

Протокол № 6

заседания диссертационного совета Д 208.115.01

при ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России

от 30 октября 2019 года

Повестка: прием к защите диссертации Абрамовой Татьяны Валерьевны на тему «Пузырчатка: иммунопатогенез, диагностика и патогенетическая терапия (клинико-экспериментальное исследование)», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

Слушали: заключение комиссии Диссертационного совета Д 208.115.01 при ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по диссертации Абрамовой Татьяны Валерьевны «Пузырчатка: иммунопатогенез, диагностика и патогенетическая терапия (клинико-экспериментальное исследование)», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.10 кожные и венерические болезни.

Комиссия утверждена на заседании диссертационного совета 02 октября 2019 года, протокол № 3 в составе: *председателя* доктора медицинских наук Знаменской Л.Ф., *членов комиссии* доктора медицинских наук, профессора Олисовой О.Ю., доктора медицинских наук, профессора Матушевской Е.В.

Комиссия диссертационного совета рассмотрела диссертацию Абрамовой Татьяны Валерьевны «Пузырчатка: иммунопатогенез, диагностика и патогенетическая терапия (клинико-экспериментальное исследование)», выполненную при научном консультировании член-корреспондента РАН, д.м.н., профессора Кубанова А.А., представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.10 - кожные и венерические болезни, и установила, что она соответствует профилю Диссертационного совета Д 208.115.01 при

Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России).

Работа выполнена в отделе дерматологии, отделении клинической дерматологии, отделе лабораторной диагностики ИППП и дерматозов ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России.

Диссертация посвящена изучению механизмов развития пузырчатки и разработке подхода к патогенетически обоснованному методу терапии.

Работа выполнена на основании клинико - лабораторного обследования 132 больных пузырчаткой (контрольную группу составили 100 здоровых лиц).

Для оценки степени тяжести больных пузырчаткой диссертантом применены клинические индексы оценки степени тяжести пузырчатки: индекс площади поражения при пузырчатке (PDAI, Pemphigus Disease Area Index), оценка тяжести аутоиммунного буллезного заболевания кожи (ABSIS, Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score), индекс активности вульгарной пузырчатки (PVAS, Pemphigus Vulgaris Activity Score). При сравнительном анализе клинических индексов PDAI, ABSIS, PVAS для оценки тяжести больных пузырчаткой определено, что наиболее информативным является индекс площади поражения при пузырчатке (PDAI), позволяющий дифференцировать больных по степени тяжести заболевания (легкая, средняя и тяжелая).

Диссертантом изучены уровни циркулирующих антител к десмоглеинам 1 и 3 типов у больных пузырчаткой. Установлено, что уровень циркулирующих антител к десмоглеину 3 типа у больных вульгарной пузырчаткой ($146,20 \pm 16,20$ RU/ml) выше, чем у больных листовидной пузырчаткой ($35,54 \pm 10,90$ RU/ml), а уровень антител к десмоглеину 1 типа у больных листовидной пузырчаткой выше ($147,43 \pm 17,57$ RU/ml), чем у больных вульгарной пузырчаткой ($88,36 \pm 16,60$ RU/ml) при $p < 0,001$. Выявлена прямая корреляционная зависимость между уровнем антител к десмоглеинам

и степени тяжести пузырчатки, установленной с помощью индекса площади поражения при пузырчатке (Pemphigus Disease Area Index, PDAI), что нашло отражение в практических рекомендациях диссертанта (легкая степень тяжести определяется у больных пузырчаткой при уровне антител к десмоглеину 3 типа до 100 RU/ml и уровне антител к десмоглеину 1 типа - до 80 RU/ml, средняя степень тяжести - при уровне антител к десмоглеину 3 типа - от 101 до 200 RU/ml и уровне антител к десмоглеину 1 типа - от 81 до 160 RU/ml, тяжелая степень - при уровне антител к десмоглеину 3 типа - более 201 RU/ml и уровне антител к десмоглеину 1 типа более 161 RU/ml).

