

На правах рукописи



Мак Дарья Витальевна

**Диагностическая и прогностическая значимость микроРНК
при аутоиммунной пузырчатке**

3.1.23. Дерматовенерология

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2025

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 руководители:

доктор медицинских наук, доцент

Теплюк Наталия Павловна

доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН

Шимановский Николай Львович

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

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 «20» апреля 2026 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.17 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени 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 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (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

Аутоиммунная пузырчатка (АП) представляет собой группу тяжёлых и потенциально угрожающих жизни хронических дерматозов, проявляющихся образованием пузырей на коже и слизистых оболочках в результате акантолиза кератиноцитов (Schmidt E. et al., 2019; Malik A. M. et al., 2022). Патогенез заболевания связан с аутоиммунной реакцией, в ходе которой аутоантитела фиксируются на ключевых белках десмосом – десмоглеинах 1 (Dsg1) и 3 (Dsg3) (Schmidt E. et al., 2019; Malik A. M. et al., 2022).

Заболеваемость AP в Российской Федерации составляет 1,9 случая на 100 000 населения по данным за 2015 год, а распространенность — 4,8 случаев на 100 000 взрослого (Махнева Н.В. и др., 2016). Однако ее распространённость на Евразийском континенте неравномерна, и варьирует в зависимости от географического региона, при этом наибольшее количество случаев на 100 000 населения ежегодно наблюдается в странах Индийского субконтинента, Средиземноморья и Ближнего Востока (Rosi-Schumacher M. et al., 2023). Например, самая высокая распространённость была выявлена в Иране — 30 случаев на 100 000 человек в год, а самая низкая — в Болгарии — 0,38 случая на 100 000 человек в год. Самый высокий уровень заболеваемости был зафиксирован в Иране — 5 случаев на 100 000 человек в год, в Индии (округ Триссур) — 0,44 на 100 000, в Греции — 0,93 на 100 000, в Турции — до 0,24 на 100 000 (Rosi-Schumacher M. et al., 2023). Среди различных форм AP наиболее распространены вульгарная и листовидная пузырчатка, которые составляют 90-95% всех случаев заболевания, при этом вульгарная пузырчатка (ВП) является наиболее частым вариантом заболевания и составляет до 65% всех случаев; листовидная пузырчатка (ЛП) встречается реже и составляет до 27% всех случаев AP (Xuan R. R. et al., 2018).

Поражения кожи и слизистых оболочек при AP приводят к значительному снижению качества жизни пациентов, при этом повреждение барьерных функций также увеличивает риск инфекционных осложнений, что усугубляет общее состояние и может привести к летальному исходу (Leshem Y.M. et al., 2014; Scaglione G.L. et al., 2018). Однако, редкая встречаемость AP в сочетании со сложностями дифференциальной диагностики часто становится причиной задержки в постановке диагноза от момента манифестации, что в свою очередь приводит к отсрочке начала патогенетической терапии и утяжелению течения заболевания (Kridin K. et al., 2018).

В настоящее время диагностика AP основывается на комплексной оценке гистологической картины, результатах иммуноферментного анализа (ИФА), а также прямой и непрямой иммунофлюоресценции (РИФ) (Лепехова А.А., 2024). Однако данные методы в ряде случаев могут быть недоступны в клинической практике в связи с высокой стоимостью,

недостаточной оснащённостью лабораторий или возможных расхождений в интерпретации результатов ИФА и непрямой РИФ, а также ложноотрицательных результатах серологических методов диагностики у пациентов с подтверждённым на основании биопсии диагнозом, или, в других случаях, возможны ложноположительные результаты при отсутствии иных лабораторных или клинических признаков АП, что усложняет постановку точного диагноза (Buch A.C. et al., 2014; Махнева Н.В. и др., 2014; Теплюк Н.П. и др., 2023).

Таким образом, несмотря на достаточную эффективность современных методов постановки диагноза АП, существенная доля диагностических ошибок обуславливает актуальность поиска новых специфичных диагностических методов (Теплюк Н.П. и др., 2023).

Одним из перспективных направлений является применение биомаркеров, которые могут быть использованы для мониторинга прогрессирования заболевания и прогноза ответа на проводимую терапию, что может способствовать в выборе оптимального подхода к лечению (Long H. et al., 2018). В качестве таких биомаркеров рассматриваются микроРНК, которые, благодаря своей стабильности в биологических жидкостях, демонстрируют более высокую чувствительность и специфичность по сравнению с традиционными методами диагностики (Баулина Н. М. и др., 2016; Condrat C. E. et al., 2020).

МикроРНК — короткие (18-22 нуклеотида) некодирующие молекулы РНК, регулирующие посттранскрипционную экспрессию генов, блокируя трансляцию белков или вызывая деградацию мРНК, играющие ключевую роль в регуляции таких биологических процессов, как апоптоз, дифференцировка клеток, межклеточные коммуникации и иммунный ответ (O'Brien J. et al., 2028). Нарушения в регуляции микроРНК могут способствовать развитию аутоиммунных заболеваний, включая АП, путем активации воспалительных путей и регулирования активности Т- и В-клеток (Gaál Z., 2024). Исследования последних лет показали, что микроРНК могут служить высокочувствительными и специфичными биомаркерами благодаря своей тканеспецифичности и способности быстро выходить из клеток, сохраняя стабильность в биологических жидкостях, что делает их потенциально более эффективными по сравнению с традиционными методами диагностики (Condrat C. E. et al., 2020). Однако число публикаций, посвящённых исследованию экспрессии микроРНК в контексте АП, остаётся ограниченным (Теплюк Н.П. и др., 2024). Оценка степени тяжести заболевания играет особую роль в планировании дальнейшей терапевтической тактики ведения пациента, а также в возможном прогнозировании течения заболевания. Оценить состояние больных АП можно благодаря различным клинико-диагностическим индексам, активно внедрённым в практику современных врачей (Кубанов А. А. и др., 2016). Однако все индексы являются субъективными, и не образуют единой системы оценки тяжести заболевания.

Основными средствами терапии АП являются системные глюкокортикостероиды (ГКС), однако наблюдается развитие стероидной резистентности как на уровне рецепторов, так и в процессе доставки глюкокортикоидов в клетки (Теплюк Н. П. и др., 2014). В связи с этим, оправдана адъювантная терапия цитостатиками и биологическими препаратами, однако исследования роли микроРНК в контексте резистентности к терапии не проводились, что открывает новые возможности для изучения их прогностической ценности при АП.

