IVIG).

Критерии исключения пациентов из исследования: отказ пациента от дальнейшего участия в исследовании, невыполнение протокола.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

В представленной работе принимали участие 150 больных буллезными дерматозами (БД): 107 больных АП, из них – 86 (80,4%) – вульгарной пузырчаткой (ВП), 13 (12,1%) – листовидной (ЛП), 6 (5,6%) – паранеопластической (ПНП) и 2 (1,9%) – вегетирующей (ВегП); 29 (19,3%) – БП; и 14 (9,33%) – из группы тяжелых буллезных аллергических реакций – ССД/ТЭН. Группа контроля состояла из 92 здоровых доноров.

Для всех без исключения диагнозов среди больных преобладали женщины, что в свою очередь может указывать на большую уязвимость именно женщин в случае данных видов заболеваний и согласуется с данными литературы [Kridin K., 2021] (Рисунок 3).

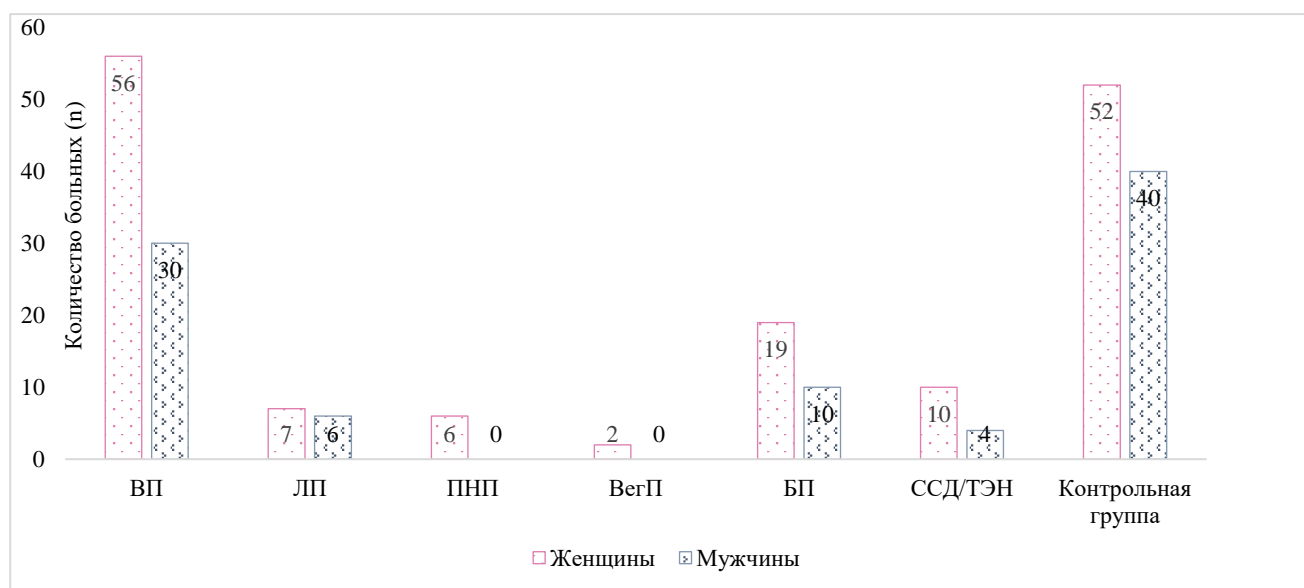


Рисунок 3 – Столбчатая диаграмма распределения женщин и мужчин для различных диагнозов и контрольной группы (авторский рисунок)

Пациенты с БП и ПНП были наиболее старшими: средний возраст в группе БП – 60 лет, в группе ПНП – 63,5 года. Средний возраст всех больных БД составил 55 лет, при ВП – 53 года. Группы АП, ССД/ТЭН и контроля были сопоставимы по возрасту ($p > 0,05$). Группа БП значимо старше, что соответствует мировой литературе (возраст дебюта БП 65–75 лет) [Kridin K., 2018].

Среди пациентов с БП, АП и ССД/ТЭН преобладала средняя степень тяжести заболевания (55%, 59% и 43% случаев соответственно). Легкая степень тяжести встречалась достоверно реже при всех нозологиях ($p < 0,05$) (Таблица 2).

Таблица 2 – Распределение больных по степени тяжести буллёзных дерматозов

Заболевание	Лёгкая степень, n (%)	Средняя степень, n (%)	Тяжёлая степень, n (%)
АП	21 (20)	59 (55)	27 (25)
БП	2 (7)	17 (59)	10 (34)
ССД/ТЭН	4 (28,5) ¹	6 (43) ²	4 (28,5) ³

Примечания: ¹ - ССД, ² - ССД-ТЭН (перекрестный), ³ - ТЭН

Следует отметить, что в проводимом исследовании СР преобладала в группе ВП – 30 больных из 86. Реже она наблюдалась у больных ЛП, БП и ССД/ТЭН. Так, в группе ЛП только двое больных из 13 были стероид-резистентными; в группах БП и ССД/ТЭН СР отмечалась у трех из 29 больных и одного из 14 больных соответственно (Рисунок 4).

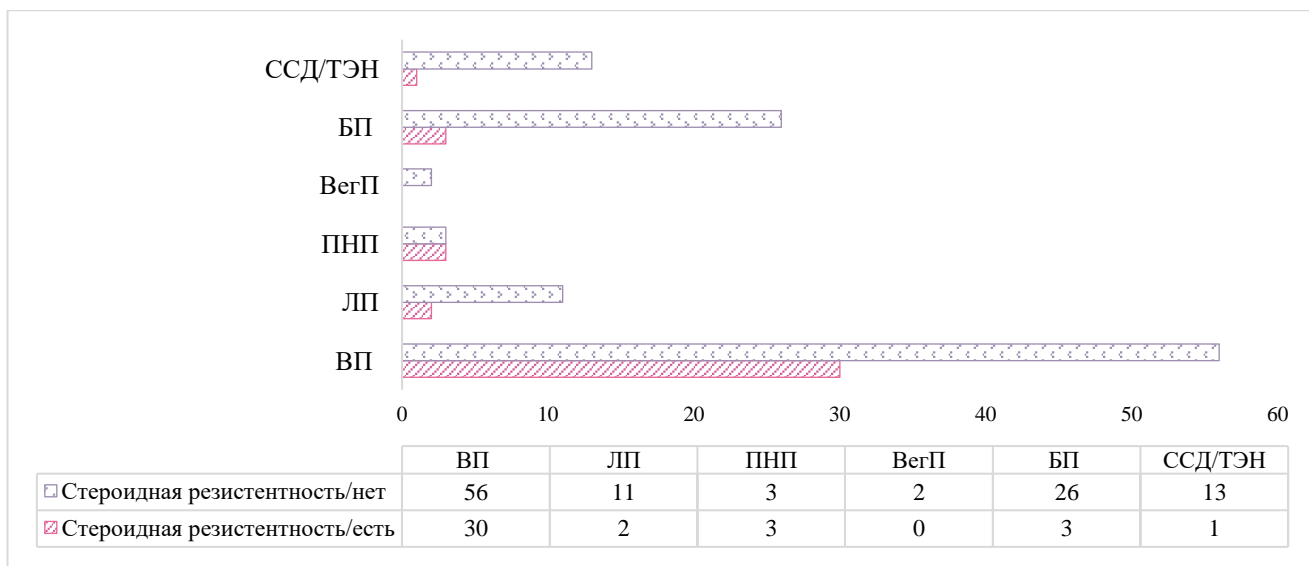


Рисунок 4 – Распространенность стероидной резистентности у пациентов в зависимости от установленного диагноза (авторский рисунок)

Из полученных результатов следует, что СР была более выражена у больных АП тяжелой степени тяжести (45%; $p > 0,05$) (Рисунок 5).

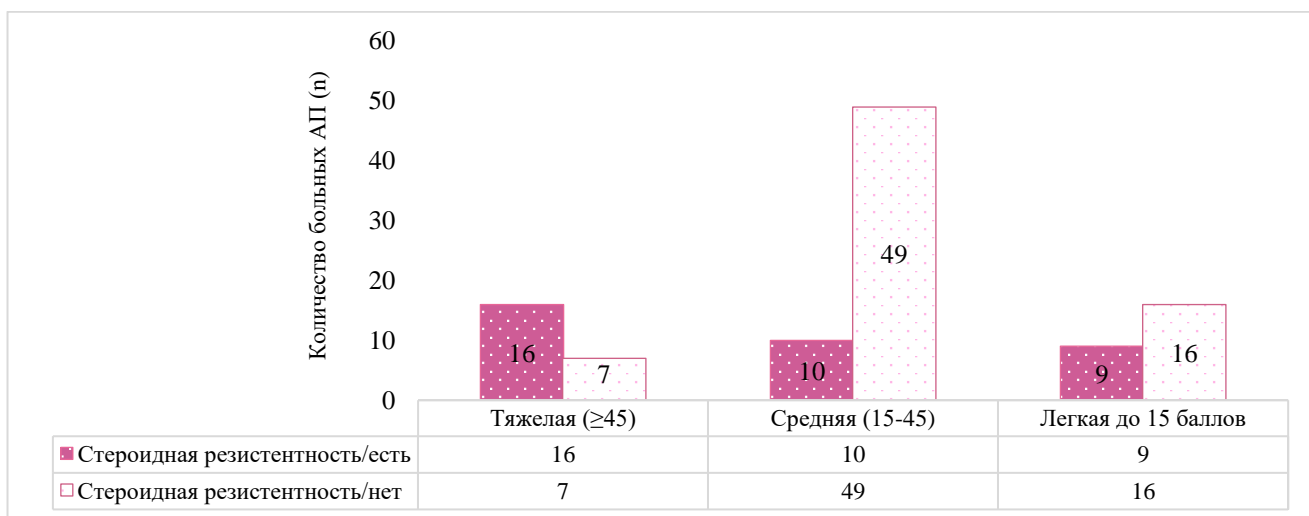


Рисунок 5 – График распределения пациентов в зависимости от наличия стероидной резистентности для разной степени тяжести пузырьчатки (авторский рисунок)

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение частоты встречаемости HLA-аллелей DRB1 и DQB1, а также гаплотипов у больных тяжелыми буллезными дерматозами на уровне высокого и низкого разрешений

У всех пациентов забирали кровь для HLA-типирования аллелей DRB1 и DQB1 в низком и высоком разрешении. ДНК экстрагировали с использованием набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Германия). Типирование проводили методом ПЦР-SSP с 50 нг ДНК и специфическими праймерами (наборы HISTOTYPE SSP, BAG, Германия; AllSet+™ Gold SSP, Invitrogen, США). Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 2% агарозном геле с окраской бромистым этидием и анализировали с помощью ПО HISTO MATCH (Германия).

Оценка экспрессии α - и β - глюкокортикоидных рецепторов у больных тяжелыми буллезными дерматозами

Мононуклеарные клетки выделяли из образцов гепаринизированной крови (20 мл) с использованием метода градиента плотности Ficoll-Paque Plus и культивировали в среде RPMI - 1640 с 10% FCS в присутствии/отсутствии дексаметазона (10^{-7} - 10^{-8} М) и/или LPS (100 нг/мл) в течение 19 часов. Экспрессию мРНК α - и β -изоформ ГР оценивали количественной ПЦР в реальном времени (SYBR Green, термоциклер IQ5 Bio-Rad). В качестве контроля служили транскрипты глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы человека (GAPDH, NM_002046) и β -актина человека.

Оценка полиморфизма A3669G гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора

Присутствие однонуклеотидного полиморфизма A3669G определяли методом анализа плавления с высоким разрешением (HRM) с последующим подтверждением прямым секвенированием. Анализ данных HRM проводили с использованием ПО Precision Melt Analysis (Bio-Rad). ПЦР выполняли в двух повторах с 30 нг геномной ДНК и 2,5 мкМ каждого праймера. Продукты ПЦР денатурировали при 95°C 30 с, охлаждали до 60°C для образования гетеродуплексов, затем проводили стадию денатурации (95°C, 2 мин) и 45 циклов амплификации с денатурацией при 95°C. Сбор данных HRM осуществляли в диапазоне температур 65-90°C.

