

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора по науке и
международным связям

ГБУЗ МО МОНИКИ
им. М.Ф. Владимирского

доктор медицинских наук, профессор
Какорина Екатерина Петровна



Е.П. Какорина
«*20*» *марта* 2026 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского о научно-практической значимости диссертации Лепеховой Анфисы Александровны на тему «Разработка диагностических биомаркеров для персонафицированной терапии больных тяжелыми буллезными дерматозами», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.23. Дерматовенерология, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность темы выполненной работы

Буллезные дерматозы представляют собой одну из наиболее тяжёлых и жизнеугрожающих групп заболеваний в дерматовенерологии. К ним относятся акантолитическая пузырчатка, буллезный пемфигоид Лёвера, токсический эпидермальный некролиз, синдром Стивенса-Джонсона и другие нозологические формы, характеризующиеся высокой летальностью, частым развитием тяжёлых осложнений и значительным снижением качества жизни пациентов.

Системные глюкокортикостероиды (СГК) остаются препаратами первой линии терапии тяжёлых буллезных дерматозов. Однако в последние годы стероидная резистентность стала серьёзной клинической проблемой для практикующих дерматовенерологов. Несмотря на применение высоких доз СГК, у значительной части больных акантолитической пузырчаткой и буллезным пемфигоидом наблюдается недостаточный ответ на терапию, что

приводит к длительному тяжёлому течению заболевания, необходимости назначения высоких поддерживающих доз гормонов и развитию тяжёлых осложнений стероидной терапии, включая риск летального исхода.

В основе развития стероидной резистентности лежат как геномные механизмы (полиморфизмы генов, в частности NR3C1, кодирующего глюкокортикоидный рецептор, а также ассоциации с определёнными аллелями HLA-DRB1 и HLA-DQB1), так и негеномные, включая изменения экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов и нарушения цитокинового и хемокинового баланса в сыворотке и пузырной жидкости. До настоящего времени в дерматовенерологии отсутствовал комплексный, многоуровневый подход к прогнозированию стероидной резистентности и тяжёлого течения заболеваний на основе интеграции геномных и негеномных биомаркеров.

Особую ценность представляет анализ пузырной жидкости, которая является доступным, малоинвазивным и высокоинформативным источником локальных биомаркеров. Изучение цитокинового и хемокинового профиля (IL4, IL10, IL15, TNF- α , CCL11, CXCL8) и уровня гранулизина в пузырной жидкости позволяет не только проводить дифференциальную диагностику различных форм буллезных дерматозов, но и осуществлять мониторинг течения заболевания, оценивать степень тяжести и прогнозировать риск развития стероидной резистентности на ранних этапах.

Именно поэтому разработка и валидация комплекса диагностических биомаркеров, позволяющих на ранних этапах выявлять пациентов с высоким риском стероидной резистентности и тяжёлого течения заболеваний, а также своевременно переходить к персонализированной терапии, является крайне актуальной задачей современной дерматовенерологии и клинической фармакологии.

Кроме того, был разработан новый метод преодоления стероидной резистентности у больных пузырчаткой с помощью комбинированной терапии системными глюкокортикостероидами, плазмаферезом и внутривенным человеческим иммуноглобулином. Применение данной схемы позволило

достичь длительной клинической ремиссии у 94% пациентов, значительно снизить суточную дозу глюкокортикостероидов более чем в 3 раза и предотвратить развитие рецидивов в среднем на 2,87 года.

Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Диссертационная работа Лепеховой Анфисы Александровны на тему «Разработка диагностических биомаркеров для персонифицированной терапии больных тяжелыми буллезными дерматозами» выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)».

Личный вклад автора

Личный вклад соискателя является определяющим и прослеживается на всех этапах выполнения диссертационного исследования. Автор лично сформулировала цель и задачи работы, разработала дизайн исследования (комбинированное исследование «случай-контроль» с элементами проспективного когортного наблюдения), определила критерии включения и невключения пациентов, а также конечные точки исследования.

Лепеховой А.А. самостоятельно проведён глубокий аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по проблеме стероидной резистентности, биомаркеров, анализа пузырьной жидкости и современных подходов к терапии тяжёлых буллезных дерматозов, на основании которого обоснована научная актуальность и новизна темы диссертации.