Таким образом, перспективной является разработка стандартизированного протокола для оценки экспрессии микроРНК при АП, что позволит не только повысить точность диагностики, но и может стать важным методом мониторинга тяжести заболевания, эффективности лечения и прогноза при стероидрезистентных формах АП.

Степень разработанности темы исследования

На сегодняшний день при АП исследована экспрессия более 170 микроРНК, однако, особое внимание уделяется исследованию miR-338-3p и miR-424-5p в мононуклеарных клетках периферической крови, поскольку, согласно исследованиям, нарушение их экспрессии может быть ключевым элементом патогенеза АП (Теплюк Н.П. и др., 2024; Xu M. et al., 2020; Wang M. et al., 2017; He W. Et al., 2022). Согласно одной из гипотез, miR-338-3p может способствовать дисбалансу Th1/Th2 клеток, снижая экспрессию матричной РНК (мРНК) гена RNF114 через трансфекцию, что, в свою очередь, влияет на регуляцию апоптоза и активацию Т-клеток (Yang P. et al., 2014; Liu Q. et al., 2018; Lin N. et al., 2018). В других работах предполагается, что TRADD может быть геном-мишенью для miR-338-3p, так как при сверхэкспрессии данной микроРНК наблюдается снижение уровня мРНК TRADD как *in vitro*, так и *in vivo* (Liu Q. et al., 2018). Таким образом, сверхэкспрессия miR-338-3p может быть одним из факторов, запускающих дисбаланс между Th1 и Th2 клетками, что является ключевым элементом патогенеза АП (Rizzo C. et al., 2005; Теплюк, Н.П. и др., 2024). В других исследованиях было показано, что у пациентов с активной стадией АП уровень экспрессии miR-338-3p значительно выше, чем в контрольной группе; при этом его уровень коррелирует с тяжестью заболевания, на основании измерения индекса PDAI (Pemphigus Disease Area Index) (Lin N. et al., 2018). Представленные данные делают miR-338-3p перспективным биомаркером для диагностики АП, а также для мониторинга активности заболевания и прогнозирования его течения. В отличие от miR-338-3p, исследование роли miR-424-5p в патогенезе АП было проведено с использованием методов биоинформатики и компьютерного моделирования генов-мишеней, а не *in vitro* (Wang M. et al., 2017). В результате анализа было выявлено 52 потенциальных гена-мишени miR-424-5p, которые участвуют в активации p38 MAPK киназы и активации MAPK сигнального пути (Wang M. et al., 2017). Данный путь играет важную роль в регуляции аутоиммунных реакций, клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза, а

также связан с реорганизацией цитоскелета, разрушением десмосом и апоптозом кератиноцитов (Berkowitz P. et al., 2005; Chernyavsky A.I. et al., 2007; Li X. et al., 2014). Кроме того, исследования показывают, что у пациентов с ВП наблюдается статистически значимое повышение уровня экспрессии miR-424-5p по сравнению со здоровой группой контроля (He W. et al., 2022; Wang M. et al., 2017).

Таким образом, выявление и анализ экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p представляют собой перспективные направления для разработки новых методов диагностики АП.

Цель и задачи исследования

Цель исследования — определить диагностическую значимость микроРНК при аутоиммунной пузырчатке и их прогностическую ценность для оценки степени тяжести и эффективности терапии системными глюкокортикостероидами.

Задачи исследования:

1. Изучить экспрессию микроРНК в мононуклеарных клетках периферической крови у больных аутоиммунной пузырчаткой методом ПЦР в реальном времени.
2. Провести корреляционный анализ уровня экспрессии микроРНК с клинико-диагностическим индексом оценки тяжести аутоиммунной пузырчатки PDAI (Pemphigus Disease Area Index).
3. Исследовать динамику экспрессии микроРНК у больных аутоиммунной пузырчаткой в процессе лечения системными глюкокортикостероидами, включая пациентов с признаками стероидной резистентности.
4. Выявить возможные пороговые значения уровня экспрессии микроРНК для раннего прогнозирования эффективности терапии системными глюкокортикостероидами и стероидной резистентности.

Научная новизна

Впервые в России изучены относительные уровни экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p при АП, в ходе исследования также получены данные ранее не описанные в источниках литературы.

Впервые изучена динамика экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p у пациентов с АП в зависимости от формы заболевания, активности патологического процесса, степени тяжести, длительности заболевания, локализации, получаемой терапии системными ГКС, а также признаков стероидной резистентности.

Установлено, что уровень miR-338-3p коррелирует с тяжестью и длительностью заболевания, указывая на её возможную роль в регуляции иммунного ответа и десмосомальной адгезии — ключевых звеньях в патогенезе АП. Также выявлены различия в динамике

экспрессии miR-424-5p у пациентов с резистентностью к ГКС, что открывает перспективы для дальнейшего изучения микроРНК как потенциальных терапевтических мишеней.

Впервые на основании полученных данных оптимизирован алгоритм ведения пациентов с АП.

Теоретическая и практическая значимость работы

Практическая значимость исследования связана с разработкой новых диагностических и прогностических инструментов для клинической практики.

Определены пороговые значения экспрессии: miR-338-3p (> 3.753) и miR-424-5p (> 4.367), которые обеспечивают диагностику АП с высокой чувствительностью (94.59%) и специфичностью (92.00% для miR-338-3p и 90.00% для miR-424-5p), что особенно ценно для раннего выявления АП, в том числе у пациентов с изолированным поражением слизистых оболочек, а также дифференциальной диагностики с другими буллезными дерматозами. Кроме того, разработана шкала оценки тяжести АП на основе miR-338-3p: лёгкая степень (3.753–5.313), средняя степень (5.313–17.47), тяжёлая степень (> 17.47).

Также, установлено что, динамика экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p на фоне лечения системными ГКС отражает эффективность проводимой терапии, при этом стабильный или возрастающий уровень miR-338-3p в совокупности с тенденцией к увеличению относительного уровня экспрессии miR-424-5p в процессе патогенетической терапии системными ГКС, ассоциирован с риском развития стероидной резистентности, что способно помочь клиницистам своевременно определять состояние пациента и разрабатывать оптимальную терапевтическую стратегию.

Методология и методы исследования

Сбор и обработка полученных данных осуществлялись в соответствии с разработанным дизайном исследования, включавшим оценку относительных уровней экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, а также статистических методов, соответствующих поставленным целям и задачам.

Проведено проспективное сравнительное исследование с формированием четырех независимых выборок — пациентов с АП в активной стадии заболевания, пациентов с АП в стадии ремиссии, контрольной группы условно здоровых добровольцев, а также контрольной группы пациентов с иными буллезными дерматозами в активной стадии.