Определение концентрации TNF- α , CCL 11, CXCL 8, IL5, IL4, IL10, гранулизины в сыворотке и пузырной жидкости у больных тяжелыми буллезными дерматозами

Венозную кровь (5 мл) из кубитальной вены забирали в пробирки с ЭДТА, пузырную жидкость (0,2-0,5 мл) – инсулиновым шприцем в пробирки Эппендорф. Образцы аликвотировали и хранили при -80°C . Уровни цитокинов, хемокинов и гранулизины в сыворотке определяли мультиплексным анализом (Luminex 200, набор MILLIPLEX Human Cytokine Panel I, 7-plex, Millipore, США), в пузырной жидкости – ИФА (гранулизины – набор Human Granulysin ELISA Kit, R&D Systems, США; остальных – собственные протоколы). Анализы проводили в трёх повторах с расчётом концентраций по стандартным кривым (5-параметрическая логистическая регрессия или сплайн-аппроксимация).

Статистическая обработка материала

Статистический анализ выполнен в JASP 0.16, IBM SPSS 27, R и PAST 4.12. Количественные данные представлены как медиана [Q1; Q3] или $M \pm SD$; сравнение групп – U-критерий Манна-Уитни, t-критерий Стьюдента, ANOVA с пост-хок Данна; для HLA – точный критерий Фишера с коррекцией Бенджамини–Хохберга. Прогностические модели построены с помощью логистической регрессии, «Random Forest», «CatBoost» и SVM; качество оценивали по «ROC-AUC», «Precision», «Recall» и кросс-валидации. Критический уровень значимости $p < 0,05$.

Распространенность аллелей и гаплотипов HLA-DRB1 и DQB1, полиморфизма A3669G (rs6198) гена NR3C1, а также экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов: результаты исследования случай-контроль

В низком разрешении аллели HLA-DRB1*04 и DRB1*14 статистически значимо чаще выявлялись при всех клинических формах АП (ВП, ЛП, ПНП) по сравнению с группой контроля (p от 10^{-7} до 0,015). Напротив, аллели DRB1*11, DRB1*16 и DRB1*03 преобладали в группе здоровых доноров (Рисунок 6).

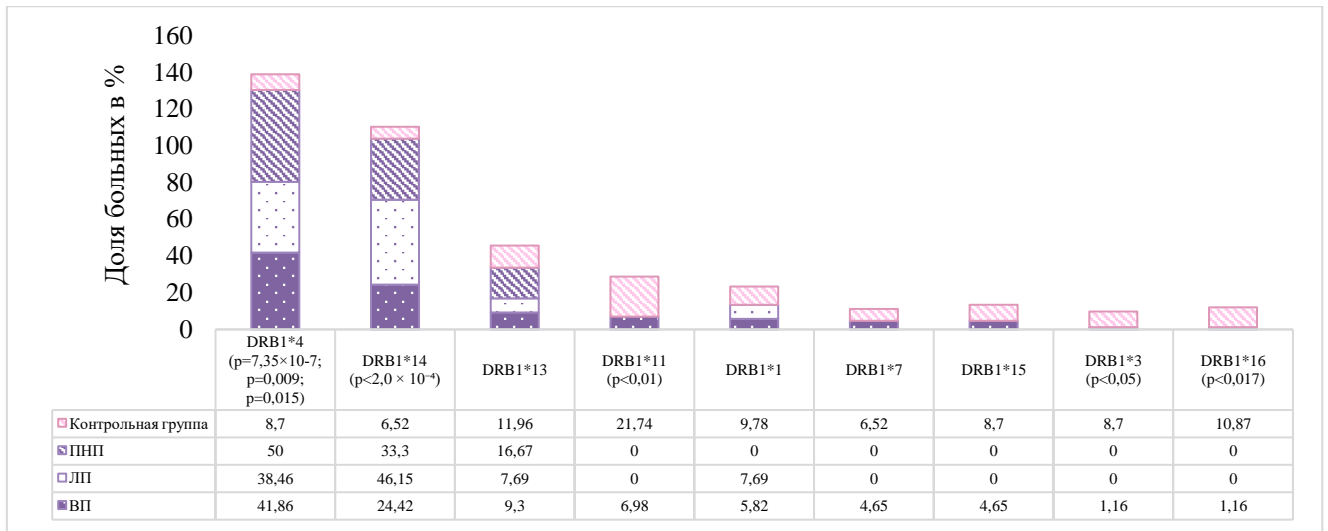


Рисунок 6 – Частотное распределение HLA-DRB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных разными формами АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

В высоком разрешении при ВП и ЛП достоверно чаще выявлялись аллели HLA-DRB1*04:02 (30,8-34,9% против 5,43% в контроле; $p < 10^{-5}$) и DRB1*14:05 (16,3%-23,1% против 3,26%; $p \leq 0,02$). Аллель DRB1*11:04 при ВП встречался в 3,1 раза реже, чем у здоровых доноров ($p=0,048$) (Рисунок 7).

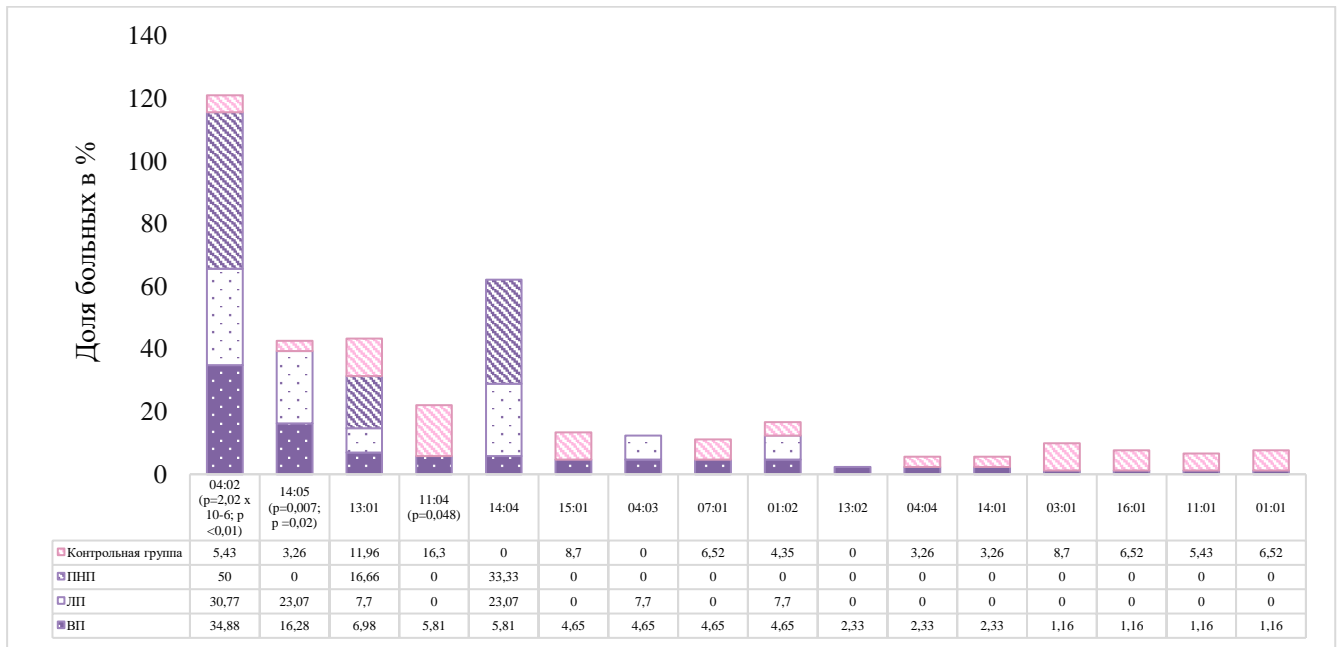


Рисунок 7 – Частотное распределение HLA-DRB1 аллелей на уровне высокого разрешения у больных разными формами АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

В низком разрешении значимых различий по локусу HLA-DQB1 не выявлено. При этом в высоком разрешении при ВП значимо чаще регистрировались аллели DQB1*03:02 (29,1% против

14,1%; $p=0,03$) и DQB1*05:03 (26,7% против 10,9%; $p=0,01$); реже – DQB1*03:01 (8,1% против 19,6%; $p=0,048$). При ЛП – DQB1*03:02 (53,8% против 14,1%; $p=0,002$). При ПНП – DQB1*05:03 (50% против 10,9%; $p=0,034$) (Рисунок 8).

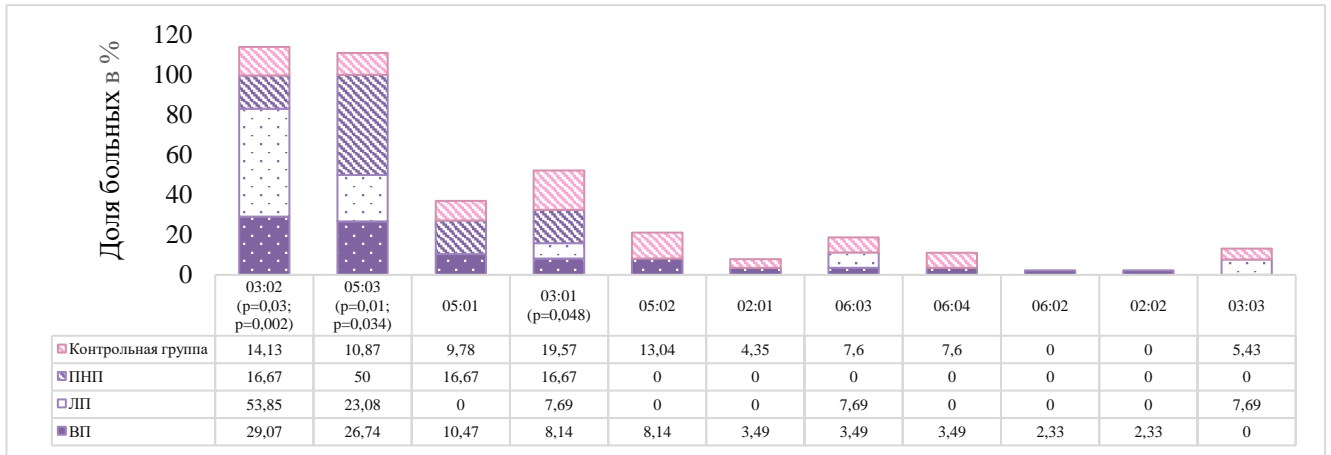


Рисунок 8 – Частотное распределение HLA-DQB1 аллелей на уровне высокого разрешения у больных разными формами АП и здоровых доноров (авторский рисунок)

На уровне низкого разрешения, аллельный вариант DRB1*04 в 4 раза чаще встречался в группе больных БП (27,59%) по сравнению с группой контроля (8,7%; $p=0,02$). Вероятность обнаружения DRB1*14 аллеля у больных БП (31,03%) была в 6,45 раз выше, чем для группы здоровых доноров (6,52%; $p=0,0015$) (Рисунок 9).

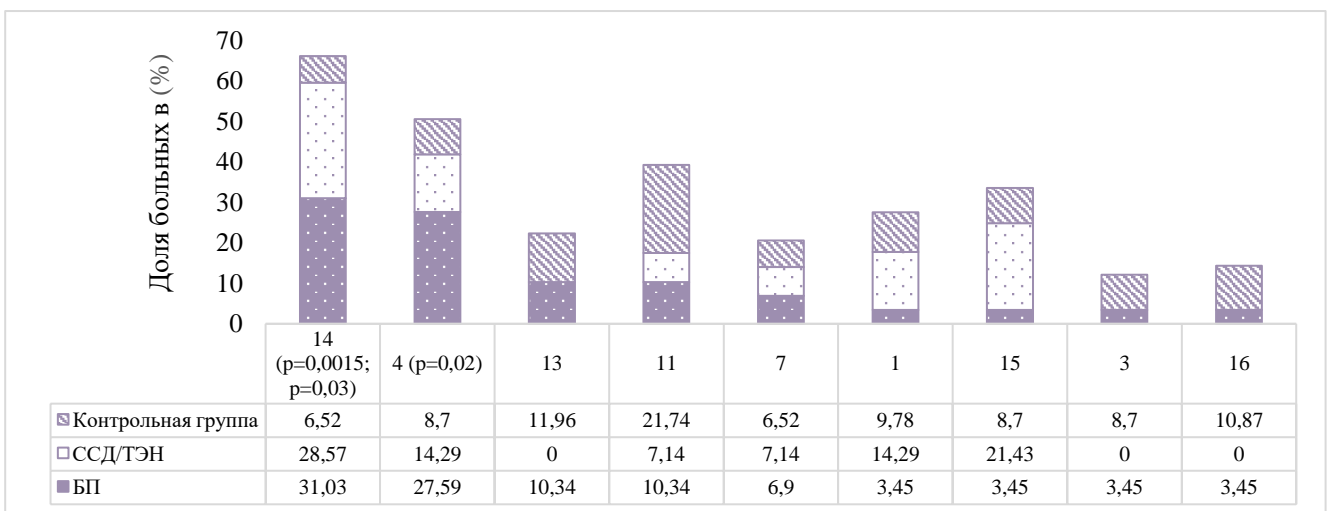


Рисунок 9 – Частотное распределение HLA-DRB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных БП, ССД/ТЭН и контрольной группы (авторский рисунок)

У больных ССД/ТЭН статистически значимо чаще встречался DRB1*14 аллель (28,57%; $p=0,03$) по сравнению со здоровыми донорами (6,52%) (Таблица 3).

