

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 208.115.01  
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
УЧРЕЖДЕНИЯ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ И КОСМЕТОЛОГИИ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
ДОКТОРА МЕДИЦИНСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 31 января 2020 г. № 1

О присуждении Абрамовой Татьяне Валерьевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора медицинских наук.

Диссертация «Пузырчатка: иммунопатогенез, диагностика и патогенетическая терапия (клинико–экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.10 – кожные и венерические болезни, принята к защите 30 октября 2019 года, протокол № 6, диссертационным советом Д 208.115.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 107076, г. Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6, совет утвержден Приказом Минобрнауки России от 11.04.2012 г. №105/нк.

Соискатель Абрамова Татьяна Валерьевна, 1973 года рождения, в 1996 году окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова» по специальности «Лечебное дело».

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук «Клинико–эпидемиологические особенности псориаза в субрегионах

Чувашии, диагностика и лечение» защитила в 2006 году в диссертационном совете К 208.072.03, созданном на базе Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Российский государственный медицинский университет» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию по специальности 14.00.11 – Кожные и венерические болезни.

Абрамова Т.В. в настоящее время работает старшим научным сотрудником научно–организационного отдела Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России). В период подготовки докторской диссертации Абрамова Т.В. являлась соискателем Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации с 11 июля 2014 года по 10 июля 2017 года (приказ № 157–и/гнц–71 от 11 июля 2014 г.).

Диссертация выполнена в отделе дерматологии, отделении клинической дерматологи, отделе лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем и дерматозов Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант – член–корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор Кубанов Алексей Алексеевич, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор.

Официальные оппоненты:

1. Махнева Наталия Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Московский областной клинический кожно–венерологический диспансер» Министерства здравоохранения Московской области, главный врач;
2. Теплюк Наталия Павловна – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова, профессор кафедры;
3. Уфимцева Марина Анатольевна – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра дерматовенерологии и безопасности жизнедеятельности, заведующий, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико–стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в своем положительном заключении, подписанном доктором медицинских наук, профессором, заведующим кафедрой кожных и венерических болезней Перламутровым Юрием Николаевичем и утвержденным проректором по научной работе, доктором медицинских наук, профессором Крихели Нателлой Ильиничной, указала, что диссертация Абрамовой Татьяны Валерьевны «Пузырчатка: иммунопатогенез, диагностика и патогенетическая терапия (клинико–экспериментальное исследование)» является законченной научно–квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится

решение актуальной научной проблемы – разработан подход к патогенетической терапии больных пузырчаткой, что имеет важное значение для дерматовенерологии. По научной новизне, практической значимости полученных результатов и объему выполненных исследований диссертационная работа Абрамовой Т.В. соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. №842 (с изменениями в редакциях постановлений Правительства от 02.08.2016г. № 748, от 01.10.2018г. №1168), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор Абрамова Т.В. заслуживает присуждения степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.10. – кожные и венерические болезни.

Соискатель имеет 112 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 50 работ, из них 21 – в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук, рекомендованных ВАК при Министерстве образования и науки Российской Федерации общим объемом 19,4 печатных листов. В опубликованных работах и автореферате изложены основные научные результаты диссертационного исследования.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Кубанов А.А., Миченко А.В., Абрамова Т.В., Кожушная О.С., Фриго Н.В., Знаменская Л.Ф. Роль полиморфизмов гена PERP в развитии акантолиза у больных истинной акантолитической пузырчаткой // Вестник дерматологии и венерологии. – 2013. – № 5. – С. 69–77.

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

3. Кубанов А.А., Катунина О.Р., Абрамова Т.В. и др. Исследование экспрессии белка PEPР в коже больных истинной акантолитической пузырчаткой // Вестник дерматологии и венерологии. – 2013. – № 6. – С. 59–65.
4. Кубанов А.А., Катунина О.Р., Абрамова Т.В. Экспрессия проапоптотического белка у больных пузырчаткой // Цитокины и воспаление. – 2014. – Том 13, № 4. – С. 31–36.
5. Кубанов А.А., Абрамова Т.В. Современные методы терапии истинной акантолитической пузырчатки // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – № 4. – С. 19–27.
6. Кубанов А.А., Знаменская Л.Ф., Абрамова Т.В. и др. К вопросам диагностики истинной акантолитической пузырчатки // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – № 6. – С. 121–130.
7. Кубанов А.А., Абрамова Т.В., Калинина П.А. Экспериментальное моделирование пузырчатки на животных // Биомедицина. – 2015. – № 3. – С. 78–87.
8. Кубанов А.А., Каримова А.Э., Рог К.В., Абрамова Т.В., Смольяникова В.А., Мурашев А.Н., Бондаренко Д.А. Разработка экспериментальной модели вульгарной пузырчатки на лабораторных животных // Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – № 4. – С. 76–83.
9. Кубанов А.А., Абрамова Т.В. Распознающие рецепторы врожденного иммунитета (толл-подобные рецепторы) в патогенезе заболеваний кожи // Цитокины и воспаление. – 2015. – Том 14, № 1. – С. 11–18.
10. Кубанов А.А., Абрамова Т.В. Применение клинико-диагностических индексов в оценке тяжести пузырчатки (сравнительный анализ) // Вестник дерматологии и венерологии. – 2016. – № 3. – С. 36–46.