Объектом исследования послужили пациенты с установленным диагнозом АП старше 18 лет с двумя клиническими вариантами пузырчатки: ВП и ЛП, а также условно-здоровая группа контроля и контрольная группа пациентов с иными буллезными дерматозами. Предметом исследования являются относительные уровни экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p.

Всем участникам проводилась клиническая оценка, включая определение степени выраженности заболевания по индексу PDAI (Pemphigus Disease Area Index), сбор анамнеза, а также комплекс лабораторных исследований (выделение мононуклеарных клеток периферической крови и оценка относительных уровней экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени).

Личный вклад автора

Автором диссертационного исследования проведен анализ отечественной и зарубежной литературы, на основании которого были сформулированы цели, задачи, определен дизайн исследования, а также проведён набор пациентов и формирование групп пациентов, выполнена интерпретация клинических и лабораторных показателей. Осуществлена статистическая обработка полученных данных, послужившая основой для научных выводов и практических рекомендаций. Результаты исследования нашли отражение в публикациях в рецензируемых научных изданиях, а также были представлены в формате докладов на профильных научных конференциях

Положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с аутоиммунной пузырчаткой в активной стадии заболевания уровни экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p существенно повышены по сравнению с уровнем экспрессии у пациентов с аутоиммунной пузырчаткой в стадии ремиссии, условно здоровых субъектов, а также пациентов с иными буллезными дерматозами.

2. При аутоиммунной пузырчатке наблюдается положительная корреляция между уровнем экспрессии miR-338-3p и степенью тяжести заболевания, оцененной по индексу PDAI (Pemphigus Disease Area Index), на основании которой разработана шкала классификации тяжести аутоиммунной пузырчатки, которая может быть использована с целью объективизации и стандартизации оценки состояния пациентов.

3. Динамика экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p на фоне лечения системными глюкокортикостероидами отражает эффективность проводимой терапии, при этом снижение уровня miR-338-3p коррелирует с клиническим улучшением и положительным ответом на терапию глюкокортикостероидами, тогда как стабильный или возрастающий уровень miR-338-3p в совокупности с тенденцией к возрастанию относительного уровня экспрессии miR-424-5p в процессе патогенетической терапии, ассоциирован с риском развития стероидной резистентности.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 3.1.23. Дерматовенерология: п.1 — эпидемиологические показатели дерматологического профиля и инфекций. Особенности эпидемиологии дерматозов в различных регионах

Российской Федерации; п.2 — этиология и патогенез дерматозов (изучение причинно-следственных связей между генетическими, патоморфологическими, иммунологическими, биохимическими, функциональными особенностями и клиническими проявлениями заболеваний); п.4 — диагностика дерматозов с использованием клинических, лабораторных, инструментальных и других методов исследования. Разработка диагностических критериев, дифференциальный диагноз дерматозов.

Также диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология: п.9 — изучение взаимодействия лекарственных средств, разработка наиболее рациональных комбинаций при проведении современной фармакотерапии; п.12 — разработка методологии и проведение терапевтического лекарственного мониторинга препаратов с учетом клинической эффективности и возможности проявления нежелательных реакций лекарственных средств.

Степень достоверности и апробация результатов

Результаты настоящего исследования характеризуются высокой степенью достоверности, что обусловлено обширными клиническими и лабораторными данными, а также применением диагностических и статистических методов. Сделанные выводы и предложенные рекомендации корректны и аргументированы, логично следуют из полученных данных и непосредственно вытекают из полученных результатов, отражая цели и задачи исследования.

Материалы диссертации доложены на научно-врачебной конференции кафедры и клиники кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 21 марта 2023 года; VI съезде фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций, новые люди – новые лекарства» 22 ноября 2023 года; XVII научно-практической конференции дерматовенерологов и косметологов с международным участием Санкт-Петербургские дерматологические чтения 26 октября 2023 года; научно-врачебной конференции кафедры и клиники кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 18 июня 2024 года.

Апробация научно-квалификационной работы на соискание ученой степени кандидата медицинских наук состоялась на научно-практической конференции, проведенной на базе кафедры кожных и венерических болезней имени В.А. Рахманова Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) (протокол №20 от 3 июня 2025 года).

Публикации по теме диссертации

По результатам исследования автором опубликовано 7 работ, в том числе 3 научные статьи в издании, индексируемом в международной базе Scopus, 4 публикации в сборниках материалов всероссийских научных конференций.

Структура и объем диссертации

Работа изложена на 166 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, раздела материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложения. Список литературы содержит 162 источника, в том числе 28 отечественных и 134 зарубежных. Текст иллюстрирован 40 рисунками и 23 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Диссертационная работа выполнена на клинической базе кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Института клинической медицины Н.В. Склифосовского УКБ № 2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Лабораторные исследования проводились на базе кафедры молекулярной фармакологии и радиобиологии имени академика П.В. Сергеева МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет). Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Протокол №02-23 от 26.01.2023). Дизайн исследования сформулирован как проспективное сравнительное исследование (Рисунок 1).

В исследование включено 82 пациента разделенных на четыре группы:

Группа 1 – 37 с впервые выявленным или ранее установленным диагнозом «Аутоиммунная пузырчатка» в активной стадии заболевания; 28 (75,7%) пациентов с диагнозом «Вульгарная пузырчатка» и 9 (24,3%) с диагнозом «Листовидная пузырчатка»; 9 мужчин (24,3%) и 28 женщин (75,7%), средний возраст $54 \pm 13,93$ год.

Группа 2 – 20 пациентов с установленным диагнозом «Аутоиммунная пузырчатка» в ремиссии, продолжающейся более 1 года, и получающих поддерживающую дозу системных ГКС; 14 (70%) пациентов с диагнозом «Вульгарная пузырчатка» и 6 (30%) с диагнозом «Листовидная пузырчатка»; 7 мужчин (35%) и 13 женщин (65%), средний возраст $56 \pm 12,81$ года.

Группа 3 – контрольная группа из 20 условно здоровых участников; 15 женщин (75%) и 5 мужчин (25%); средний возраст составил $34 \pm 11,5$ лет.

Группа 4 – контрольная группа пациентов с иными буллезными дерматозами в активной стадии заболевания; 10 пациентов: 4 с диагнозом «Буллезный пемфигоид Лёвера» (40%), 2 – с эрозивно-язвенной формой красного плоского лишая (20%), 2 – с диагнозом «Герпетиформный дерматит Дюринга» (30%), и 1 с диагнозом «Рубцующий пемфигоид» (10%); 7 женщин (70%) и 3 мужчин (30%), средний возраст составил $65 \pm 18,58$ лет.