Таблица 3 – Распределение HLA-DRB1 аллелей на уровне низкого разрешения у больных ССД/ТЭН и контрольной группы, абс. (%)

DRB1	Участники исследования, n (%)		Статистическая обработка		
	Пациенты	Контрольная группа	Отношение шансов (ОШ)	Доверительный интервал (ДИ)	p
14	4 (28,57)	6 (6,52)	5,73	1,38–23,83	0,03*
15	3 (21,43)	8 (8,70)	2,86	0,66–12,43	0,32
1	2 (14,29)	9 (9,78)	1,54	0,30–7,98	0,96
4	2 (14,29)	8 (8,70)	1,75	0,33–9,24	0,86
12	1 (7,14)	6 (6,52)	1,10	0,12–9,91	1
11	1 (7,14)	20 (21,74)	0,28	0,03–2,25	0,36
7	1 (7,14)	6 (6,52)	1,10	0,12–9,91	1
Остальные аллели	-	29 (31,52)	НП	НП	НП

Примечание: НП – не применимо; * - значимые межгрупповые различия (p-value <0,05)

На уровне высокого разрешения у больных БП статистически значимо чаще встречался аллель DRB*04:02 (n=7; 24,13%) по сравнению с группой контроля (n=5; 5,43%; p<0,01). По другим показателям статистически значимых различий выявлено не было.

У больных ССД/ТЭН наблюдалась тенденция к более высокой частоте встречаемости DRB1*15:01 аллеля (n=3; 21,43%) по сравнению с группой здоровых доноров (n=8; 8,7%; p=0,32) (Рисунок 10).

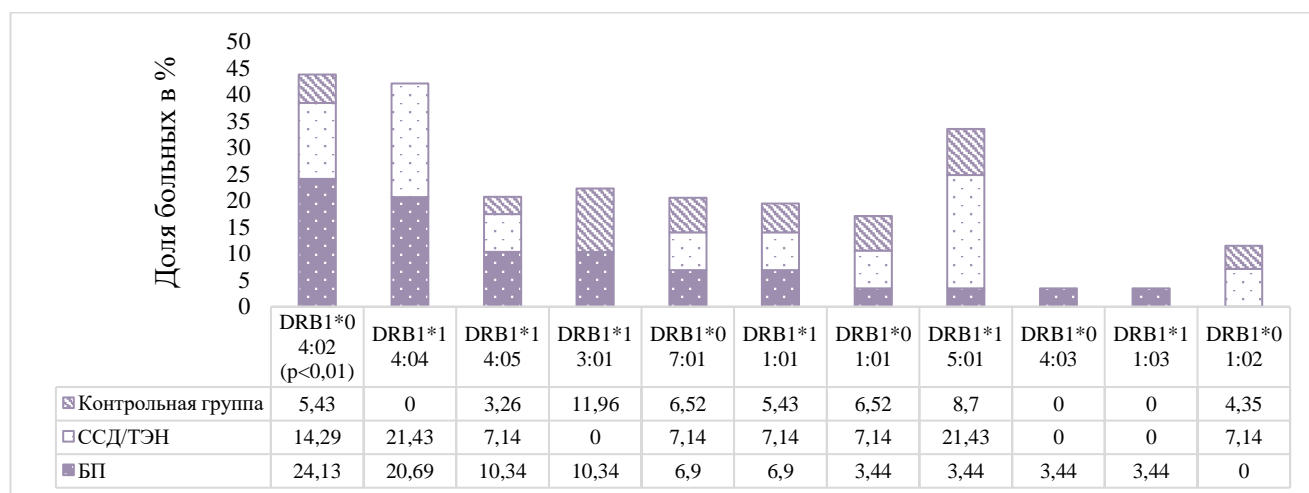


Рисунок 10 – Частотное распределение HLA-DRB1 аллелей на уровне высокого разрешения у больных БП, ССД/ТЭН и контрольной группы (авторский рисунок)

Для всех значений HLA-типирования DQB1, включая DQB1*01, DQB1*02, DQB1*03, DQB1*04, DQB1*05 и DQB1*06 аллели на уровне низкого разрешения у больных БП и ССД/ТЭН статистически значимых различий выявлено не было.

На уровне высокого разрешения у больных БП (n=11; 37,93%) статистически значимо чаще встречался HLA-DQB1*03:02 аллель по сравнению с группой контроля (n=13; 14,13%)

($p < 0,01$). Для остальных видов HLA-DQB1 аллельных вариантов статистически значимых различий не зарегистрировано.

Для всех видов HLA-типирования DQB1 на уровне высокого разрешения у больных ССД/ТЭН статистически значимых результатов зарегистрировано не было.

Таким образом, на уровне низкого разрешения аллели HLA-DRB1*04 и DRB1*14 ассоциированы с развитием пузырчатки (ВП и ЛП), БП, а также ССД/ТЭН (DRB1*14). При БП аллель DRB1*04 встречался в 4 раза чаще, чем в контрольной группе.

На уровне высокого разрешения аллель DRB1*04:02 являлся предрасполагающим фактором для развития всех форм пузырчатки, включая ПНП. Аллель DRB1*14:05 ассоциирован исключительно с ВП и ЛП. Аллель DRB1*11:04 обладал протективным эффектом в отношении развития пузырчатки в российской популяции.

По локусу HLA-DQB1 аллель DQB1*03:02 значительно чаще встречался у больных ЛП (ОШ 7,09) и ВП (ОШ 2,49), а также ассоциирован с БП; при ССД/ТЭН наблюдалась тенденция к повышению его частоты. Аллель DQB1*05:03 предрасполагал к развитию ВП и ПНП. Аллель DQB1*03:01 проявлял протективный эффект в отношении ВП. Аллель DQB1*01 не ассоциирован с развитием ССД/ТЭН.

Выявленные ассоциации аллелей HLA-DRB1 и DQB1 могут использоваться в качестве генетических маркеров предрасположенности и защиты к различным формам тяжелых БД в российской популяции.

Анализ влияния HLA-DRB1*04:02, DRB1*14:05 и DQB1*03:02 аллелей на резистентность к стероидам и тяжелое течение акантолитической пузырчатки и буллезного пемфигоида Левера

Аллель HLA-DRB1*04:02 выявлен у 37 (34,6%) из 107 больных АП. Обнаружена погранично значимая ассоциация DRB1*04:02 с развитием СР (ОШ = 2,36; 95% ДИ 0,99–5,64; $p = 0,053$) (Рисунок 11, Таблица 4).

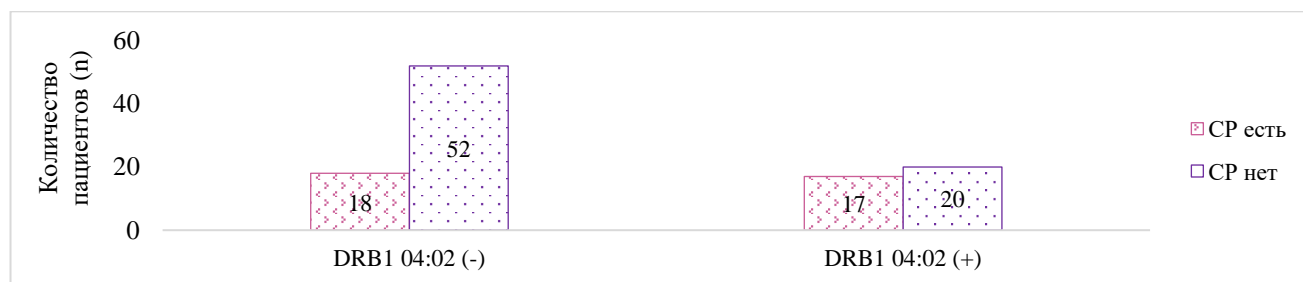


Рисунок 11 – Распределение стероид-резистентных и стероид-чувствительных больных АП в зависимости от наличия HLA-DRB1*04:02 аллеля (авторский рисунок)

HLA-DQB1*03:02 проявлял протективный эффект в отношении СР (ОШ 0,556; $p=0,282$). У СР больных АП DQB1*03:01 аллель значимо ассоциировался с тяжелым и рефрактерным течением заболевания (89%; $p=0,004$), тогда как HLA-DQB1*03:02 – с более умеренным (75%; $p=0,013$). HLA-DRB1*14 преимущественно регистрировался у больных БП средней степени тяжести (88,9% носителей; $p=0,008$); при ССД/ТЭН выявлена лишь тенденция к увеличению частоты встречаемости HLA-DQB1*03:02 аллеля при перекрестном синдроме ССД-ТЭН (Таблица 4).

Таблица 4 – Ассоциация аллелей HLA II класса с тяжестью течения и стероидной резистентностью у больных буллезными дерматозами

HLA-аллель	Заболевание	Частота носительства в общей группе	Частота СР среди носителей аллеля	Основная ассоциация среди носителей аллеля	ОШ (95% ДИ)	р-значение
DRB1*04:02	АП (n=107)	34,6% (37/107)	45,95% (17/37)	Тенденция к СР	2,36 (0,99-5,64)	0,053
DQB1*03:02	АП (n=107)	30,8% (33/107)	24,4% (8/33)	Тенденция к протективному у эффекту от СР	0,556 (0,22-1,39)	0,282
DQB1*03:01	АП, стероид-резистентные (n=35)	25,7% (9/35)	100% (9/9)	Тяжёлая степень тяжести (89% носителей аллеля) + СР	–	0,004 (общий) 0,013 (против 03:02)
DQB1*03:02	АП, стероид-резистентные (n=35)	11,42% (4/35)	–	Преобладание средней степени тяжести (75% носителей)	–	0,013 (против 03:01)
DRB1*14 (низкое разрешение)	БП (n=29)	58,6% (17/29)	–	Средняя степень тяжести (88,8% носителей аллеля; 8 из 9 пациентов)	–	0,008 (χ^2)
DQB1*03:02	ССД/ТЭН (n=14)	35,7% (5/14)	–	Тенденция к ассоциации с перекрестным синдромом ССД-ТЭН (60% носителей аллеля)	–	>0,05

Таким образом, аллель DQB1*03:01 ассоциирован с тяжелым и рефрактерным течением АП (89% носителей среди стероид-резистентных имели тяжёлую степень тяжести заболевания; $p=0,004$). Аллель DQB1*03:02 был связан с более благоприятным исходом АП (преобладала средняя степень тяжести), а также тенденцией к меньшей вероятности развития СР. Аллель DRB1*14 выявлялся преимущественно у больных БП средней степени тяжести. У больных с перекрестным ССД-ТЭН отмечалась лишь тенденция к повышению частоты встречаемости DQB1*03:02 аллеля.