Диссертантом изучена частота встречаемости полиморфизма гена *PERP* и количественное определение экспрессии структурного белка десмосом *PERP* у больных пузырчаткой. В результате анализа белок кодирующей нуклеотидной последовательности гена *PERP* у больных пузырчаткой в третьем экзоне гена *PERP* обнаружены два однонуклеотидных полиморфизма (SNP, Single nucleotide polymorphism): rs648802 (C611G) (несинонимичный) и rs648396 (T675C) (синонимичный).

Установлено, что у больных пузырчаткой статистически значимо чаще встречались гетерозиготные генотипы *C/G* (полиморфизм rs648802) и *T/C* (полиморфизм rs648396) в 3-м экзоне гена *PERP*, в то время как у здоровых лиц чаще встречались гомозиготные генотипы *G/G* (полиморфизм rs648802) и *C/C* (полиморфизм rs648396). Продемонстрирована связь между распределением аллельных вариантов, генотипов полиморфизма rs648802/rs648396 3-го экзона гена *PERP* и степенью тяжести пузырчатки.

Выявлено, что частота встречаемости генотипов 3-го экзона гена *PERP* различается в зависимости от клинического варианта пузырчатки (частота *TT/CC* генотипа выше у больных вульгарной пузырчаткой, в то время как у больных листовидной пузырчаткой выше частота встречаемости *CC/GG* генотипов).

Показано снижение экспрессии структурного белка десмосом *PERP* в коже больных пузырчаткой (как в области покрывки пузыря, так и в участках, прилегающих к пузырьному элементу и в видимо непораженной коже больных).

пузырчаткой) по сравнению со здоровыми лицами. При исследовании биоптатов больных пузырчаткой, полученных из участков видимо непораженной кожи выявлено статистически значимое снижение экспрессии белка PERP при увеличении тяжести заболевания (у больных легкой степенью - $702,58 \pm 78,44$ ед., средней степенью - $363,46 \pm 82,72$ ед., тяжелой степенью - $113,66 \pm 74,42$ ед. ($p < 0,05$)).

Продемонстрировано увеличение уровня экспрессии гена толл-подобного рецептора 7 типа (*TLR7*) в коже больных пузырчаткой по сравнению со здоровыми лицами. Выявлена положительная корреляционная связь между экспрессией гена, кодирующего толл-подобный рецептор 7 типа, и уровнем антител к десмоглеину 1 типа.

Диссертантом разработан подход к патогенетической терапии больных пузырчаткой, основанный на селективной сорбции антител к десмоглеину 3 типа из сывороток крови больных пузырчаткой с использованием созданного иммуносорбента, полученного путем ковалентного связывания крупнозернистой агарозной матрицы с человеческим рекомбинантным десмоглеином 3 типа (патент на изобретение «Способ получения селективного иммуносорбента для удаления антител-IgG к десмоглеину 3 типа из сыворотки крови больных пузырчаткой» № 2622005 от 08 июня 2017г.). Подтверждение эффективности разработанного иммуносорбента проводилось на лабораторных животных (неонатальных мышах инбредной линии BALB/c), у которых была воспроизведена экспериментальная модель пузырчатки путем внутрибрюшинного введения антител (IgG), полученных из сывороток крови больных пузырчаткой (патент на изобретение «Способ моделирования пузырчатки у мышей методом введения иммуноглобулинов класса G» № 2613718 от 21 марта 2017 года). При проведении экспериментов показано, что использование селективного иммуносорбента предотвращает развитие пузырчатки у лабораторных животных, в то время как введение неонатальным мышам IgG, полученных от больных пузырчаткой и не прошедших через иммуносорбент, вызывало развитие клинических, патоморфологических и иммуногистохимических признаков пузырчатки.

Исследования *in vitro* продемонстрировали снижение уровня IgG к десмогленину 3 типа из суммарных IgG, выделенных из пула сывороток крови больных пузырчаткой после прохождения через иммуносорбент (патент на изобретение «Применение селективного иммуносорбента для удаления антител к десмогленину 3 типа из сыворотки крови больных пузырчаткой» №2627652 от 09 августа 2017г.).