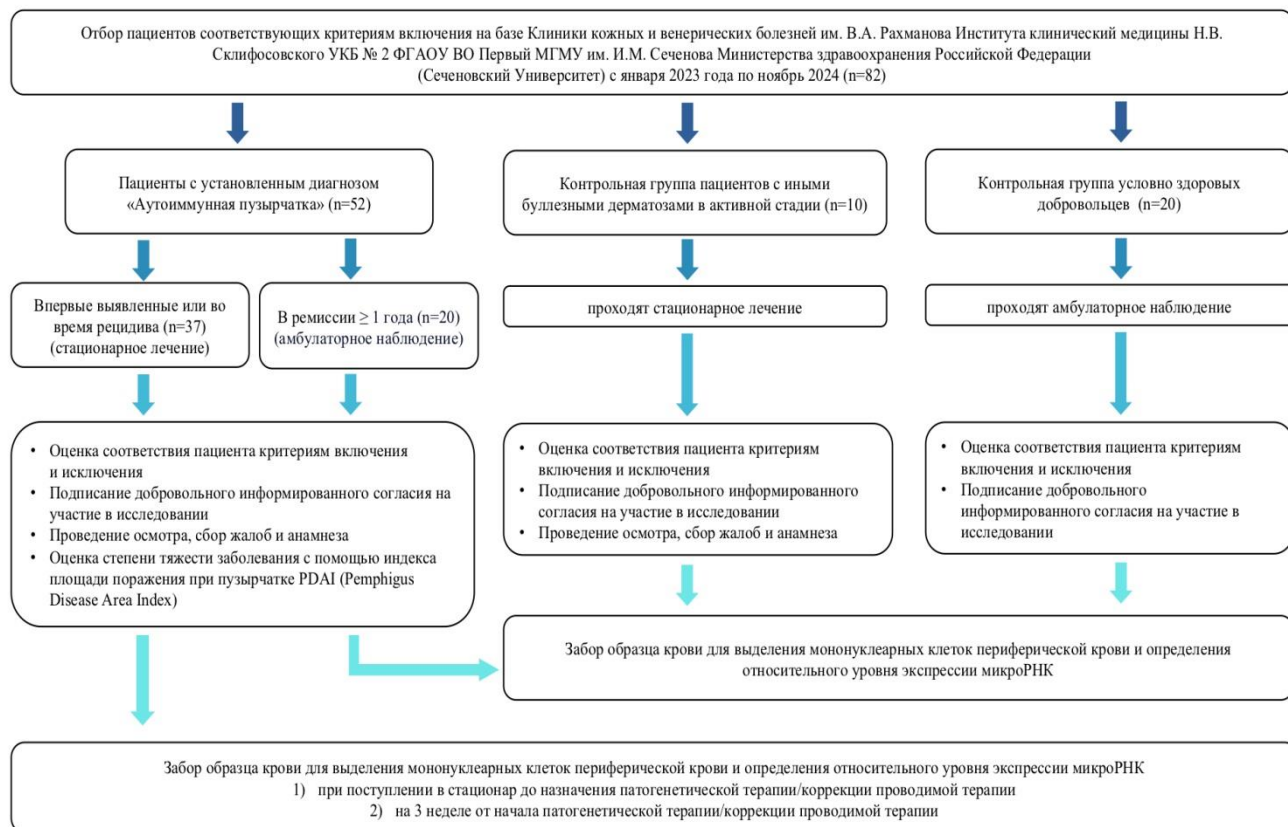


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критерии включения пациентов в исследование: лица обоих полов с ранее или впервые установленным диагнозом «Вульгарная пузырчатка» или «Листовидная пузырчатка»; возраст пациентов от 18 лет; добровольное желание пациента и наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании; согласие на обработку персональных данных. Критерии включения в группу контроля с иными буллезными дерматозами: лица обоих полов с ранее или впервые установленным диагнозом «Буллезный пемфигоид Лёвера», «Герпетиформный дерматит Дюринга», «Красный плоский лишай слизистой оболочки полости рта и губ, эрозивно-язвенная или буллезная форма», «Рубцующий пемфигоид» в активной стадии заболевания; возраст от 18 лет; желание добровольца и наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании; согласие на обработку персональных данных. Критерии включения в группу контроля условно-здоровых участников: лица обоих полов; возраст от 18 лет; желание добровольца и наличие подписанного информированного

согласия на участие в исследовании; согласие на обработку персональных данных. Критерии невключения: беременность, лактация, тяжёлые сопутствующие или аутоиммунные заболевания, отказ от участия. Критерий исключения: желание прекратить участие.

Диагноз АП устанавливался на основе жалоб, анамнеза пациентов, характерной клинической картины, положительного результата на наличие антител в сыворотке крови к десмоглеинам 1 и/или 3, а также гистологических признаков (обнаружение в биоптатах интраэпидермального супрабазального акантолиза с формированием щелевидных полостей, содержащих акантолитические клетки), и положительных результатов прямой иммунофлюоресценции (отложение IgG и компонента C3 комплемента на уровне межклеточных соединений шиповатого слоя эпидермиса). Оценка степени тяжести АП проводилась с помощью индекса площади поражения при пузырчатке PDAI (Pemphigus Disease Area Index - индекс площади поражения при пузырчатке), где легкая степень тяжести определяется значением до 15 баллов, средняя — в диапазоне от 15 до 45 баллов, а тяжелая — свыше 45 баллов.

Все пациенты в активной стадии заболевания проходили лечение в стационаре клиники кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова Института клинической медицины Н.В. Склифосовского УКБ № 2 ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). Забор проб для исследования в данной группе осуществлялся дважды: забор первой пробы происходил при поступлении в стационар, и у 18 (48,65%) пациентов производился до начала патогенетической терапии системными ГКС в соответствии с преднизолоновым эквивалентом (0 мг), 19 пациентов (51,35%) на момент поступления уже получали терапию ГКС в дозе $24,6 \pm 16,7$ мг; 17 пациентов получали терапию преднизолоном (89,47%), 2 – метилпреднизолоном (10,53%) (забор образца производился до повышения дозы системных ГКС); для второй пробы забор материала происходил на третьей неделе патогенетической терапии ГКС в дозе $81,5 \pm 8,16$ мг.

У пациентов в стадии ремиссии забор образцов происходил амбулаторно в день посещения врача. Контрольная группа также формировалась в амбулаторных условиях, и забор материала проводился во время посещения клиники. Все пациенты подписали информированное добровольное согласие перед включением в исследование.