Анализ распределения гаплотипов у больных буллезными дерматозами и их ассоциации со степенью тяжести и стероидной резистентностью

Выявлены сильные ассоциации гаплотипов DRB1*04/DQB1*05 (особенно DRB1*04:02/DQB1*05:03) и DRB1*14/DQB1*03 с риском развития АП (от $p=1,8 \times 10^{-5}$ до 0,008). При БП и ССД/ТЭН каких-либо значимых ассоциаций отдельных гаплотипов после коррекции на множественные сравнения обнаружено не было. Гаплотип DRB1*11/ DQB1*03 проявлял защитные свойства в отношении развития АП (Таблица 5). Значимых взаимосвязей гаплотипов с тяжестью течения заболевания и СР не выявлено. Отмечены лишь не достигшие статистической значимости тенденции к более высокой частоте встречаемости гаплотипов DRB1*14/DQB1*03 и DRB1*04/DQB1*05 у больных АП и БП средней степени тяжести, а также у стероид-чувствительных пациентов с АП. При ССД/ТЭН различий по подтипам заболевания также не обнаружено (Таблица 5).

Таблица 5 – Основные ассоциации гаплотипов HLA-DRB1/DQB1 с буллезными дерматозами

Гаплотип (разрешение)	Заболевание	Частота у больных	Частота в контроле (n=92)	ОШ (95% ДИ)	p-значение	Клиническое значение
DRB1*04/DQB1*05 (низкое)	АП (n=107)	35,5% (27/76)	2,2% (2/92)	–	$6,7 \times 10^{-4}$	Сильный фактор риска АП
DRB1*14/DQB1*03 (низкое)	АП	26,3% (20/76)	2,2% (2/92)	–	0,0086	Фактор риска АП
DRB1*04:02/DQB1*05:03 (высокое)	АП	15,9% (17/107)	0%	∞	$1,8 \times 10^{-5}$	Очень сильный фактор риска АП
DRB1*04:02/DQB1*05:01 (высокое)	АП	9,34% (10/107)	1,1% (1/92)	–	0,0097	Фактор риска АП
DRB1*04:02/DQB1*03:02 (высокое)	АП	7,5% (8/107)	1,1% (1/92)	–	0,0002	Фактор риска АП

Продолжение Таблицы 5

DRB1*14:05/ DQB1*03:02 (высокое)**	АП	4,7% (5/107)	0%	∞	0,002	Фактор риска АП
DRB1*14:04/ DQB1*03:02 (высокое)	АП	5,6% (6/107)	0%	∞	0,006	Фактор риска АП
DRB1*11/ DQB1*03 (низкое)	АП	0%	9,78%	0	<0,001	Защитный гаплотип
DRB1*14:04/ DQB1*03:02 (высокое)	БП (n=29)	10,3%	0%	∞	0,016 (0,16*)	Потенциальный фактор риска БП
DRB1*04:02/ DQB1*05:03 и др. ** (высокое)	БП	6,9% каждый	0%	∞	0,059 (н.з.*)	Тенденция к факторам риска БП
Редкие гаплотипы (не перечисленные)	БП	48,3%	77,2%	0,27	0,025	Защитный эффект редкого разнообразия
Любые отдельные гаплотипы	ССД/ТЭН (n=14)	–	–	–	>0,05 (все)	Значимых ассоциаций не выявлено
Примечание: после поправки Бонферрони ** DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*14:04/DQB1*05:02, DRB1*14:05/DQB1*03:02; * н.з. – статистически не значимо						

Таким образом, выявлены сильные ассоциации гаплотипов HLA-DRB1/DQB1 с риском развития АП. К наиболее значимым гаплотипам, предрасполагающим к развитию АП относились: DRB1*04/ DQB1*05, а также DRB1*14/ DQB1*03, DRB1*04:02/DQB1*05:03.

Другим значимыми факторам риска развития АП являлись DRB1*04:02 в сочетании с DQB1*05:01, DQB1*03:02, DRB1*14:05/DQB1*03:02 и DRB1*14:04/DQB1*03:02 (р от 0,0002 до 0,0097). Гаплотип DRB1*11/DQB1*03 проявлял защитные свойства в отношении развития АП (0% у больных против 4,3% в контроле, $p < 0,05$).

Связей гаплотипов с тяжестью течения и СР не установлено.

Оценка экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидного рецептора у больных акантолитической пузырчаткой, буллезным пемфигоидом, токсическим эпидермальным некролизом/синдромом Стивенса-Джонсона

Экспрессия мРНК α - и β -изоформ ГР в лимфоцитах периферической крови у больных БД была достоверно выше, чем у здоровых доноров ($p = 7,61 \times 10^{-37}$ и $p = 1,09 \times 10^{-33}$ соответственно). Выявлены пороговые значения (α -ГР $> 45 \times 10^3$ и β -ГР $> 23 \times 10^3$ копий кДНК/мкг мРНК), не встречавшиеся в контроле. Однако, несмотря на достоверно более высокую экспрессию α - и β -

ГР у больных БД в целом, в промежуточном диапазоне (α -ГР $36\text{--}45 \times 10^3$; β -ГР $14\text{--}23 \times 10^3$ копий) наблюдалось перекрытие значений между больными и здоровыми донорами.

У стероид-резистентных больных АП отмечена тенденция к более высокой экспрессии обеих изоформ, особенно β -изоформы ($p = 0,366$ и $p = 0,396$ соответственно) (Рисунок 12).

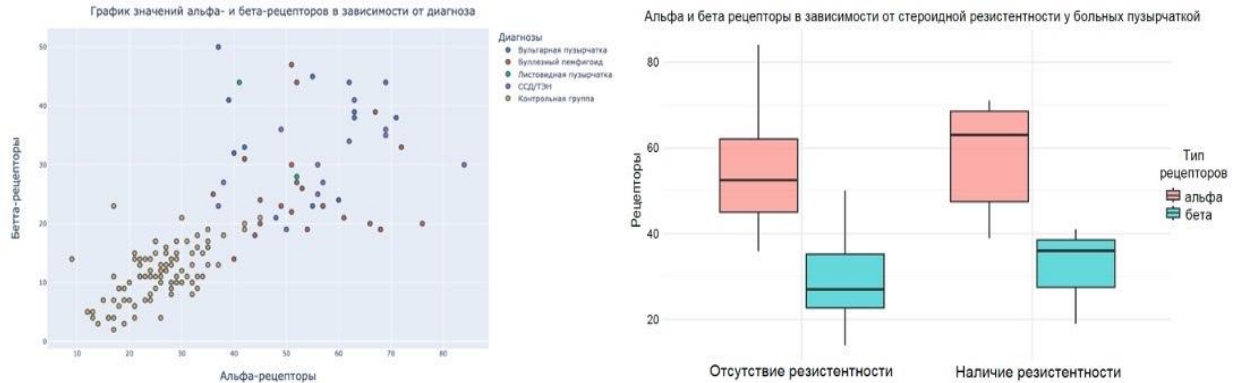


Рисунок 12 – Точечная диаграмма распределения значений α - и β -изоформ ГР для различных диагнозов и график по оценке экспрессии изоформ ГР в зависимости от стероидной резистентности у больных АП (авторский рисунок)

Таким образом, установленное равномерное увеличение экспрессии α - и β -изоформ ГР у больных АП, БП и ССД/ТЭН может быть интерпретировано как реакция на воспаление, направленная на компенсацию и регуляцию воспалительных процессов при аутоиммунных заболеваниях. Повышение экспрессии обеих изоформ ГР на лимфоцитах, вероятно, связано с адаптационным ответом организма на длительное воздействие воспалительных медиаторов.

Полученные данные указывают на перекрытие зон значений у больных и здоровых доноров и, следовательно, на возможную необходимость поиска дополнительных маркеров или применения дополнительных методов верификации диагноза.

У СР больных АП наблюдалась стойкая тенденция к более высокой экспрессии β -изоформы ГР на лимфоцитах, подтверждая ее роль в развитии неадекватного ответа на терапию СГК у таких пациентов.

Оценка частоты встречаемости полиморфизма (rs6198; A3669G) гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора у больных буллезным пемфигоидом и его ассоциации со стероидной резистентностью и степенью тяжести заболеваний

Полученные данные продиктовали провести оценку полиморфизма A3669G (rs6198) гена β -изоформы ГР у больных АП для определения его взаимосвязи с развитием СР, а также более тяжелого течения заболевания у этих больных.

Полиморфизм A3669G статистически значимо чаще регистрировался у больных АП (25%; 18/72) по сравнению с группой здоровых доноров (3,2%; 3/92) ($p < 0,001$). У этих же больных также преобладал гетерозиготный генотип AG (25% против 3,2%; $p < 0,001$). Генотип AG ассоциировался со СР (ОШ 4,89; 95 % ДИ 3,1–36,3; $p < 0,0001$), тогда как гомозиготный AA – с хорошим ответом на терапию СГК (95 % ДИ 1,6–15,4; $p = 0,008$) и умеренной степенью тяжести заболевания (Таблица 6). При БП (17,2%) и ССД/ТЭН 14,2%) частота полиморфизма не отличалась от таковой в группе контроля ($p > 0,05$) и не может рассматриваться в качестве генетического биомаркера этих заболеваний.

Таблица 6 – Распределение больных по генотипам в зависимости от стероидной резистентности

СР	Генотипы A3669G SNP					
	AG да	AG нет	GG да	GG нет	AA да	AA нет
Да	11	7	0	18	6	11
Нет	7	47	6	48	42	13
p-value	0,0001*		0,33		0,008*	
Отношения шансов	3,1-36,3		НП		1,6-15,4	
Примечание: НП – не применимо из-за малого размера выборки; да/нет - наличие или отсутствие определенного генотипа; * - значимые межгрупповые различия ($p\text{-value} < 0,05$)						

Таким образом, полиморфизм (rs6198; A3669G) гена β -изоформы ГР статистически значимо чаще встречался у больных АП по сравнению со здоровыми донорами, что позволяет предполагать его возможную роль в качестве генетического маркера предрасположенности к пузырчатке.

Гетерозиготный генотип AG достоверно чаще наблюдался у больных АП по сравнению со здоровыми донорами. Кроме того, данный генотип статистически значимо чаще выявлялся именно у больных со стероид-резистентной формой АП, подтверждая его потенциальную роль в развитии неадекватного ответа на терапию СГК у таких больных.

Гомозиготный AA генотип, наоборот, значимо чаще встречался у стероид-чувствительных пациентов, что подтверждает протективную роль аллеля А по отношению к развитию СР.

У больных АП тяжелой степени тяжести с наличием (rs6198; A3669G) полиморфизма β -изоформы ГР также наблюдалась СР.

Создание прогностической модели методом опорных векторов по геномным механизмам для прогнозирования наличия буллезного дерматоза и стероидной резистентности

С использованием алгоритмов машинного обучения (МО) разработаны высокоточные классификаторы для выявления больных БД, а также надежно подтверждать отсутствие

заболевания у здоровых лиц. Наилучшие метрики показала модель логистической регрессии на основе единственного признака – экспрессии α -изоформы ГР («Recall» 1,000; «Precision» 0,938; «ROC-AUC» 0,992). Получена формула индивидуального прогноза:

$$P(\text{БД}) = 1 / (1 + e^{(-(-4,0479 + 0,1102 \times \alpha\text{-ГР}))}),$$

где увеличение экспрессии α -изоформы на 1×10^3 копий кДНК повышает вероятность заболевания в 1,116 раза. Диагностически значимый порог составил $36,7 \times 10^3$ копий кДНК α -ГР.

Кроме того, модель «случайного леса» (Random Forest) выделила наиболее значимые признаки вероятности развития БД (в порядке убывания): повышенная экспрессия α -изоформы ГР, β -изоформы ГР, возраст, HLA-DRB1*14:04 и другие аллели DRB1 в высоком разрешении (Рисунок 13).