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

12. Смольяникова В.А., Нефедова М.А., Кубанов А.А., Абрамова Т.В. Опыт использования конфокальной лазерной сканирующей микроскопии в диагностике буллезных дерматозов // Клиническая и экспериментальная морфология – 2017. – № 2(22). – С. 35–40.

На автореферат поступили отзывы:

– от заведующего кафедрой дерматовенерологии ФГБУ ВО «Южно–Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, доктора медицинских наук, профессора О.Р. Зиганшина;

– от заместителя директора по научно–клинической работе ФГБНУ «Медико–генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», доктора медицинских наук, профессора Р.А. Зинченко;

– от заведующего кафедрой дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, доктора медицинских наук, профессора А.Л. Бакулева;

– от заведующего кафедрой дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, доктора медицинских наук, профессора С.А. Хардиковой;

– от заведующего кафедрой дерматовенерологии с курсом косметологии и ПО имени проф. В. И. Прохоренкова ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно–Ясенецкого Минздрава России, доктора медицинских наук, профессора Ю.В. Карачевой;

– от доктора медицинских наук, профессора, профессора кафедры дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, А.А. Хрянина;

– от доктора медицинских наук, доцента, профессора кафедры дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России М.М. Тлиш;

Отзывы положительные, замечаний не содержат. В полученных отзывах отмечается актуальность темы исследования, высокий уровень научной новизны и практической значимости результатов. Указывается, что диссертация Абрамовой Т.В. является законченной научно-квалификационной работой. Установлено соответствие содержания работы специальности «кожные и венерические болезни» и требованиям положения ВАК, предъявляемым к докторским диссертациям.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается соответствием требованиям п. 22 и 24 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (ред. от 21.04.2016 г. № 335, от 01.10.2018г. № 1168), наличием научных работ по теме диссертационной работы за последние 5 лет.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований изучены молекулярно-биологические механизмы развития пузырчатки и разработан патогенетически обоснованный подход к терапии пузырчатки.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

Полученные диссертантом результаты исследований позволяют расширить представления о роли толл-подобных рецепторов 7 типа, структурного белка десмосом *PERP*, полиморфизмов rs648802 и rs648396 3 экзона гена *PERP* в патогенезе пузырчатки.

Доказана повышенная экспрессия гена, кодирующего толл-подобный рецептор 7 типа, по отношению к нормировочным генам *β-актин* и *PANK*, в коже больных пузырчаткой, по сравнению со здоровыми лицами. Установлена прямая связь между экспрессией гена сигнального паттерн-распознающего рецептора - толл-подобного рецептора 7 типа и уровнем антител к десмоглеину 1 типа в крови больных пузырчаткой.

Доказано, что группы больных пузырчаткой и здоровых лиц статистически значимо отличались по частоте распределения генотипов

полиморфизмов rs648802 и rs648396tc 3-го экзона гена *PERP*. Определены молекулярно-генетические предикторы развития пузырчатки (доказано увеличение частоты встречаемости гетерозиготных синонимичных генотипов *C/G* (полиморфизм rs648802) и *T/C* (полиморфизм rs648396) в 3-м экзоне гена *PERP* у больных пузырчаткой).

Установлены взаимосвязи между распределением аллельных вариантов и генотипов полиморфизмов rs648802/rs648396 3-го экзона гена *PERP* и степенью тяжести пузырчатки (при легкой степени тяжести преобладают аллели *C/G* и гомозиготные генотипы *CC/GG* полиморфизмов rs648802/rs648396; при средней и тяжелой степени тяжести заболевания - аллели *T/C*), а также клиническими формами пузырчатки (частота встречаемости *TT/CC* генотипа значимо выше у больных вульгарной пузырчаткой, в то время как у больных листовидной пузырчаткой выше частота встречаемости *CC/GG* генотипов); и возрастом, в котором возникли первые клинические проявления (частота выявления гетерозиготных полиморфизмов у пациентов с пузырчаткой постепенно увеличивалась, в то время как гомозиготных, напротив, уменьшалась).