Для оценки уровня относительной экспрессии микроРНК у пациентов с АП и групп контроля был проведен литературный поиск для выбора исследуемых микроРНК и методики их выделения. Анализ литературных источников показал, что в исследованиях, посвященных микроРНК при АП было изучено более 120 микроРНК в различных биологических субстратах, но отсутствует консенсус в отношении диагностически значимых для заболевания микроРНК. Однако, основываясь на имеющихся экспериментальных данных, как наиболее перспективные

для дальнейших исследований и специфичными для данного заболевания были выбраны пять микроРНК: miR-338-3p, miR-424-5p, miR-584-5p, miR-155-5p, miR-326.

В качестве субстрата для оценки относительного уровня экспрессии микроРНК в данном исследовании были выбраны мононуклеарные клетки периферической крови (лимфоциты, моноциты, дендритные клетки), поскольку данные клетки играют ключевую роль в иммунном ответе и развитии воспалительного процесса (Precazzini F. Et al., 2021). Для анализа экспрессии микроРНК использовался метод stem-loop ПЦР-РВ, который был выбран как точный и специфичный за счет использования шпильковых праймеров, обеспечивающих селективное связывание с 3'-концом зрелой микроРНК и исключающих амплификацию ее предшественников, что позволяет достоверно определить даже низкие уровни микроРНК. Кроме того, stem-loop ПЦР-РВ является экономически более доступной методикой по сравнению с альтернативными методами, и не требует сложных биоинформатических расчетов, что делает его более применимой к рутинной исследовательской практике (Kramer M. F., 2011; Zhao Y. et al., 2018).

У пациентов осуществлялся забор периферической венозной крови в пробирки с антикоагулянтом ЭДТА К2 с аэрозольным покрытием. После взятия образцов крови в течение 5 часов после забора проводили выделение МКПК методом центрифугирования в градиенте плотности Фиколл ($1,077 \text{ г/см}^3$) («ПанЭко», Россия). Оценка экспрессии микроРНК выполняли в триплетах методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), используя набор «2,5× Реакционная смесь для ПЦР-РВ с SYBR Green I» (Синтол, Россия) в общем объеме 25 мкл (Рисунок 2). Смесь для ПЦР включала 10 мкл 2,5× реакционной смеси с SYBR Green I, 1 мкл смеси праймеров (10 пмоль/мкл) в 5-кратном разведении, 0,5 мкл MgCl_2 (25 мМ), 1 мкл кДНК в 5-кратном разведении и 12,5 мкл ddH₂O. Программа амплификации состояла из начальной денатурации (95°C, 10 мин), 40 циклов (95°C – 30 сек, 60°C – 20 сек, 72°C – 1 мин) и финального этапа (95°C – 5 мин). Реакцию проводили на приборе Bio-Rad iCycler iQ5 (Bio-Rad Laboratories, Inc, США). Оценка уровня экспрессии микроРНК проводили путем ее сравнения с экспрессией малой ядерной РНК U6, используемой в качестве контроля благодаря ее стабильному уровню экспрессии. Интенсивность флуоресцентного сигнала выражалась в относительных единицах флуоресценции (ОЕФ). Результатом ПЦР-РВ являлось значение порогового цикла (Ct) - количество циклов амплификации, необходимых для превышения флуоресцентным сигналом порогового уровня. Данный показатель находился в обратной зависимости от концентрации целевой нуклеиновой кислоты: чем ниже Ct, тем выше уровень экспрессии микроРНК в образце.

В ходе проводимых ПЦР-РВ с образцами пациентов, экспериментально было установлено, что оптимальными для получения пиков плавления и кривых плавления с не

менее 1000 относительных единиц флуоресценции (ОЕФ) в ПЦР-РВ для подобранных последовательностей прямых и обратных праймеров, а также исследуемой кДНК, служит разведение кДНК и синтезированных праймеров в 5 раз.

Для микроРНК miR-584-5p, miR-155-5p, miR-326 при трехкратном повторении ПЦР-РВ на 5 образцах пациентов из группы №1, а также 5 образцах из группы №3 репрезентативных данных получено не было, оптимальных пиков плавления и кривых плавления не наблюдалось (пики до 300 ОЕФ). Таким образом, miR-584-5p, miR-155-5p, miR-326 были в дальнейшем выведены из исследования по причине отсутствия достоверных данных об экспрессии.