Автор лично осуществила набор пациентов (150 больных тяжёлыми буллезными дерматозами и 92 здоровых донора), формирование и ведение базы данных, сбор клинико-anamnestической информации, оценку тяжести

заболевания с использованием индексов PDAI, BPDAI, BSA и SCORTEN, а также проспективное динамическое наблюдение за больными в течение 3 лет.

Значительный личный вклад внесён в выполнение всего комплекса лабораторных и молекулярно-биологических исследований: HLA-типирование DRB1 и DQB1 аллелей на уровнях низкого и высокого разрешения, оценку полиморфизма A3669G (rs6198) гена NR3C1, определение экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов, а также исследование цитокинового и хемокинового профиля (TNF- α , IL4, IL10, IL15, CCL11, CXCL8) и уровня гранулизина в сыворотке крови и пузырной жидкости.

Лепехова А.А. самостоятельно валидировала и интерпретировала прогностические модели машинного обучения (метод опорных векторов, «CatBoost» и «случайный лес»), интегрирующие геномные и негеномные биомаркеры, для прогнозирования стероидной резистентности и риска развития буллезных дерматозов, что позволило классифицировать таких больных на стероид-резистентных и стероид-чувствительных.

Автор лично проводила комбинированную терапию плазмаферезом и внутривенным человеческим иммуноглобулином у 32 стероид-резистентных больных акантолитической пузырчаткой, осуществляла динамическое клинко-лабораторное наблюдение за эффективностью и переносимостью лечения.

Лепеховой А.А. самостоятельно проведён анализ статистических данных и обобщение, сформулированы научные выводы и практические рекомендации. По материалам исследования подготовлены и представлены доклады на российских и международных научных конференциях, а также опубликованы научные работы в рецензируемых журналах.

Обоснованность и достоверность результатов исследования, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность научных положений, выводов и практических рекомендаций подтверждена изучением репрезентативной выборки, включающей 150 больных тяжёлыми буллезными дерматозами и 92 здоровых

донора, а также проспективным наблюдением за пациентами в течение 3 лет. Автор чётко сформулировала цель и задачи исследования, которые были полностью решены в ходе работы.

Для получения и обработки результатов использован комплекс современных методов: HLA-типирование DRB1 и DQB1 аллелей на уровнях низкого и высокого разрешения, молекулярно-биологический анализ полиморфизма A3669G (rs6198) гена NR3C1, оценка экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов, иммуноферментный анализ цитокинового и хемокинового профиля (IL-4, IL-10, IL-15, TNF- α , CCL11, CXCL8) и гранулизина в сыворотке и пузырной жидкости, а также валидация прогностических моделей машинного обучения (логистическая регрессия, метод опорных векторов, CatBoost, «случайный лес») с применением «Grid Search» и кросс-валидации.

Статистическая обработка данных проведена с использованием современных методов анализа (включая дисперсионный анализ, тест хи-квадрат, логистическую регрессию и метрики качества моделей машинного обучения). Полученные результаты не противоречат имеющимся в литературе данным, но существенно дополняют и расширяют их за счёт комплексного многоуровневого анализа геномных и негеномных биомаркеров в российской популяции. Выводы и практические рекомендации полностью вытекают из собственных результатов исследования, логически обоснованы и подтверждены клиническими данными.

Новизна исследования и полученных результатов

В ходе проведённого исследования автором впервые на большой клинической выборке (150 пациентов) с редкими и тяжёлыми жизнеугрожающими буллезными дерматозами выполнен комплексный многоуровневый анализ геномных и негеномных биомаркеров, что позволило установить предикторы тяжёлого течения заболеваний и развития стероидной резистентности.

В представленной работе проведено исследование значения аллелей и гаплотипов HLA-DRB1 и HLA-DQB1, полиморфизма A3669G (rs6198) гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора, уровня экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов, а также цитокинового и хемокинового профиля (TNF- α , IL4, IL10, IL15, CCL11, CXCL8) и концентрации гранулизина в сыворотке крови и пузырной жидкости у больных акантолитической пузырчаткой, буллезным пемфигоидом Левера и синдромом Стивенса–Джонсона/токсическим эпидермальным некролизом. Проведённый анализ позволил выявить роль конкретных HLA-аллелей и гаплотипов, полиморфизма гена NR3C1 и изменений экспрессии глюкокортикоидных рецепторов в развитии стероидной резистентности и тяжёлого течения буллезных дерматозов в российской популяции, а также установить взаимосвязь этих маркеров с коморбидностями и клинической тяжестью заболеваний.