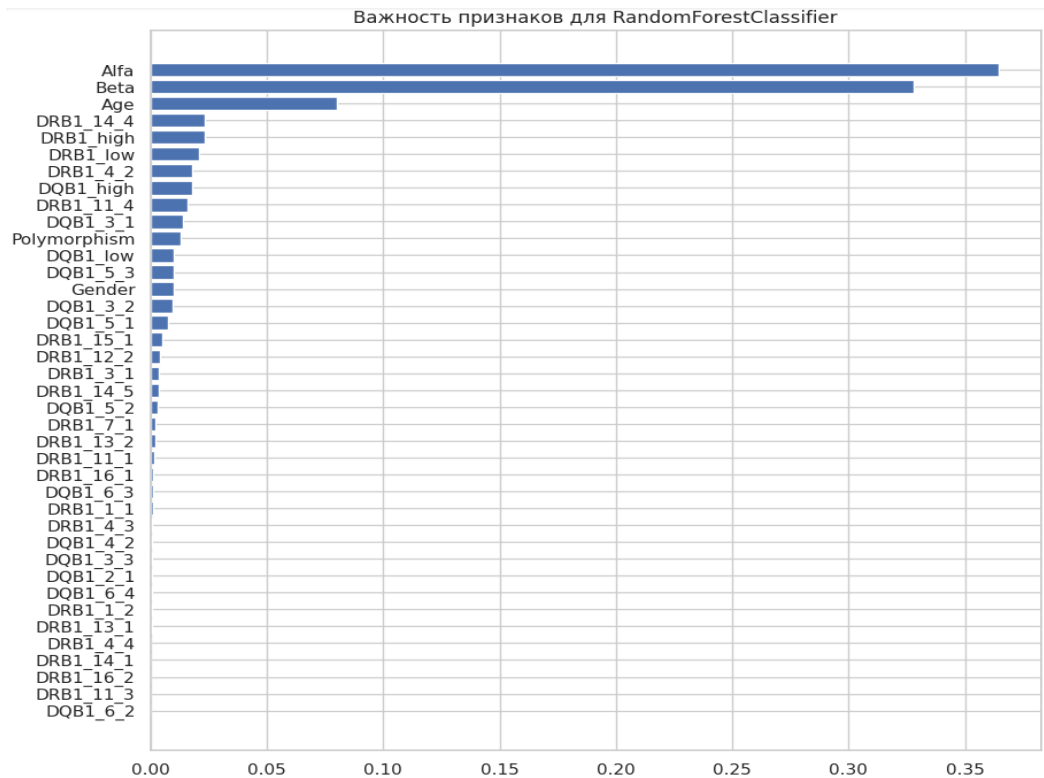


Рисунок 13 – График важности признаков для алгоритма «случайный лес» (авторский рисунок)

Для создания классификатора, позволяющего определять наличие или отсутствие СР, были использованы следующие алгоритмы машинного обучения: «решающее дерево» (Decision Tree Classifier), «случайный лес» (Random Forest Classifier), логистическая регрессия (Logistic Regression), метод «опорных векторов» (SVC), алгоритм «градиентного бустинга» (CatBoost). Для прогноза СР у больных БД были разработаны модели МО. Наилучшие метрики показал SVC (Recall 0,793; Precision 0,655; ROC-AUC 0,894). Ключевыми предикторами СР были признаны DRB1 аллели в высоком разрешении (особенно DRB1*13:02) и DQB1* 05:02, 02:01, 05:01, 03:01; протективными – DQB1*06:02, DQB1*01:01, DQB1*04:03, DQB1*06:03 соответственно (Рисунок 14).

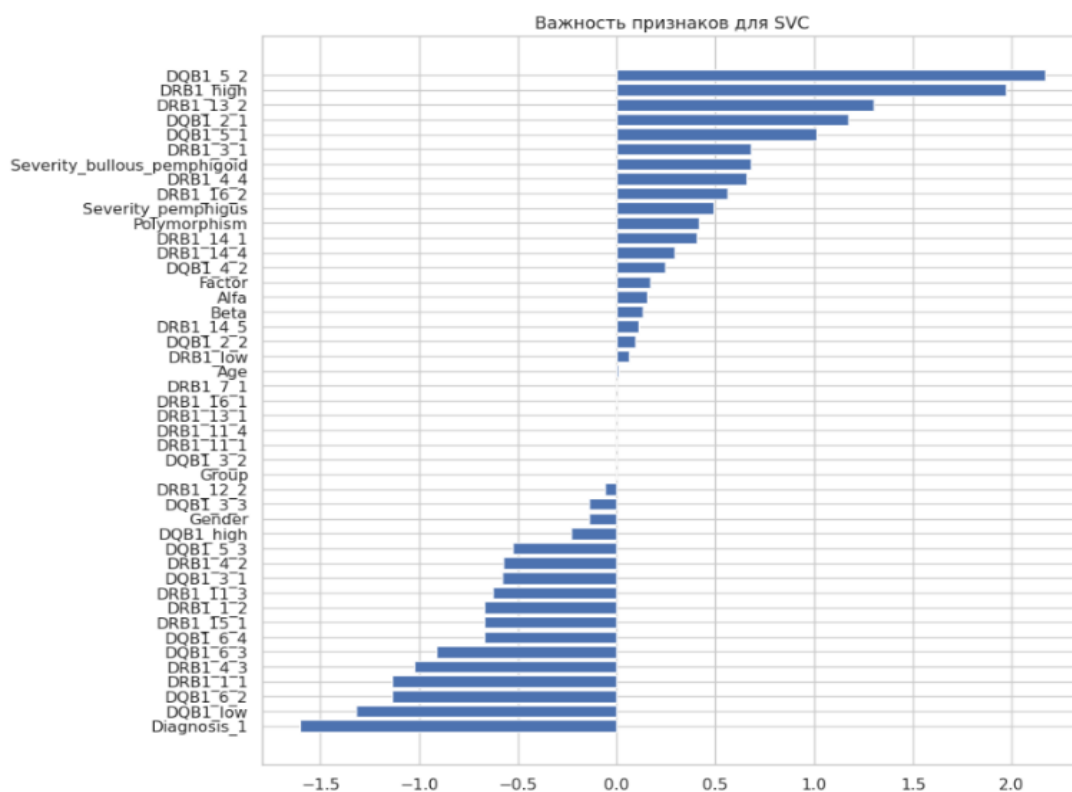


Рисунок 14 – График важности признаков для алгоритма метода опорных векторов в случае прогнозирования наличия у пациентов стероидной резистентности со стороны геномных механизмов (авторский рисунок)

Таким образом, алгоритм «случайный лес» и метод «опорных векторов» позволили классифицировать больных БД на стероид-резистентных и стероид-чувствительных на уровне HLA аллелей II класса.

Оценка цитокинового и хемокинового профиля в сыворотке крови и пузырной жидкости у больных буллезным пемфигоидом в зависимости от тяжести и ответа на терапию системными глюкокортикостероидами (результаты проспективного контролируемого когортного исследования)

В сыворотке у всех больных БД концентрации TNF- α , IL10, CCL11, CXCL8 и гранулина находились на статистически значимо более высоком уровне по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,001$). Однако, у здоровых доноров отмечалось достоверное повышение уровня IL4 ($p < 0,01$). Наиболее выраженное повышение уровня гранулина наблюдалось у больных ССД/ТЭН (медиана 8765 нг/мл против 1088 нг/мл в контроле; $p < 0,001$).

Выявленные изменения отражают активацию провоспалительных (TNF- α , IL10, CCL11, CXCL8) и цитотоксических механизмов у больных данными заболеваниями.

При сравнении уровней цитокинов и хемокинов в сыворотке и пузырной жидкости у больных АП, БП и ССД/ТЭН не было обнаружено статистически значимых различий ($p > 0,05$).

Тем не менее, у больных ССД/ТЭН в сыворотке наблюдалась тенденция к более высокой концентрации гранулизина ($p=0,045$). Более того, в пузырьной жидкости уровень данного показателя был значимо выше у пациентов с тяжелыми лекарственными реакциями (ССД/ТЭН) (медиана 12105 нг/мл) по сравнению с АП (10842 нг/мл; $p=0,048$) и БП (10335 нг/мл; $p=0,024$) (Таблица 7).

Таблица 7 – Концентрация гранулизина в сыворотке и пузырьной жидкости у больных буллезными дерматозами

Показатель	АП (n=43)	БП (n=11)	ССД/ТЭН (n=13)	p (Kruskal-Wallis)	p попарно (Данн-Холм)
Гранулизин сыворотка, нг/мл	5517 [5067; 5967]	5490 [4951; 6029]	6008 [5450; 6566]	0,045	АП-ССД/ТЭН = 0,06; БП-ССД/ТЭН = 0,05
Гранулизин пуз. жидкость, нг/мл	10842 [9415; 13209]	10335 [9617; 10748]	12105 [10987; 20765]	0,050	АП-ССД/ТЭН = 0,048; БП-ССД/ТЭН = 0,024

Следует отметить, что уровень цитокинов, хемокинов и гранулизина у всех больных был выше в содержимом пузырей по сравнению с сывороткой ($p<0,001$, парный тест Уилкоксона) (Таблица 8).

Таблица 8 – Сравнительная характеристика уровня цитокинов, хемокинов и гранулизина у больных БД в сыворотке и пузырьной жидкости

Показатель	Пузырная жидкость Медиана [Q1; Q3]	Сыворотка Медиана [Q1; Q3]	p-value в парном тесте Уилкоксона
TNF- α	57 [46,5; 76,5]	25 [18,5; 33]	<0,001
IL15	21 [13; 27]	10 [7; 14,5]	<0,001
Гранулизин	10987 [10116; 13440,5]	5809 [5254,5; 6932]	<0,001
CCL11	172 [145,5; 186]	77 [65,5; 86]	<0,001
CXCL8	152 [137,5; 167,5]	54 [48,5; 60]	<0,001
IL4	15 [11,5; 21]	8 [6; 10]	<0,001
IL10	107 [88,5; 136]	50 [43; 67,5]	<0,001

У больных БД одновременно в сыворотке и пузырьной жидкости были определены биомаркеры, коррелирующие с тяжелым течением заболевания. В группе АП (n=43) значимую положительную корреляцию с тяжелой степенью показал CCL11 ($p<0,001$), в группе БП – CCL11, CXCL8, IL10 ($p<0,05$), а в группе ССД/ТЭН – IL4 и IL10 ($p<0,05$). Полученные результаты

свидетельствуют о том, что указанные биомаркеры могут быть использованы для мониторинга течения данных заболеваний (Таблица 9).

Таблица 9 – Биомаркеры тяжелого течения буллезных дерматозов

Заболевание	Локализация	Тяжёлая степень ↑*	Средняя степень ↑*	Лёгкая степень ↑*
АП	Сыворотка	IL15, CCL11, CXCL8	IL4	–
	Пузырная жидкость	TNF- α , CCL11, гранулизин	–	–
БП	Сыворотка	TNF- α , IL10, CCL11, CXCL8	IL15	–
	Пузырная жидкость	IL4, IL10, CCL11, CXCL8	–	–
ССД/ТЭН (ТЭН)	Сыворотка	IL10, IL4, CCL11, гранулизин	–	–
ССД-ТЭН (перекр.)	Сыворотка	IL15	–	–
ССД/ТЭН (ТЭН)	Пузырная жидкость	TNF- α , IL4, IL10, CXCL8	–	–
ССД/ТЭН (ССД)	Пузырная жидкость	CCL11	–	–

Примечание: ↑ - значимое увеличение концентрации биомаркера ($p < 0,01$)

У стероид-резистентных больных АП в сыворотке уровень CCL11 был значимо выше (медиана 76 [65,5; 83] пг/мл против 48 [39; 52] пг/мл у стероид-чувствительных; $p < 0,0001$), тогда как в пузырьной жидкости, напротив, повышение концентрации CXCL8 фиксировалось у пациентов адекватно отвечавших на терапию СГК (Таблица 10).

У стероид-резистентных больных БП в сыворотке отмечалось повышение уровня TNF- α (38 [37; 39] пг/мл против 22 [15,3; 28,5] пг/мл; $p = 0,0485$), а в пузырьной жидкости – IL15 (32 [29,5; 33,5] против 13,5 [10; 22,8] пг/мл; $p = 0,0317$), гранулизина (13 450 [11 905; 14 232] против 9899 [9534; 10 352] нг/мл; $p = 0,0485$), CXCL8 (186 [185,5; 187,5] против 154,5 [148,8; 166,5] пг/мл; $p = 0,0121$) и IL4 (35 [33; 36] против 13 [9,8; 23,3] пг/мл; $p = 0,0241$) по сравнению со стероид-чувствительными пациентами (Таблица 10).

Таким образом, можно сделать вывод, что пузырьная жидкость превосходит сыворотку по диагностической и прогностической ценности при оценке СР у больных АП и БП.