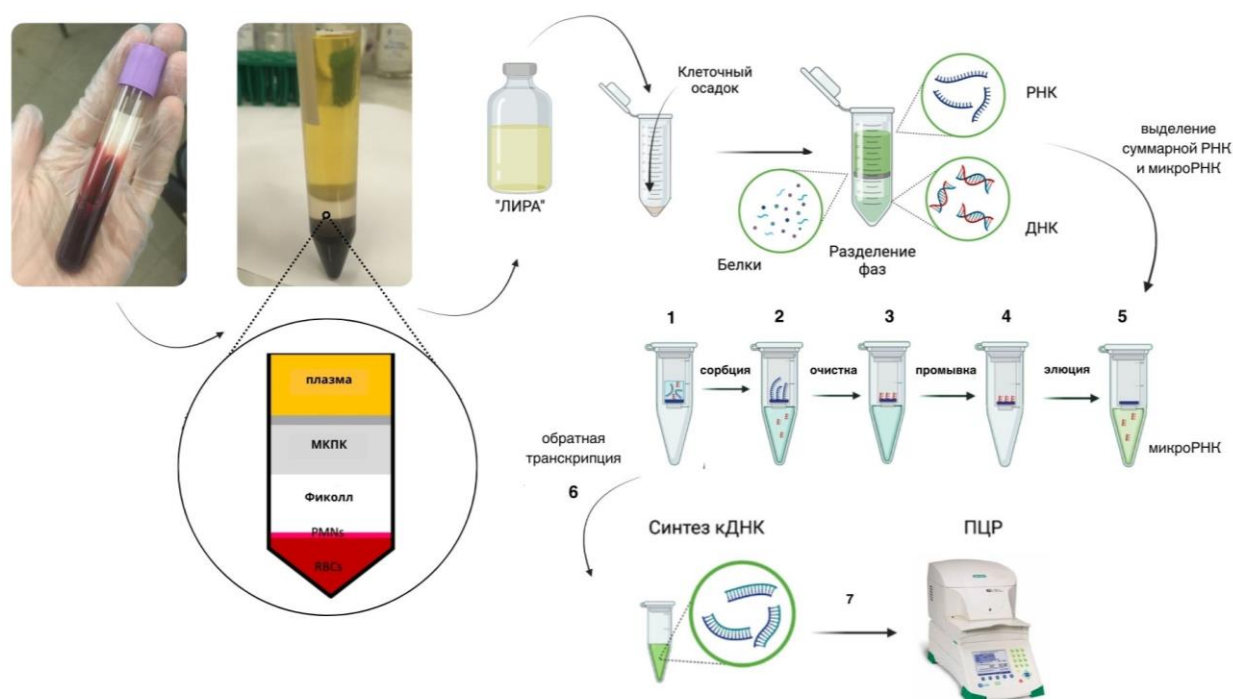


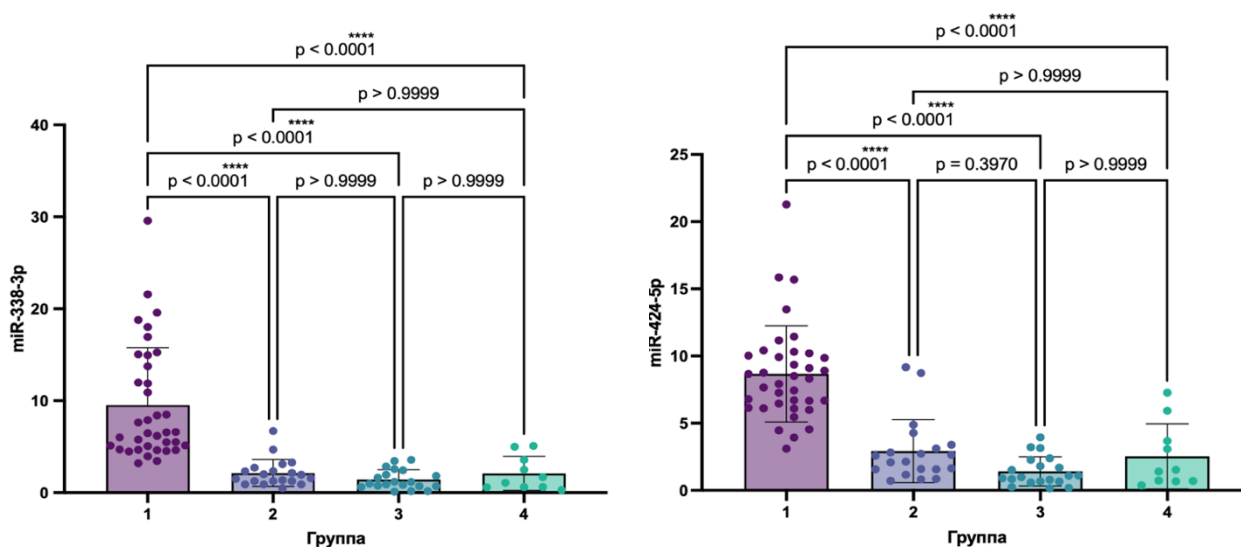
Рисунок 2 – Процесс выделения микроРНК из мононуклеарных клеток периферической крови

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ и оценка диагностической значимости относительного уровня экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p у пациентов с аутоиммунной пузырчаткой

В рамках исследования были изучены уровни экспрессии микроРНК miR-338-3p и miR-424-5p, установлено значительное повышение экспрессии обеих микроРНК у пациентов с АП в активной стадии заболевания по сравнению с другими группами ($p < 0.0001$) (Рисунок 3). Установлено, что уровень экспрессии miR-338-3p в группе №1 значимо отличается от групп № 2, 3 и 4 ($p < 0.0001$), таким образом, по сравнению с группой №2 уровень экспрессии miR-338-3p в группе №1 был выше в 2,18 раза (на 118%), по сравнению с группой №3 – в 3,13 раза (на 213%), а по сравнению с группой №4 – в 2,44 раза (на 144%). Между группами 2 и 3, 2 и 4, а также 3 и 4 статистически значимых различий не наблюдалось ($p > 0.9999$) (Рисунок 3).

Для miR-424-5p установлено, что уровень экспрессии в группе №1 был достоверно выше, чем в группах 2, 3 и 4 ($p < 0.0001$). Таким образом, по сравнению с группой №2 уровень экспрессии miR-424-5p в группе №1 был выше в 1,95 раза (на 95%), по сравнению с группой №3 – в 3,40 раза (на 240%), а по сравнению с группой №4 – в 2,46 раза (на 146%). В то же время между группами 2, 3 и 4 значимых различий не наблюдалось ($p > 0.05$) (Рисунок 3).



Примечание: 1 – пациенты с АП в активной стадии заболевания; 2 – пациенты с АП в стадии ремиссии; 3 – контрольная группа условно здоровых участников; 4 – контрольная группа пациентов с иными буллезными дерматозами в активной стадии заболевания

Рисунок 3 – Относительные уровни экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p

Сравнение уровней экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p не выявило статистически значимых различий ($p=0.4896$). При анализе экспрессии в зависимости от формы АП (ВП или ЛП) значимых различий также не установлено ($p=0.1760$ для miR-338-3p; $p=0.5421$ для miR-424-5p), несмотря на более высокие показатели экспрессии при ВП. Изучение влияния локализации высыпаний (кожа, слизистые, кожа и слизистые) показало тенденцию к более высокой экспрессии miR-338-3p при поражении кожи и слизистых, однако различия не достигли статистической значимости ($p=0.0528$). Для miR-424-5p значимых различий также не отмечено ($p=0.2797$).

Влияние системных ГКС на экспрессию микроРНК оценивали в группах пациентов, не получавших ГКС, и тех, кто находился на терапии (средняя доза $24,6 \pm 16,7$ мг). Для miR-338-3p различия между группами не были значимыми ($p=0.1505$). В то же время для miR-424-5p установлено статистически значимое снижение экспрессии у пациентов, получавших ГКС ($p=0.0392$), что может указывать на возможное влияние системных ГКС на регуляцию и уровень экспрессии данной микроРНК.

Корреляционный анализ выявил умеренную положительную связь между длительностью заболевания и экспрессией miR-338-3p у пациентов, не получавших ГКС ($p=0.0274$), в то время как в группе с ГКС подобная корреляция отсутствовала ($p=0.9857$). Для miR-424-5p значимых корреляций с длительностью заболевания не установлено ($p>0.05$). Динамика экспрессии микроРНК в ходе проводимой терапии системными ГКС изучалась на 1-й и 3-й неделе. Для miR-338-3p отмечено значимое снижение экспрессии к 3-й неделе ($p=0.0001$), тогда как для miR-424-5p изменения не были значимыми ($p=0.5822$) (Рисунок 4).