В ходе проведённого исследования автором впервые разработана и успешно валидирована инновационная прогностическая модель машинного обучения на основе методов опорных векторов, «CatBoost» и «случайного леса». Модель интегрирует геномные и негеномные биомаркеры и позволяет с высокой точностью прогнозировать риск развития стероидной резистентности, а также стратифицировать пациентов по тяжести течения заболевания и наличию или отсутствию стероидной чувствительности.

Впервые в российской популяции показана высокая диагностическая и прогностическая ценность анализа пузырной жидкости как источника локальных биомаркеров, непосредственно в месте формирования пузыря. Установлено, что различия цитокинового и хемокинового профиля в пузырной жидкости могут быть использованы для дифференциальной диагностики различных форм буллезных дерматозов, оценки тяжести течения и мониторинга ответа на терапию.

Впервые клинически апробирован и доказал высокую эффективность новый метод преодоления стероидной резистентности при акантолитической

пузырчатке с помощью комбинированной терапии системными глюкокортикостероидами, плазмаферезом и внутривенным человеческим иммуноглобулином, позволивший достичь длительной клинической ремиссии у 94% пациентов и значительно снизить суточную дозу глюкокортикостероидов.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Полученные результаты вносят существенный вклад в решение одной из наиболее сложных и социально значимых проблем современной дерматовенерологии – диагностики, прогнозирования течения и терапии тяжёлых буллезных дерматозов, сопровождающихся высокой летальностью, частым развитием осложнений и выраженным снижением качества жизни пациентов. Работа представляет значительный научный и практический интерес в отношении понимания патогенеза стероидной резистентности и тяжёлого течения пузырных дерматозов на геномном и негеномном уровне.

В ходе проведённого исследования автором впервые установлен комплекс клинико-лабораторных, иммуногенетических и молекулярно-биологических маркеров, определяющих риск развития стероидной резистентности и тяжёлого течения акантолитической пузырчатки, буллезного пемфигоида Левера, синдрома Стивенса-Джонсона и токсического эпидермального некролиза. Выявлены ассоциации конкретных аллелей и гаплотипов HLA-DRB1 и HLA-DQB1, полиморфизма A3669G (rs6198) гена NR3C1, уровня экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов, а также изменений цитокинового и хемокинового профиля с тяжестью заболевания и ответом на терапию. Особую практическую ценность имеет доказанная информативность анализа пузырной жидкости как доступного и высокоспецифичного источника локальных биомаркеров, позволяющего проводить дифференциальную диагностику различных нозологических форм буллезных дерматозов и осуществлять мониторинг течения заболевания на ранних этапах.

Проведённый комплексный анализ клинических, иммуногенетических, молекулярно-биологических и цитокиновых характеристик выявил несколько

уровней ассоциаций геномных и негеномных маркеров с клиническими проявлениями и ответом на терапию. Разработанная и валидированная автором инновационная прогностическая модель машинного обучения, интегрирующая геномные и негеномные биомаркеры, позволяет с высокой точностью прогнозировать риск развития неадекватного ответа на терапию системными глюкокортикостероидами, а также классифицировать пациентов буллезными дерматозами на стероид-резистентных и стероид-чувствительных.

На основании полученных результатов автором предложена современная интегративная концепция патогенеза стероидной резистентности при буллезных дерматозах, согласно которой резистентность формируется вследствие сочетанного нарушения геномных (ассоциаций с определёнными аллелями HLA, полиморфизма A3669G (rs6198) гена NR3C1 β -изоформы глюкокортикоидного рецептора, а также изменения экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидного рецептора) и негеномных механизмов (дисбаланса цитокинового и хемокинового профиля, а также повышенного уровня гранулизина в сыворотке крови и пузырной жидкости).