Основные результаты диссертационного исследования внедрены в практическую деятельность учреждений дерматовенерологического профиля: БУЗ «Воронежский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи», ГБУ Рязанской области БУ «Областной клинический кожно-венерологический диспансер», БУ «Республиканский кожно-венерологический диспансер» Минздрава Чувашии, ДЗ БУЗ Вологодской области «Вологодский областной кожно-венерологический диспансер», ГБУЗ Астраханской области "Областной кожно-венерологический диспансер".

Материалы диссертационной работы используются в учебном процессе по дополнительным профессиональным программам профессиональной переподготовки и повышения квалификации врачей по специальности «Дерматовенерология»; основным профессиональным образовательным программам высшего образования - программам подготовки кадров высшего образования в ординатуре по специальности «Дерматовенерология», научно-педагогических кадров в аспирантуре по специальности «Кожные и венерические болезни» на кафедре дерматовенерологии и косметологии Федерального государственного бюджетного учреждения дополнительного профессионального образования Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Результаты работы включены в учебно-методические пособия: «Дополнительная

профессиональная программа повышения квалификации врачей по специальности «Дерматовенерология», «Основная профессиональная образовательная программа высшего образования – программа подготовки кадров высшего образования в ординатуре по специальности 31.08.32 Дерматовенерология»; учебные пособия: «Пузырчатка», «Дифференциальная диагностика буллезных дерматозов».

По теме диссертации опубликовано 50 научных работ, из них 21 статья - в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Министерстве образования и науки Российской Федерации, в которых отражено основное содержание диссертации, 2 учебных пособия («Пузырчатка», «Дифференциальная диагностика буллезных дерматозов»), 3 патента на изобретения («Способ моделирования пузырьчатки у мышей методом введения иммуноглобулинов класса G» (№ 2613718, зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 21 марта 2017 г.), «Способ получения селективного иммуносорбента для удаления антител-IgG к десмоглеину 3 типа из сыворотки крови больных пузырьчаткой» (№ 2622005, зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 08 июня 2017г.), «Применение селективного иммуносорбента для удаления антител к десмоглеину 3 типа из сыворотки крови у больных пузырьчаткой» (№2627652, зарегистрирован в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 09 августа 2017г.)).

Наиболее полно результаты диссертационной работы отражены в следующих публикациях:

1. Кубанов А.А. Роль полиморфизмов гена PEPР в развитии акантолиза у больных истинной акантолитической пузырьчаткой / А.А. Кубанов, А.В. Миченко, Т.В. Абрамова, О.С. Кожушная, Н.В. Фриго, Л.Ф. Знаменская // Вестник дерматологии и венерологии. – 2013. – №.5. – С. 69–77.
2. Кубанов А.А. Исследование экспрессии белка PEPР в коже больных истинной акантолитической пузырьчаткой / А.А. Кубанов, О.Р. Катунина,

А.В. Миченко, Т.В. Абрамова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2013. – № 6. – С. 59–65.

3. Кубанов А.А. Возможная роль толл-подобного рецептора 7 типа в развитии истинной акантолитической пузырчатки / А.А. Кубанов, А.В. Миченко, Т.В. Абрамова, Л.Ф. Знаменская, С.В. Ротанов // Цитокины и воспаление. – 2013. – Том 12, № 4. – С. 11–17.

4. Кубанов А.А. Селективная иммуносорбция в терапии истинной акантолитической пузырчатки / А.А. Кубанов, Т.В. Абрамова // Цитокины и воспаление. – 2014. – Том 13, № 1. – С. 103.

5. Кубанов А.А. Современные методы терапии истинной акантолитической пузырчатки / А.А. Кубанов, Т.В. Абрамова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – № 4. – С. 19–27.