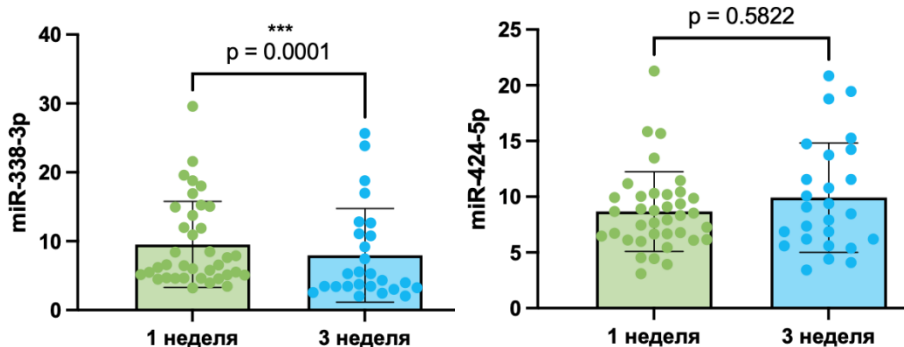


Рисунок 4 – Относительные уровни экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p в группах пациентов с аутоиммунной пузырчаткой в активной стадии на первой и третьей неделе нахождения на стационарном лечении и терапии глюкокортикостероидами

ROC-анализ подтвердил высокую диагностическую ценность miR-338-3p и miR-424-5p как биомаркеров АП. Для miR-338-3p площадь под ROC-кривой (AUC) составила 0,9711 ($p<0.0001$) с пороговым значением $>3,753$, обеспечивающим чувствительность 94,59% и специфичность 92,00%. Для miR-424-5p AUC составила 0,9581 ($p<0.0001$) с пороговым значением $>4,367$ (чувствительность 94,59%, специфичность 90,00%). Высокие показатели чувствительности и специфичности подтверждают потенциал обеих микроРНК для диагностики АП (Рисунок 5).

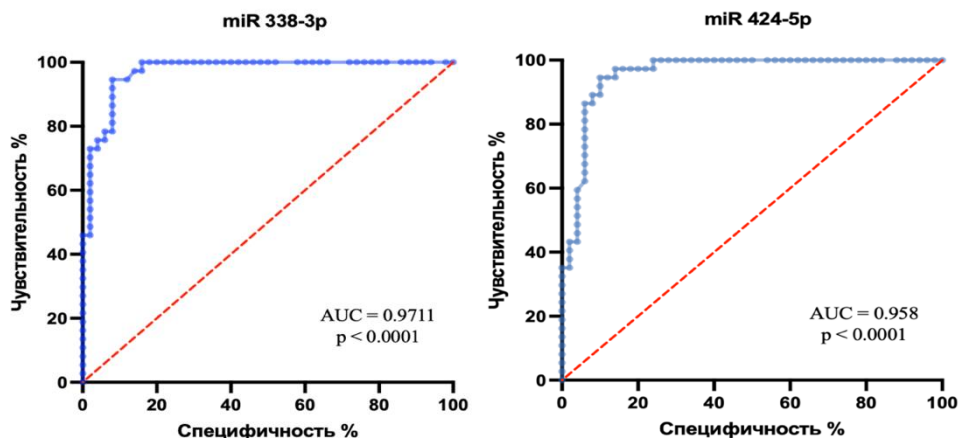


Рисунок 5 – ROC-анализ чувствительности и специфичности относительных уровней экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p

Оценка значимости относительного уровня экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p микроРНК для определения степени тяжести аутоиммунной пузырчатки

Для оценки связи уровней экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p с тяжестью АП, выраженной через индекс площади поражения (PDAI, Pemphigus Disease Area Index), проведен корреляционный анализ. Установлена выраженная положительная корреляция между экспрессией miR-338-3p и индексом PDAI ($r=0.8280$, $p<0.0001$), что свидетельствует о сильной зависимости между повышением уровня miR-338-3p и тяжестью заболевания (Рисунок 6). В то же время, для miR-424-5p значимой корреляции с PDAI не выявлено ($r=0.2166$, $p=0.1980$), что указывает на отсутствие существенной связи с клинической тяжестью АП.

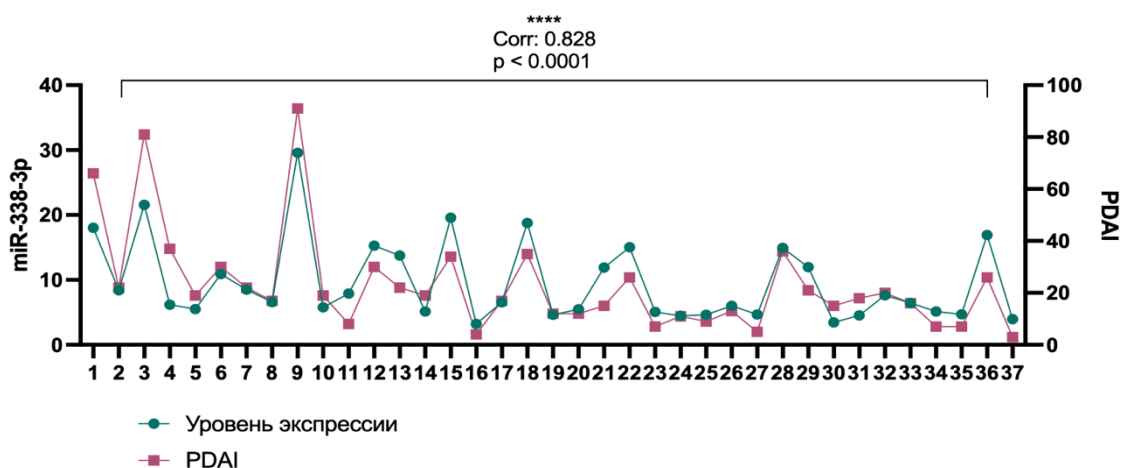


Рисунок 6 – Связь между относительным уровнем экспрессии miR-338-3p и величиной значения индекса PDAI

Проведенный статистический анализ выявил значимые различия в уровнях экспрессии miR-338-3p между группами пациентов, разделенными по степени тяжести АП согласно PDAI: пациенты были разделены на лёгкую (≤ 15 баллов), среднюю (15–45 баллов) и тяжёлую (>45 баллов) ($p=0.0001$). Для miR-424-5p значимых различий между группами не установлено ($p=0.3939$). При проведении ROC-анализа определены пороговые значения экспрессии miR-338-3p для разграничения степеней тяжести АП. Для дифференциации лёгкой и средней степени AUC составила 0.8750 ($p=0.0004$), с порогом >5.313 (чувствительность 86.36%, специфичность 75.00%). Для разграничения средней и тяжёлой степени AUC составила 0.9697 ($p=0.0095$), с порогом >17.47 (чувствительность 100%, специфичность 90.91%) (Рисунок 7). Для miR-424-5p ROC-анализ показал низкую диагностическую значимость: AUC=0.5341 ($p=0.7457$) для лёгкой и средней степени и AUC=0.7424 ($p=0.1809$) для средней и тяжёлой, с порогами >7.353 и >12.43 соответственно. Высокая специфичность (90.91%) наблюдалась только при разграничении тяжёлой формы.