В рамках исследования разработаны диагностические биомаркеры на геномном и негеномном молекулярном уровне, позволяющие на ранних этапах прогнозировать развитие стероидной резистентности и своевременно назначать персонализированную адъювантную терапию (плазмаферез, внутривенный человеческий иммуноглобулин, азатиоприн, метотрексат и др.) больным тяжёлыми буллезными дерматозами, что способствует снижению риска осложнений от высоких доз преднизолона и продлению периода ремиссии.

Кроме того, получены дифференциально-диагностические биомаркеры, в частности гранулизин в пузырной жидкости, который позволяет надёжно дифференцировать токсический эпидермальный некролиз от других форм буллезных дерматозов, таких как акантолитическая пузырьчатка и буллезный пемфигоид Левера, нередко имитирующих клиническую картину тяжёлых лекарственных реакций. Комплиментарно к проведению диагностической биопсии (гистологический метод исследования) при аутоиммунных буллезных

дерматозах в режиме реального времени может быть применен анализ пузырной жидкости для экспресс-диагностики и дифференциальной диагностики с тяжелыми лекарственными реакциями, такими как синдром Стивенса-Джонсона и токсический эпидермальный некролиз.

Впервые в клинической практике была продемонстрирована высокая эффективность нового метода преодоления стероидной резистентности при акантолитической пузырчатке с помощью комбинированной терапии системными глюкокортикостероидами, дискретным плазмаферезом и внутривенным человеческим иммуноглобулином, проводимой на фоне динамической оценки цитокинового и хемокинового профилей до и после лечения. Применение данной схемы позволило достичь длительной клинической ремиссии у 94% пациентов, значительно (более чем в 3 раза) снизить суточную дозу системных глюкокортикостероидов и предотвратить развитие рецидивов в среднем на 2,87 года. Курс терапии хорошо переносился, не сопровождался тяжёлыми нежелательными явлениями и может быть повторён при необходимости (3–5 курсов с интервалом 6 месяцев).

Основные положения диссертационного исследования и авторские разработки служат развитию научных основ и методологии ведения пациентов с тяжёлыми буллезными дерматозами.

Материалы и выводы диссертационной работы внедрены в лечебную практику Клиники кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), используются в учебном процессе на кафедрах кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 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.

Печатные работы по теме диссертации, полнота изложения результатов диссертации в опубликованных работах

По результатам исследования автором опубликовано 35 научных работ, в том числе - 5 в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, 7 статей в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science 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.

Структура и оценка содержания диссертации и ее завершенность

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.

Во введении убедительно обоснована актуальность темы, чётко сформулированы цель и задачи исследования, изложены элементы научной новизны, теоретическая и практическая значимость работы, а также определены основные положения, выносимые на защиту.

Первая глава содержит обстоятельный и всесторонний обзор литературы, в котором проведён глубокий анализ современных данных по эпидемиологии, этиологии и патогенезу тяжёлых буллезных дерматозов, освещены ограничения

существующих методов диагностики и подробно рассмотрена проблема стероидной резистентности. Отдельные подразделы посвящены ключевым нозологическим формам – акантолитической пузырчатке, буллезному пемфигоиду Левера, синдрому Стивенса-Джонсона и токсическому эпидермальному некролизу. Особое внимание уделено ассоциациям с аллелями HLA I и II классов, механизмам развития стероидной резистентности на уровне глюкокортикоидных рецепторов, анализу цитокинового и хемокинового состава пузырьной жидкости и сыворотки крови как потенциальных источников биомаркеров, а также возможностям применения методов машинного обучения в дерматологии. Обзор имеет достаточный объём, написан хорошим литературным языком, структурирован и информативен. Он демонстрирует глубокое знание автором проблемы, аналитическое мышление и способность к научному обобщению.

Во второй главе подробно описаны материалы и методы исследования. Представлен дизайн работы (исследование «случай-контроль» и проспективные когортные наблюдения), дана подробная характеристика клинических групп по диагнозам, полу, возрасту и степени тяжести заболевания с использованием общепринятых индексов (PDAI, BPDAI, BSA, SCORTEN). Чётко определены критерии стероидной резистентности. Описаны все лабораторные методики: HLA-типирование DRB1 и DQB1 аллелей на уровнях низкого и высокого разрешения, оценка экспрессии α - и β -изоформ глюкокортикоидных рецепторов, определение полиморфизма A3669G (rs6198) гена NR3C1, исследование цитокинового и хемокинового профиля в сыворотке и пузырьной жидкости, а также алгоритмы машинного обучения. Представлены методы статистической обработки данных.