Таблица 10 – Биомаркеры стероидной резистентности в сыворотке и пузырьной жидкости у больных буллезными дерматозами

Заболевание	Локализация	Повышено у СР+ больных (p<0,05)	Повышено у СР- больных (p<0,05)
АП	Сыворотка	CCL11	–
	Пузырная жидкость	–	CXCL8
БП	Сыворотка	TNF- α	–
	Пузырная жидкость	IL15, гранулизин, CXCL8, IL4	–
ССД/ТЭН	Сыворотка и пузырьная жидкость	СР только у 1 пациента → анализ не проводился	–

Примечание: СР+ - стероид-резистентные больные, СР- - стероид-чувствительные

Модели «CatBoost» и «Random Forest» продемонстрировали наилучшую прогностическую способность в отношении развития СР у пациентов с БД (ROC-AUC=0,879; $F_1=0,54$) на негеномном уровне. К ключевым предикторам относились высокий уровень IL15, IL4, CXCL8 в пузырьной жидкости, высокая концентрация гранулизина в сыворотке, диагноз «пузырчатка», тяжесть течения АП, а также наличие сахарного диабета 2-го типа (Рисунок 15).

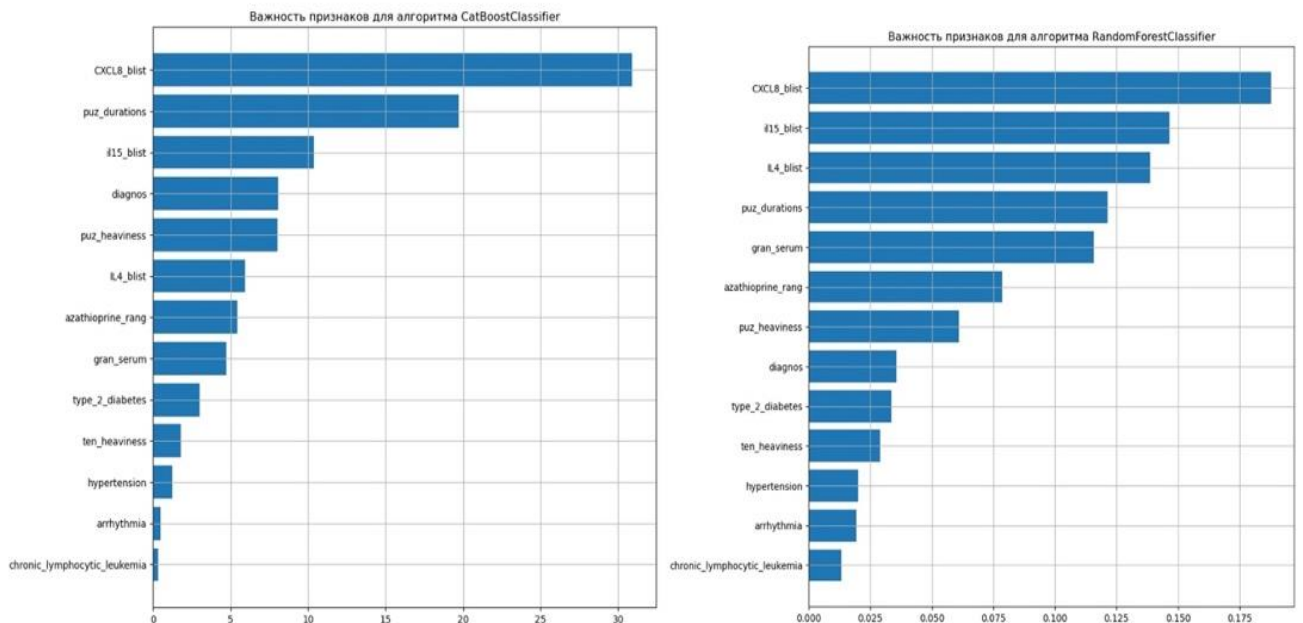


Рисунок 15 – График важности признаков для алгоритма метода опорных векторов в случае прогнозирования наличия у пациентов стероидной резистентности на негеномном уровне (авторский рисунок)

Можно сделать вывод, что пузырьная жидкость может быть использована для диагностики, дифференциальной диагностики, а также прогноза тяжести течения БД и ответа на терапию.

Эффективность и безопасность комбинированной терапии системными глюкокортикостероидами, плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином у стероид-резистентных больных пузырчаткой: результаты проспективного неконтролируемого когортного исследования

Средний индекс PDAI до начала лечения СГК и адьювантной терапией у больных АП составил $44,53 \pm 18$ единиц. При достижении средней дозы СГК – $15,17 \pm 5,26$ мг/сут и индекса PDAI $10,9 \pm 6,0$ стероид-резистентным пациентам назначался курс плазмафереза и внутривенного человеческого IVIG кратностью один раз в 6 месяцев на 3-5 курсов.

Комбинированная терапия (СГК + плазмаферез + IVIG) у 32 стероид-резистентных больных АП привела к снижению PDAI с $10,9 \pm 6,0$ до $0,1 \pm 0,3$ баллов после 3–5 курсов и уменьшению дозы преднизолона до $4,98 \pm 1,68$ мг/сут (рисунок 16). Полная ремиссия на минимальной терапии СГК достигнута у 91 % (29/32), частичная – у 6 % (2/32), полная ремиссия без СГК – у 3 % (1/32) (рисунок 17, 18). Средняя длительность ремиссии – 2,87 года; рецидивы – у 3 пациентов за 3 года наблюдения. При этом наблюдалась хорошая переносимость терапии. Тяжёлых осложнений и побочных эффектов не зарегистрировано.

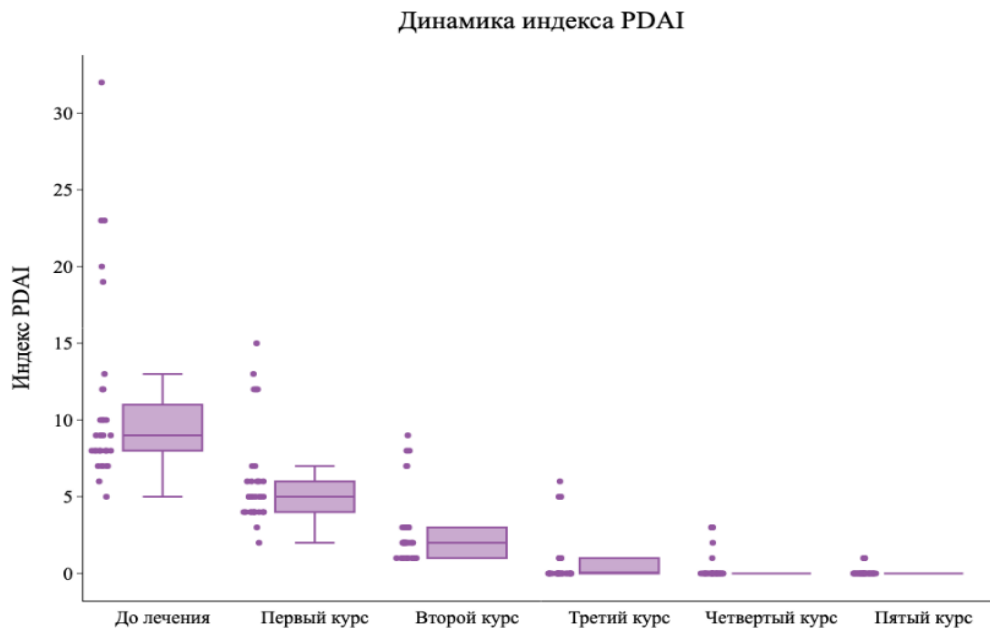


Рисунок 16 – Индекс PDAI до и после лечения комбинированной терапией СГК, IVIG и плазмаферезом (первичная конечная точка) (авторский рисунок)



Рисунок 17 – Больной К. Диагноз: себорейная пузырчатка. Длительность заболевания – 5 лет (А – до начала лечения СГК и азатиоприном; Б – в процессе терапии СГК, азатиоприном, а также комбинированной терапией плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG; В – ремиссия заболевания на фоне минимальной дозы СГК (10 мг/сут). Длительность ремиссии составила три года (авторский рисунок – снимки принадлежат автору)



Рисунок 18 – Больной С. Диагноз: вульгарная пузырчатка. Длительность заболевания – 2 года. (А, Б – в процессе терапии СГК (доза 20 мг/сут), азатиоприном (50 мг/сут) в момент нового обострения (октябрь 2024 г); В, Г – на фоне комбинированной терапии плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG (спустя 2 недели от первой процедуры – регресс высыпаний с исходом в стойкую гиперпигментацию) (авторский рисунок – снимки принадлежат автору)

Динамика уровня цитокинов, хемокинов и гранулизына в сыворотке крови стероид-чувствительных и резистентных больных акантолитической пузырчаткой на фоне монотерапии системными глюкокортикостероидами и комбинированной терапией (СГК + плазмаферез + IVIG): результаты сравнительного проспективного когортного исследования

На фоне проводимой терапии в обеих группах отмечено значимое снижение уровня TNF- α и IL10 ($p < 0,05$). У стероид-резистентных больных (основная группа) АП после комбинированной терапии СГК, плазмаферезом и IVIG достигнуто более выраженное снижение TNF- α – с 27,5 [14;41] до 1,0 [1;3] пг/мл, IL10 – с 46,5 [33;74] до 12,0 [5;32] пг/мл по сравнению с группой больных, находившихся на монотерапии СГК: TNF- α – с 23,5 [8-41] до 14,0 [2-23] пг/мл, IL10 – с 53,0 [37;76] до 11,0 [5;36] пг/мл ($p < 0,01$) (Рисунок 19А, Б).

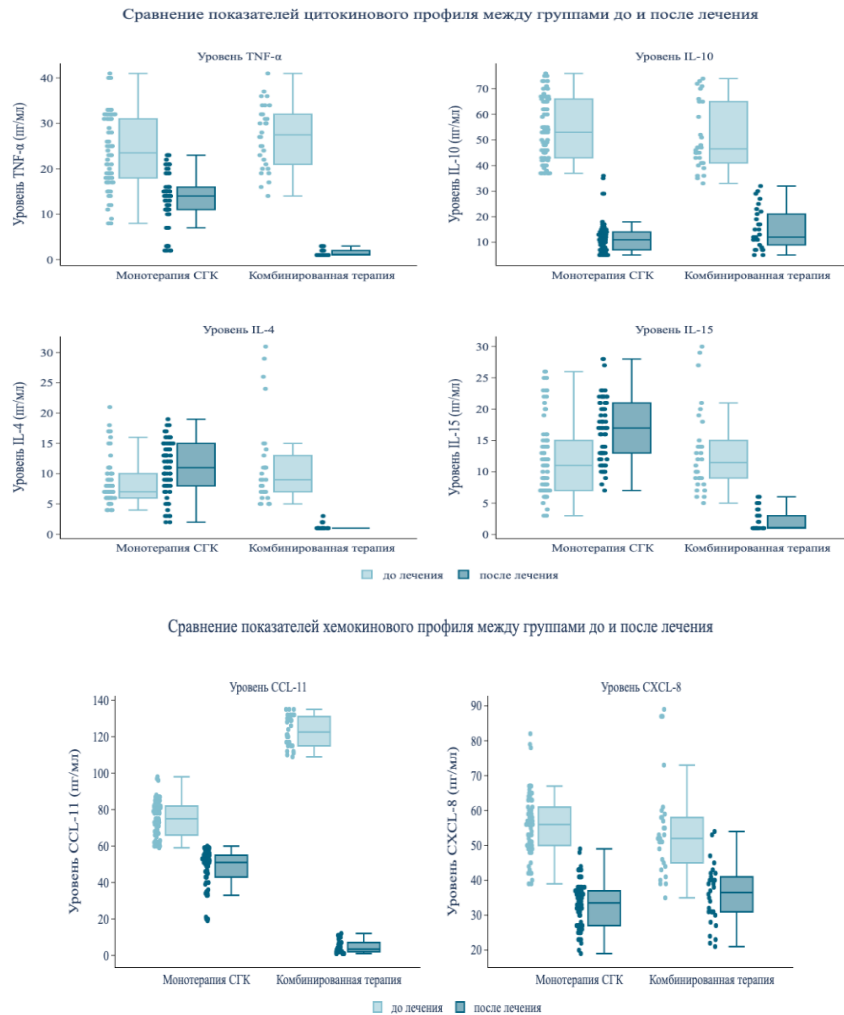


Рисунок 19А – Динамика уровней цитокинов (TNF- α , IL10, IL4, IL15) и хемокинов (CCL11, CXCL8) у больных АП на фоне монотерапии СГК и комбинированной терапии (СГК + плазмаферез + IVIG) (авторский рисунок)



Рисунок 19Б – Динамика уровня гранулизына у больных АП на фоне монотерапии СГК и комбинированной терапии (СГК + плазмаферез + IVIG) (авторский рисунок)

Таким образом, применение комбинированной терапии позволяет достичь существенно более эффективного контроля провоспалительного цитокинового каскада по сравнению с монотерапией.