6. Кубанов А.А. К вопросам диагностики истинной акантолитической пузырчатки / А.А. Кубанов, Л.Ф. Знаменская, Т.В. Абрамова, С.И. Свищенко // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – № 6. – С. 121–130.

7. Кубанов А.А. Экспрессия проапоптотического белка у больных пузырчаткой / А.А. Кубанов, О.Р. Катунина, Т.В. Абрамова // Цитокины и воспаление. – 2014. – Том 13, № 4. – С. 31–36.

8. Кубанов А.А. Распознающие рецепторы врожденного иммунитета (толл-подобные рецепторы) в патогенезе заболеваний кожи / А.А. Кубанов, Т.В. Абрамова // Цитокины и воспаление. – 2015. – Том 14, № 1. – С. 11–18.

9. Кубанов А.А. Разработка экспериментальной модели вульгарной пузырчатки на лабораторных животных / А.А. Кубанов, А.Э. Карамова, К.В. Рог, Т.В. Абрамова, В.А. Смольяникова, А.Н. Мурашев, Д.А. Бондаренко // Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – № 4. – С. 76–83.

10. Кубанов А.А. Применение клинко-диагностических индексов в оценке тяжести пузырчатки (сравнительный анализ) / А.А. Кубанов, Т.В. Абрамова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2016. – № 3. – С. 36–46.

11. Кубанов А.А. Дифференциальная диагностика пузырных дерматозов / А.А. Кубанов, Л.Ф. Знаменская, Т.В. Абрамова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2016. – № 6. – С. 43–56.

12. Кубанов А.А. Экстракорпоральные методы терапии пузырчатки / А.А. Кубанов, Т.В. Абрамова, Е.К. Мураховская, А.В. Асоскова // Лечащий врач. - 2017. - №5. - С. 38-41.

Данные других авторов, использованных диссертантом для сравнения со своими результатами, обозначены в тексте диссертации соответствующими ссылками; материал без ссылок и заимствования отсутствует.

Изложенный в диссертационной работе объем выборки и статистический инструментарий достаточны для проведения исследования.

Диссертационная работа Абрамовой Т.В. «Пузырчатка: иммунопатогенез, диагностика и патогенетическая терапия (клинико-экспериментальное исследование)» является законченной научно-квалификационной работой, в которой установлена роль структур врожденного иммунитета и белка десмосом PEP в патогенезе пузырчатки, а также разработан подход к патогенетической терапии больных пузырчаткой, основанный на селективной сорбции антител к десмоглеину 3 типа из крови больных пузырчаткой.

Таким образом, диссертационная работа Абрамовой Татьяны Валерьевны соответствует требованиям пункта 9 «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 и может быть представлена к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.10 – кожные и венерические болезни.

Заключение комиссии:

1. Принять к защите диссертационную работу Абрамовой Татьяны Валерьевны на тему «Пузырчатка: иммунопатогенез, диагностика и патогенетическая терапия (клинико-экспериментальное исследование)» по специальности 14.01.10 – Кожные и венерические болезни, представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук.
2. Официальными оппонентами рекомендуется утвердить:

Махневу Наталью Викторовну, доктора медицинских наук, профессора, Главного врача государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной клинический кожно-венерологический диспансер» Министерства здравоохранения Московской области;

Теплюк Наталью Павловну, доктора медицинских наук, профессора кафедры кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Уфимцеву Марину Анатольевну, доктора медицинских наук, доцента, заведующего кафедрой дерматовенерологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Их согласие на участие в защите получено.

3. Утвердить в качестве ведущей организации Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

4. Разрешить печать автореферата на правах рукописи.

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ:

У кого есть вопросы? НЕТ

Ставлю вопрос на голосование

Кто за то, чтобы принять диссертацию в представленном виде?

За – все

Против - нет

Воздержавшиеся- нет

Решение принято единогласно

Председатель диссертационного совета

д.м.н.



Плахова К.И.

Ученый секретарь

диссертационного совета

к.м.н.

Карамова А.Э.