Глава «Результаты исследования» содержит подробное изложение собственных данных. Автор провела всесторонний анализ распределения HLA-аллелей и гаплотипов в высоком и низком разрешениях, их связи с тяжестью течения и стероидной резистентностью, оценила экспрессию глюкокортикоидных рецепторов и частоту полиморфизма NR3C1, разработала

и валидировала прогностические модели машинного обучения, а также подробно изучила цитокиновый и хемокиновый профили в сыворотке и пузырьной жидкости. Кроме того, представлена оценка эффективности и переносимости комбинированной терапии плазмаферезом и внутривенным человеческим иммуноглобулином у 32 стероид-резистентных больных акантолитической пузырчаткой. Результаты хорошо иллюстрированы таблицами и рисунками.

В главе 4 приведены клинические случаи, иллюстрирующие наиболее яркие и типичные наблюдения. В главе 5 (обсуждение) автор проводит глубокий сравнительный анализ полученных данных с результатами других исследователей, на основании чего формулирует выводы, полностью соответствующие поставленным цели и задачам. В работе также приведены чёткие практические рекомендации по внедрению в клиническую практику HLA-типирования, оценки полиморфизма и экспрессии глюкокортикоидных рецепторов, анализа цитокинового профиля пузырьной жидкости и моделей машинного обучения в алгоритм персонифицированной диагностики и терапии больных тяжёлыми буллезными дерматозами.

Выводы и практические рекомендации логично вытекают из изложенного материала, полностью соответствуют цели и задачам исследования. Научные положения, выдвигаемые на защиту, обоснованы, убедительно представлена достоверность результатов и выводов. Автореферат соответствует основным положениям диссертации.

Принципиальных замечаний к выполнению работы нет.

Рекомендации по дальнейшему использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертационного исследования могут быть использованы врачами-дерматовенерологами амбулаторного и стационарного звена, а также клиническими фармакологами при оказании специализированной помощи пациентам с тяжёлыми буллезными дерматозами. Полученные результаты

могут быть адаптированы для других дерматологических и ревматологических заболеваний, в терапии которых используются системные глюкокортикостероиды.

Основные положения диссертационного исследования могут быть использованы в учебном процессе системы высшего и дополнительного профессионального образования по специальностям 3.1.23. Дерматовенерология и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Лепеховой Анфисы Александровны на тему «Разработка диагностических биомаркеров для персонифицированной терапии больных тяжелыми буллезными дерматозами» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение крупной научной проблемы – разработки системы диагностических биомаркеров (геномных и негеномных), позволяющих прогнозировать стероидную резистентность и тяжёлое течение буллезных дерматозов, обосновать персонифицированный подход к терапии этих жизнеугрожающих заболеваний, имеющей важное значение для дерматовенерологии и клинической фармакологии.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п. 15 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 № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом № 1179/Р от 29.08.2023 г., приказом № 0787/Р от 24.05.2024 г.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Лепехова Анфиса Александровна заслуживает присуждения искомой

ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.23. Дерматовенерология и 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Отзыв обсужден на совместной научной конференции сотрудников отделений дерматовенерологии, клинической фармакологии и кафедры дерматовенерологии и дерматоонкологии ФУВ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (протокол №6 от «21» апреля 2026 г.)

Руководитель отделения дерматовенерологии,
заведующий кафедрой дерматовенерологии ФУВ
ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского
доктор медицинских наук, профессор

Молочков А.В.

Врач клинический фармаколог
отделения клинической фармакологии
ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского,
к.м.н., доцент

Ерофеева С.Б.

Подпись д.м.н., профессора Молочкова А.В. и к.м.н., доцента Ерофеевой С.Б. заверяю.

Ученый секретарь
ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского,
доктор медицинских наук
профессор



Берестень Н.Ф.

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского», 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, +7 (495) 681-55-85, mz_moniki_info@mosreg.ru, <https://monikiweb.ru/>