В сыворотке стероид-резистентных больных АП до лечения комбинированной терапией СГК, плазмаферезом и человеческим IVIG наблюдался статистически значимо более высокий уровень SCL11 по сравнению с группой контроля. Полученные данные свидетельствуют о том, что хемокин SCL11 можно рассматривать в качестве потенциального биомаркера рефрактерного течения АП, а также его использования в качестве терапевтической мишени в будущем.

В группе СР пациентов, получавших комбинированную терапию плазмаферезом и внутривенным человеческим IVIG после лечения уровень цитокинов IL4, IL15, TNF- α , хемокина SCL11, а также гранулизына был статистически значимо ниже по сравнению с группой пациентов, получавших монотерапию СГК, что подтверждает его иммуномодулирующее и адьювантное действие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе при исследовании молекулярных геномных (HLA) и негеномных (цитокиновый профиль в пузырьной жидкости) механизмов развития стероидной резистентности АП, БП, ССД/ТЭН разработан комплекс биомаркеров, который позволил бы при исследовании сыворотки и пузырьной жидкости спрогнозировать рефрактерное течение данных заболеваний с целью последующего предсказания их возможных осложнений или рецидивов в будущем, определения вероятности более тяжелого течения буллезных дерматозов, оптимизации диагностики и дифференциальной диагностики, а также разработки персонализированных

подходов к лечению на основании специфических характеристиках заболевания у конкретного пациента.

ВЫВОДЫ

1. HLA-DRB1*04, DRB1*14, HLA-DRB1*14:05, HLA-DQB1*03:02 аллели статистически значимо чаще выявлялись у больных вульгарной (ВП) и листовидной пузырчаткой (ЛП) по сравнению со здоровыми донорами ($p=7,35 \times 10^{-7}$, $p=0,002$, $p=0,007$, $p=0,03$). HLA-DRB1*04:02 аллель, гаплотипы DRB1*04/DQB1*05, DRB1*14/DQB1*03, DRB1*04:02/DQB1*05:03, DRB1*04:02/DQB1*05:01, DRB1*04:02/DQB1*03:02, DRB1*14:05/DQB1*03:02 и DRB1*14:04/DQB1*03:02 являлись предрасполагающим для всех разновидностей акантолитической пузырчатки (АП), включая паранеопластическую (ПНП) ($p=2,02 \times 10^{-6}$; $p=6,7 \times 10^{-4}$, $p=0,0086$, $p=1,8 \times 10^{-5}$, $p=2,0 \times 10^{-4}$, $p=0,002$, $p=0,006$ соответственно). DQB1*05:03 аллель достоверно чаще встречался у больных ВП и ПНП ($p=0,01$, $p=0,034$).

Предрасполагающими к развитию буллезного пемфигоида (БП) являлись HLA-DRB1*04, DRB1*14, DRB1*04:02 и DQB1*03:02 аллели ($p=0,02$, $p=0,005$, $p=0,01$, $p=0,01$). У больных синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом (ССД/ТЭН) обнаружен предрасполагающий к заболеванию аллель HLA-DRB1*04 ($p<0,03$). Протективными аллелями по отношению к развитию пузырчатки являлись в популяции HLA-DRB1*11, DRB1*16, DRB1*03, DRB1*11:04 и DQB1*03:01 аллели ($p=0,01$, $p=0,017$, $p<0,05$, $p=0,048$, $p<0,05$). Защитных аллелей в группе HLA-DRB1 и DQB1 по отношению к развитию БП и ССД/ТЭН обнаружено не было.

HLA-DQB1*03:01 аллель одновременно являлся генетическим предиктором тяжелого и рефрактерного к терапии СГК течения АП ($p=0,002$). У больных БП аллели DRB1*14 и DQB1*03:02 преобладали у больных средней степени тяжести ($p=0,008$; $p \approx 0,037 < 0,05$). Наблюдалась также тенденция к более высокой частоте встречаемости аллельного варианта DQB1*05:03 у больных БП средней и тяжелой степени тяжести ($p \approx 0,057 > 0,01$).

2. Экспрессия α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов (ГР) была статистически значимо выше у больных буллезными дерматозами (БД) по сравнению со здоровыми донорами ($p<0,01$). Наблюдалась тенденция к повышению экспрессии β -ГР в группе стероид-резистентных больных. С помощью логистической регрессии была выведена формула, которая демонстрировала, что вероятность развития БД была более 50% при повышении экспрессии α -изоформы ГР до 36,7 единиц и более.

3. Полиморфизм A3669G β -изоформы ГР демонстрирует генетическую обусловленность СР при АП, о чем свидетельствует его статистически значимая высокая частота встречаемости,

а также аллели G у этих больных по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,001$). Данный вывод подтверждает достоверное повышение частоты гетерозиготного AG генотипа в 4,89 раз у стероид-резистентных больных по сравнению со стероид-чувствительными ($p < 0,0001$; ОШ: 3,1–36,3), тогда как адекватный ответ на лечение SGK был в 4,96 раз выше у больных с гомозиготным AA генотипом ($p = 0,008$; ОШ: 1,6–15,4). Оценка A3669G полиморфизма β -изоформы ГР позволит предсказать ответ больных АП на терапию.

4. Лучшие значения метрик «Recall», «Precision» и «ROC-AUC» показал метод «опорных векторов». Наиболее значимыми предикторами СР при БД модель признала носительство редких аллелей локуса HLA-DRB1 (в первую очередь DRB1*13:02), а также аллелей DQB1*05:02, DQB1*02:01, DQB1*05:01 и DQB1*03:01.

Аллели локуса HLA-DQB1 в низком разрешении в целом, «диагноз ССД/ТЭН», DQB1*06:02, DQB1*01:01, DQB*04:03, DQB1*06:03 указывали на значительно большую вероятность прогнозирования адекватного ответа на терапию SGK. Это позволяет на геномном уровне классифицировать больных буллезными дерматозами на стероид-резистентных и стероид-чувствительных.

Метод машинного обучения с учетом категориальных признаков (CatBoost) и «случайный лес» наиболее точно предсказывали вероятность СР у больных БД при наличии семи следующих признаков: высокий уровень IL15, IL4 и CXCL8 в пузырьной жидкости, высокий уровень гранулизина в сыворотке, диагноз и тяжесть АП, а также наличие сахарного диабета 2 типа в качестве сопутствующего заболевания (F_1 -метрика = 0,538721, «ROC AUC» = 0,879167, «Recall» = 0,541667, «Precision» = 0,857143).

5. При всех БД концентрации цитокинов TNF- α , IL4, IL15, IL10, хемокинов CCL11 и CXCL8, а также гранулизина в пузырьной жидкости были достоверно выше по сравнению с сывороткой соответственно ($p < 0,001$). Такая разница в показателях пузырьной жидкости и сыворотки была связана с ее более высоким уровнем разведения за счет форменных элементов, а также с тем, что пузырьная жидкость отражает воспалительные патогенетические процессы непосредственно в месте формирования пузыря.

Пузырный гранулизин у больных ССД/ТЭН можно рассматривать в качестве дифференциально-диагностического биомаркера, о чем свидетельствует его достоверно высокий уровень только у больных ССД/ТЭН по сравнению с АП и БП ($p = 0,048$, $p = 0,024$).

Тяжелое течение заболевания ассоциировалось с достоверно более высокими концентрациями в пузырьной жидкости: при АП – TNF- α , CCL11 и гранулизина; при БП и ССД/ТЭН – CXCL8, IL4 и IL10 ($p = 0,0079$). Концентрация CCL11 в пузырьной жидкости у больных тяжелой формой БП превышала таковую при средней степени тяжести ($p = 0,014$), а уровень TNF- α – у пациентов с ТЭН по сравнению с ССД и перекрестным ССД-ТЭН ($p < 0,01$).

СР при АП сопровождалась повышением уровня ССL11 только в сыворотке крови ($p < 0,0001$); в пузырьной жидкости у больных АП биомаркеров резистентности не выявлено, тогда как на рефрактерное течение БП в пузырьной жидкости указывала выраженная тенденция к повышению уровня IL15, IL4, CXCL8 и гранулизина ($p < 0,01$).

Одновременно в пузырьной жидкости и сыворотке у больных БД тяжелой степени тяжести фиксировалось статистически значимое повышение уровня ССL11 ($p = 0,0027$; $p = 0,0122$) при АП; IL4 ($p = 0,033$; $p = 0,025$) и IL10 ($p = 0,027$; $p = 0,0055$) при ССД/ТЭН; IL10 ($p = 0,0233$; $p = 0,0376$), CXCL8 ($p = 0,0233$; $p = 0,0462$) и ССL11 ($p = 0,0140$; $p = 0,0294$) при БП, что свидетельствует о возможности использования этих маркеров для мониторинга течения этих заболеваний.

У стероид-резистентных больных, получавших комбинированную терапию плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином (IVIg) в процессе снижения малых доз СГК наблюдалось статистически значимое снижение уровня цитокинов IL4, IL15, TNF- α и гранулизина в сыворотке по сравнению с таковыми в группе пациентов, находившихся на монотерапии СГК ($p < 0,01$), что подтверждает иммуномодулирующее и адьювантные свойства человеческого иммуноглобулина.

6. На фоне проводимой терапии IVIg и плазмаферезом у 3% пациентов наблюдалась полная ремиссия после отмены СГК в течение года; полная ремиссия на фоне минимальной дозы СГК отмечалась у 91% пациентов и частичная ремиссия в течение одного года на фоне минимальной дозы СГК (10 мг/сутки) – у 6% больных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При обследовании больных пузырчаткой для прогноза ее степени тяжести, а также стероидной резистентности необходимо оценивать наличие полиморфизма A3669G β -изоформы глюкокортикоидного рецептора в сыворотке, а также HLA- DRB1*03:01 аллели в высоком уровне разрешения, для быстрого и тщательного подбора адекватной персонифицированной адьювантной терапии и минимизации риска развития потенциальных побочных эффектов и рецидивов.

2. Комплиментарно к проведению диагностической биопсии (гистологический метод исследования) при аутоиммунных буллезных дерматозах в режиме реального времени может быть применен анализ пузырьной жидкости для экспресс-диагностики и дифференциальной диагностики с тяжелыми лекарственными реакциями, такими как синдром Стивенса-Джонсона и токсический эпидермальный некролиз. Кроме того, такие биомаркеры как TNF- α , CXCL8, IL4, IL10 и гранулизин в пузырьной жидкости смогут предсказать более тяжелое и рефрактерное течение буллезных дерматозов.

3. При выявлении у больных пузырчаткой стероидной резистентности в качестве адъювантного лечения можно назначать 3-5 курсов комбинированной терапии плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином в суммарной дозе внутривенного иммуноглобулина 0,2 г/кг и 3-4-х сеансов дискретного плазмафереза на цикл с кратностью проведения – один раз в полгода для профилактики рецидивов заболевания при снижении малых доз СГК.

4. Полученные результаты могут быть адаптированы для других дерматологических (атопический дерматит, интегументная форма красной волчанки, склеродермии и т.д) и недерматологических заболеваний (ревматоидный артрит, бронхиальная астма и т.д.), для лечения которых применяются СГК.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Разработка схемы лечения больных аутоиммунной пузырчаткой азатиоприном при стероидной резистентности на основании исследования ее молекулярных механизмов на пострецепторном уровне / О. Ю. Олисова, Н. Л. Шимановский, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк, **А. А. Лепехова** // *Альманах клинической медицины*. – 2016. – Т. 44. – №. 1. – С. 6-12.

2. Синдром Стивенса-Джонсона / О. Ю. Олисова, О. В. Грабовская, Н. П. Теплюк, **А. А. Лепехова**, Д. В. Игнатъев, К. В. Игнатъева // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2016. – Т. 19. – №. 4. – С. 216-220.