Доказано снижение экспрессии структурного белка десмосом *PERP* (эффиктора апоптоза p53, связанного с периферическим миелиновым белком 22) в коже больных пузырчаткой, по сравнению со здоровыми лицами, приводящее к нарушению функций десмосом. Диссертантом доказано статистически значимое снижение экспрессии белка десмосом *PERP* в видимо непораженных участках кожи больных пузырчаткой, при увеличении степени тяжести заболевания. Установлена обратная корреляционная связь между экспрессией белка *PERP* и длительностью заболевания у больных пузырчаткой.

Выявлена взаимосвязь между степенью тяжести пузырчатки, определяемой с использованием клинического индекса площади поражения при пузырчатке (PDAI) и уровнем циркулирующих антител к десмоглеинам 1 и 3 типов.



**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

Определена диагностическая значимость клинических индексов для оценки степени тяжести больных пузырчаткой (индекса площади поражения при пузырчатке (Pemphigus Disease Area Index, PDAI), оценки тяжести аутоиммунного буллезного заболевания кожи (Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score, ABSIS), индекса активности вульгарной пузырчатки (Pemphigus Vulgaris Activity Score, PVAS)). Установлено, что наиболее информативным показателем для оценки тяжести и эффективности проводимой терапии больных пузырчаткой является индекс площади поражения при пузырчатке (PDAI), отражающий степень тяжести и позволяющий дифференцировать легкую, среднюю и тяжелую степень тяжести пузырчатки.

Диссертантом установлены дополнительные критерии оценки степени тяжести больных пузырчаткой на основании определения уровня антител к десмоглеинам 1 и 3 типа методом иммуноферментного анализа. Легкая степень тяжести заболевания определяется у больных пузырчаткой при уровне антител к Dsg3 до 100 RU/ml и уровне антител к Dsg1 до 80 RU/ml, средняя степень тяжести – при уровне антител к Dsg3 от 101 RU/ml до 200 RU/ml и уровне антител к Dsg1 от 81 RU/ml до 160, тяжелая степень – при уровне антител к Dsg3 более 201 RU/ml и уровне антител к Dsg1 более 161 RU/ml.

Разработан и обоснован подход к патогенетической терапии больных пузырчаткой, основанный на селективной сорбции антител к десмоглеину 3 типа, с использованием твердофазного иммуносорбента, полученного путем ковалентного связывания рекомбинантного десмоглеина 3 типа, экспрессированного в клетках грибов Yeast, с твердофазным носителем – крупнозернистой агарозной матрицей Affi-Gel-15. Доказаны высокие сорбционные характеристики разработанного селективного иммуносорбента. Использование иммуносорбента предотвращало развитие

пузырчатки у лабораторных животных (новорожденных мышах линии BALB/c), в то время как введение препаратов суммарных иммуноглобулинов G, полученных из сывороток крови больных пузырчаткой, вызывало развитие клинических, патоморфологических и иммуногистохимических признаков пузырчатки у мышей. При исследовании *in vitro* установлено значимое снижение уровня антител к десмоглеину 3 типа из суммарных иммуноглобулинов G, выделенных из пула сывороток крови больных пузырчаткой, после проведения иммуносорбции на селективном твердофазном сорбенте. При иммуносорбции антител к десмоглеину 3 типа из сывороток крови больных пузырчаткой с разной активностью на разработанном иммуносорбенте, доказано уменьшение титра антител.

Диссертантом получено 3 патента на изобретения Российской Федерации:

1. Кубанова А.А., Кубанов А.А., Карамова А.Э., Абрамова Т.В. Способ моделирования пузырчатки у мышей методом введения иммуноглобулинов класса G. Патент Российской Федерации на изобретение № 2613718, заявка № 2015150125, приоритет изобретения 24 ноября 2015 г. Дата государственной регистрации в государственном реестре изобретений Российской Федерации 21 марта 2017 года – 11 с.

2. Кубанова А.А., Кубанов А.А., Карамова А.Э., Абрамова Т.В. Способ получения селективного иммуносорбента для удаления антител–IgG к десмоглеину 3 типа из сыворотки крови больных пузырчаткой. Патент Российской Федерации на изобретение № 2622005, заявка № 2015150126, приоритет изобретения 24 ноября 2015 г. – 16 с.

3. Кубанова А.А., Кубанов А.А., Дерябин Д.Г., Карамова А.Э., Абрамова Т.В., Шпилевая М.В. Применение селективного иммуносорбента для удаления антител к десмоглеину 3 типа из сыворотки крови у больных пузырчаткой. Патент Российской Федерации на изобретение № 2627652, заявка № 2016129257, приоритет изобретения 18 июля 2016. – 21 с.