3. Персонализированный подход в лечении стероидрезистентных форм истинной акантолитической пузырчатки / **А. А. Лепехова**, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк, Н. Л. Шимановский // *Медицинский алфавит*. – 2016. – Т. 3. – №. 19. – С. 21-22.

4. Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis Associated with NSAIDs Intake: A Case Series / A. Allenova, **A. Lepekhova**, O. Olisova [et al.] // 7th Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV), Paris, France, 12-16 September 2018. – *Clinical and Translational Allergy*. – Vol. 8. – №. S3. – P. 30. – Electronic text. – URL: www.researchgate.net/publication/328420848.

5. Paraneoplastic pemphigus in Russian patients: a single center case series / A. Allenova, **A. Lepekhova**, O. Olisova, P. Kolkhir // *International Journal of Dermatology*. – 2018. – Vol. 57. – №. 8. – P. 44-58.

6. A rare association of paraneoplastic pemphigus with gastric signet cell ring carcinoma / **A. Lepekhova**, O. Olisova, N. Teplyuk, D. Zolotnikov, A. Allenova // *Australasian Journal of Dermatology*. – 2019. – Vol. 60. – №. 2. – P. e168-e169.

7. Сравнительная оценка эффективности различных методов терапии синдрома Стивенса–Джонсона и токсического эпидермального некролиза на основании данных

литературы / **А. А. Лепехова**, А. С. Алленова, О. Ю. Олисова, Н. П. Теплюк, Е. В. Канарейкина // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2019. – Т. 74. – №. 3. – С. 157-166.

8. **Лепехова, А. А.** Современные методы диагностики паранеопластической пузырчатки / **А. А. Лепехова**, Н. П. Теплюк, И. М. Болотова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2019. – Т. 95. – №. 5. – С. 7-16.

9. Desquamative and Bullous Lesions in a 68-Year-Old Woman [Глава в книге]. / О. Ю. Олисова, Н. П. Теплюк, **А. А. Lepekhova**, V. A. Varshavsky // Clinical Cases in Geriatric Exfoliative Dermatitis; edited by T. M. Lotti, U. Wollina, O. Y. Olisova, M. Jafferany. – Cham: Springer; 2022. – P. 75-80.

10. A 25-Year-Old Woman with the Pruritic and Bullous Lesions on the Skin Developed in the Third Trimester of Pregnancy 3 Days Before the Delivery [Глава в книге] / О. Ю. Олисова, Н. П. Теплюк, **А. А. Lepekhova**, V. A. Varshavsky // Clinical Cases in Exfoliative Dermatitis; edited by T. M. Lotti, U. Wollina, O. Y. Olisova, M. Jafferany. – Cham: Springer, 2022. – P. 1-5.

11. A 49-Year-Old Woman with Chronic Recurrent Vesicles, Erosions, and Fissures in Flexural Areas [Глава в книге] / О. Ю. Олисова, Н. П. Теплюк, **А. А. Lepekhova** // Clinical Cases in Exfoliative Dermatitis; edited by T. M. Lotti, U. Wollina, O. Y. Olisova, M. Jafferany. – Cham: Springer, 2022. – P. 7-11.

12. Autoimmune bullous dermatoses associated with the COVID-19 outbreak in Russian patients: a single case series / **А. А. Lepekhova**, E. V. Grekova, O. Y. Olisova, E. V. Dunaeva, S. Ahmed, I. V. Maksimov, N. P. Teplyuk // Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2022. – Vol. 36. – №. 8. – P. e606-e609.

13. A3669G polymorphism of glucocorticoid receptor is a susceptibility allele for pemphigus / **А. А. Lepekhova**, N. Teplyuk, N. Shimanovsky, O. Olisova A. Dukhanin // 31st EADV Congress, Milan, Italy, 7-10 September 2022. – Electronic text. – URL: <https://eadv.org/scientific/abstract-books/>.

14. **Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022669988**, Российская Федерация. Программа для определения генетического биомаркера стероидной резистентности при пузырчатке / Олисова О. Ю., Шимановский Н. Л., Духанин А. С., Теплюк Н. П., **Лепехова А. А.** – 2022669988, заявл. 13.10.2022, **опубл. 26.10.2022, Бюл. №42**

15. Фотогалерея. Заболевания слизистой оболочки полости рта. Часть I / Н. П. Теплюк, Е. В. Грекова, **А. А. Лепехова**, Б. Ш. Дамдинова // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2022. – Т. 25. – №. 5. – С. 427-433.

16. Оценка частоты HLA-DRB1 аллелей у больных истинной акантолитической пузырчаткой в российской популяции / О. Ю. Олисова, Н. Л. Шимановский, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк, **А. А. Лепехова** // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2022. – Т. 25. – №. 6. – С. 33-40. [Scopus].

17. Hailey-Hailey disease successfully treated with photodynamic therapy: Case report / N. Teplyuk, **A. Lepekhova**, E. Dunaeva [et al.] // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2023. – Vol. 44. – P. 103738.

18. Human leukocyte antigen class II DRB1 alleles frequencies in patients with pemphigus vulgaris among the Russian population / **A. Lepekhova**, O. Olisova, N. Teplyuk, A. Dukhanin, N. Shimanovsky // 25th World Congress of Dermatology, Singapore, 3-8 July 2023. – Electronic text. – URL: <https://eadv.org/scientific/abstract-books/>.

19. Микробиом кожи при аутоиммунной пузырчатке: сравнительный анализ разнообразия бактерий в зависимости от получаемой терапии / Н. П. Теплюк, Ю. В. Колесова, Н. О. Вартанова, А. Ю. Леонова, С. В. Тощакон, А. Д. Козлова, **А. А. Лепехова** // **Иммунопатология, аллергология, инфектология**. – 2023. – №. 4. – С. 85-94.

20. Аутоиммунная пузырчатка: новые подходы к диагностике и оценке тяжести заболевания / Н. П. Теплюк, Ю. В. Колесова, Д. В. Мак, **А. А. Лепехова** [и др.] // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. – 2023. – Т. 26. – №. 5. – С. 515-526.

21. A3669G Polymorphism of glucocorticoid receptor is more present in patients with pemphigus vulgaris than in healthy controls and contributes to steroid-resistance / **A. A. Lepekhova**, O. Y. Olisova, N. L. Shimanovsky, N. P. Teplyuk, E. A. Zhgelskaya, R. Punj, A. A. Mardanova, A. S. Dukhanin // **Dermatologic Therapy**. – 2024. – Vol. 2024. – №. 1. – Article ID 5573157. [**Web of Science, Scopus**].

22. Оценка уровня экспрессии miR-338-3p в диагностике аутоиммунной пузырчатки / Н. П. Теплюк, Д. В. Мак, Ю. В. Колесова, **А. А. Лепехова**, Т. А. Федотчева, Д. Н. Ульченко // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2024. – Т. 27. – №. 4. – С. 448-462.

23. **Лепехова, А. А.** Стероидная резистентность при аутоиммунной пузырчатке: учебное пособие / **А. А. Лепехова**; под ред. чл.-корр. РАН, д-ра мед. наук, проф. О. Ю. Олисовой. – Москва: Издательство Сеченовского Университета, 2024. – 36 с.

24. Оценка распространённости HLA DRB1 и DQB1 аллелей у больных разными формами пузырчатки в российской популяции / О. Ю. Олисова, **А. А. Лепехова**, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк, Н. Л. Шимановский // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2024. – Т. 27. – №. 2. – С. 143-153. [**Scopus**].

25. Оценка распространённости HLA-аллелей II класса (DRB1 и DQB1) у больных буллезным пемфигоидом, синдромом Стивенса-Джонсона и токсическим эпидермальным некролизом / **А. А. Лепехова**, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк, Н. Л. Шимановский, А. А. Юдин // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2024. – Т. 27. – №. 3. – С. 249-261. [**Scopus**].

26. **Лепехова, А. А.** Оценка эффективности комбинированной терапии плазмаферезом и человеческим иммуноглобулином больных стероидрезистентной формой пузырчатки на

основании исследования цитокинового и хемокинового профиля / **А. А. Лепехова** // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2024. – Т. 27. – №. 6. – С. 673-686. [Scopus].

27. Оценка влияния геномных и негеномных молекулярных механизмов на развитие стероидной резистентности при дерматозах различной этиологии. Систематический обзор / **А. А. Лепехова**, О. Ю. Олисова, Н. П. Теплюк, А. С. Духанин, В. Е. Бакасова // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2024. – Т. 27. – №. 6. – С. 630-639.

28. Blister fluid as a source of biomarkers for steroid resistance in patients with life-threatening bullous dermatoses: A Case-Control Study / O. Olisova, A. Dukhanin, N. Teplyuk, N. Shimanovsky, E. Pahlevani Gazi, **A. Lepekhova** // EADV Symposium, Prague, Czech Republic, May 2025. – Electronic text. – URL: <https://eadv.org/symposium/app/>.

29. Evaluation of the effectiveness of combined therapy with intravenous immunoglobulin and plasmapheresis in patients with steroid-resistant pemphigus based on cytokine profile assessment / O. Olisova, N. Teplyuk, A. Dukhanin, E. Zhgelskaya, E. Al-Khaleefa, A. Imamutdinova A. Lebedev, **A. Lepekhova** // EADV Symposium, Prague, Czech Republic, May 2025. – Electronic text. – URL: <https://eadv.org/symposium/app/>.

30. Blister Fluid Analysis: Identifying Key Biomarkers for Pemphigus Severity / O. Olisova, **A. Lepekhova**, A. Dukhanin, N. Teplyuk, N. Shimanovsky // EADV Congress, Paris, France, September 2025. – Electronic text. – URL: <https://eadv.org/wp-content/uploads/scientific-abstracts/EADV-congress-2025/Autoimmune-disorders.pdf>.

31. Оценка распространенности HLA DRB1-DQB1 гаплотипов и их взаимосвязи с тяжелым и рефрактерным течением акантолитической пузырчатки в Российской популяции / **А. А. Лепехова**, О. Ю. Олисова, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк, Н. Л. Шимановский // **Медицинский алфавит**. – 2025. – №. 8. – С. 26-32.

32. Диагностическая значимость оценки уровня экспрессии микроРНК при аутоиммунной пузырчатке / Н. П. Теплюк, Н. Л. Шимановский, Т. А. Федотчева, Д. В. Мак, Ю. В. Колесова, **А. А. Лепехова**, Д. Н. Ульченко // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2025. – Т. 28. – №. 2. – С. 200-211.

33. Пузырная жидкость как источник биомаркеров стероидной резистентности у больных жизнеугрожающими буллезными дерматозами: наблюдательное когортное контролируемое исследование / О. Ю. Олисова, **А. А. Лепехова**, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк, Н. Л. Шимановский, А. А. Юдин // **Кубанский научный медицинский вестник**. – 2025. – Т. 32. – №. 4. – С. 62-81. [Scopus].

34. Применение математических методов машинного обучения для прогнозирования ответа на терапию у больных тяжёлыми буллезными дерматозами / О. Ю. Олисова, **А. А. Лепехова**, А. С. Духанин, Н. П. Теплюк, Н. Л. Шимановский, А. В. Сидорцов, А. А. Марданова

// **Российский журнал кожных и венерических болезней.** – 2025. – Т. 28. – №. 5. – С. 594-614. [Scopus].

35. JAK Inhibitors as a Novel Approach to Autoimmune Bullous Diseases: A Review / O. Olisova, Y. Kolesova, N. Teplyuk, E. Grekova, L. Ni, A. Mardanova, K. Karray, A. Tikhonova, A. **Lepekhova** // *Dermatologic Therapy.* – 2026. – Article ID 6330416. – P.11.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АП – акантолитическая пузырчатка

БД – буллёзные дерматозы

БП – буллёзный пемфигоид Левера

ВП – вульгарная пузырчатка

ГР – глюкокортикоидный рецептор

IVIg – внутривенный иммуноглобулин человека

ЛП – листовидная пузырчатка

ПНП – паранеопластическая пузырчатка

СГК – системные глюкокортикостероиды

СР – стероидная резистентность

ССД – синдром Стивенса-Джонсона

ТЭН – токсический эпидермальный некролиз