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе

на кафедре дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, кафедре дерматовенерологии ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н.Бурденко» Минздрава России, кафедре дерматовенерологии с курсом косметологии ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России.

Разработанные критерии оценки степени тяжести пузырчатки с использованием индекса площади поражения при пузырчатке, на основании определения уровня антител к десмоглеинам 1 и 3 типов, внедрены в практическую деятельность ГБУ Рязанской области БУ «Областной клинический кожно–венерологический диспансер», ДЗ БУЗ Вологодской области «Вологодский областной кожно–венерологический диспансер», БУЗ «Воронежский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи», БУ «Республиканский кожно–венерологический диспансер» Минздрава Чувашии, ГБУЗ Астраханской области «Областной кожно–венерологический диспансер», что подтверждается актами внедрения.

#### **Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

Научные положения, выводы и практические рекомендации, изложенные в диссертации, основаны на результатах клинического и лабораторного обследования 132 больных пузырчаткой (контрольную группу составляли 100 здоровых лиц) с использованием современных валидизированных методов исследования (иммуноферментный анализ, морфологический метод, иммуногистохимический метод - реакция непрямой иммунофлуоресценции с использованием *ex vivo* конфокального лазерного сканирующего микроскопа; молекулярно–генетические методы (секвенирования, полимеразной цепной реакции с детекцией продуктов в режиме реального времени).

Для выполнения экспериментального раздела работы использованы лабораторные животные - 142 неонатальные мыши инбредной линии BALB/c (99 мышей - для создания экспериментальной модели пузырчатки, 43 мыши - для оценки эффективности разработанного иммуносорбента).

Результаты лабораторных и инструментальных методов исследований при обследовании больных пузырчаткой, проведении экспериментальных работ получены на сертифицированном оборудовании отдела лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путем и дерматозов ФГБУ «ГЦДК» Минздрава России.

Инструмент статистического анализа формировался дифференцированно, в зависимости от данных, подлежащих обработке. При статистической обработке материала использованы стандартные методы с расчетом средней величины, среднего квадратического отклонения, ошибки средней с расчетом достоверности отличий по t-критерию Стьюдента, непараметрические методы математической статистики, U-критерий Манна-Уитни, тест Кохрана-Армитаджа, ранговую корреляцию Спирмена, четырехпольную таблицу, двусторонний критерий  $\chi^2$ , показатель отношения шансов (Odds Ratio), метод  $\Delta\Delta Ct$  (2(-Delta Delta C(T) (2- $\Delta\Delta Ct$ )).

Получено 3 патента на изобретения: «Способ моделирования пузырчатки у мышей методом введения иммуноглобулинов класса G» (№ 2613718), «Способ получения селективного иммуносорбента для удаления антител-IgG к десмоглеину 3 типа из сыворотки крови больных пузырчаткой» (№ 2622005), «Применение селективного иммуносорбента для удаления антител к десмоглеину 3 типа из сыворотки крови у больных пузырчаткой» (№2627652).

Основные результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на всероссийских, международных (в том числе всемирных) конференция, съездах, конгрессах.

Вышеперечисленное дает основание считать научные положения и выводы достоверными и обоснованными.

Личный вклад диссертанта состоит в непосредственном участии на всех этапах исследования: в проведении анализа состояния вопроса по данным современной литературы, формировании цели, задач исследования и методологического подхода к решению поставленных задач. Диссертантом лично проведены обследование и лечение больных пузырчаткой; статистическая обработка и интерпретация полученных результатов; сформулированы положения, выносимые на защиту, выводы диссертации, практические рекомендации, подготовлены основные публикации по выполненной работе.

Диссертация соответствует критерию внутреннего единства и охватывает поставленные научные цели и задачи, что обусловлено концептуальностью, этапностью исследования и отсутствием методологических противоречий. В ходе проведенного исследования выполнены все поставленные задачи, сформулированы обоснованные выводы и практические рекомендации. Автореферат отражает основные положения диссертации.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертационная работа Абрамовой Татьяны Валерьевны «Пузырчатка: иммунопатогенез, диагностика и патогенетическая терапия (клинико–экспериментальное исследование)» представляет собой законченную, научно-квалификационную работу, в которой решена актуальная научная проблема, заключающаяся в определении молекулярно-биологических механизмов развития пузырчатки и разработке подхода к патогенетической терапии больных пузырчаткой, основанного на селективной сорбции антител к десмоглеину 3 типа из сывороток крови больных пузырчаткой, что имеет важное значение для дерматовенерологии, и соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением