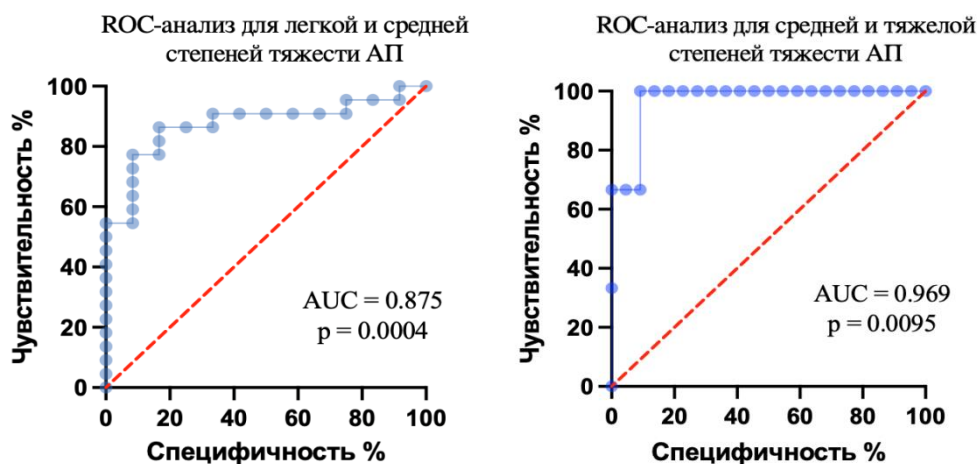


Рисунок 7 – ROC-анализ чувствительности и специфичности относительного уровня экспрессии miR-338-3p для разграничения пациентов с легкой, средней и тяжелой степенью тяжести аутоиммунной пузырчатки

Анализ особенностей относительного уровня экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p у пациентов с признаками стероидной резистентности при аутоиммунной пузырчатке

Для изучения особенностей экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p у пациентов с АП с признаками стероидной резистентности (СР) пациенты из группы №1 были разделены на две подгруппы: 29 пациентов с положительным клиническим ответом на терапию системными ГКС и 8 пациентов с признаками СР, которая устанавливалась на основании следующих критериев: (1) отсутствие положительной динамики в виде заживления уже существующих высыпаний, а также появление новых и увеличение старых элементов на фоне монотерапии ГКС в относительно высоких дозах (трехнедельное лечение системными ГКС в дозе 1,5 мг/кг); (2) частые рецидивы на фоне терапии ГКС, имеющие упорное течение.

Сравнительный анализ уровней экспрессии микроРНК показал, что медианный уровень miR-338-3p у пациентов с положительным ответом на терапию составил 6.005, а у пациентов со СР — 9.892, для miR-424-5p эти показатели составили 8.522 и 7.388 соответственно, статистически значимых различий между группами не выявлено ($p=0.2212$ для miR-338-3p; $p=0.6772$ для miR-424-5p), несмотря на тенденцию к более высокому уровню miR-338-3p у пациентов с СР.

Динамика экспрессии микроРНК оценивалась на первой и третьей неделях лечения системными ГКС. У пациентов с положительным клиническим ответом медианный уровень miR-338-3p снизился с 6.005 до 4.148 (на 30.9%), что было статистически значимым ($p<0.0001$). Для miR-424-5p изменения были незначительными (с 8.522 до 8.767, $p=0.6705$). У пациентов с СР медианный уровень miR-338-3p незначительно увеличился с 9.892 до 10.05 ($p=0.7422$), а для

miR-424-5p наблюдалось увеличение с 7.388 до 10.56 (на 43%), однако без статистической значимости ($p=0.1484$). Таким образом, у пациентов с положительным ответом на терапию отмечается значимое снижение экспрессии miR-338-3p, тогда как у пациентов с СР уровни обоих микроРНК остаются стабильно высокими (Рисунок 8, 9).

Корреляционный анализ взаимосвязи экспрессии микроРНК с тяжестью заболевания (по индексу PDAI) показал, что у пациентов с положительным клиническим ответом на ГКС экспрессия miR-338-3p имеет сильную положительную корреляцию с PDAI как до начала терапии ($r=0.8783$, $p<0.0001$), так и на третьей неделе ($r=0.8336$, $p<0.0001$). Для miR-424-5p значимой корреляции с PDAI не выявлено ни до ($p=0.1130$), ни после трех недель терапии ($p=0.0564$). У пациентов с СР корреляция между экспрессией miR-338-3p и PDAI отсутствовала как до ($p=0.3894$), так и после терапии ($p=0.3599$). Аналогично, для miR-424-5p значимой связи с PDAI не установлено ($p=0.6646$ до терапии; $p=0.0576$ на третьей неделе).

На основе полученных данных предложен алгоритм ведения пациентов на основе оценки относительного уровня экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p (Рисунок 10).

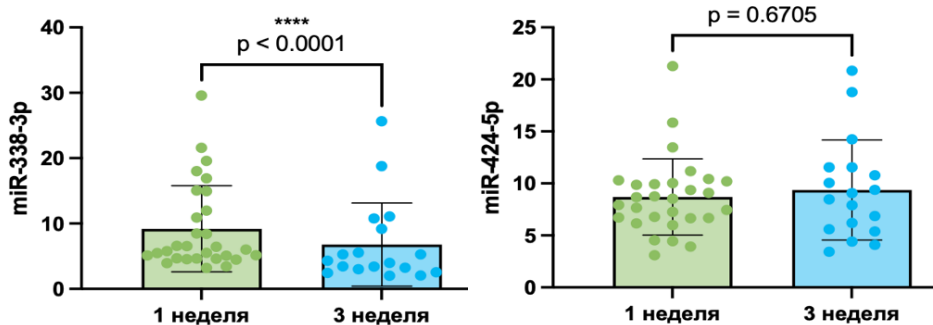


Рисунок 8 – Относительные уровни экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p в группе пациентов с аутоиммунной пузырчаткой с положительным клиническим ответом на проводимую терапию системными глюкокортикостероидами на первой и третьей неделе

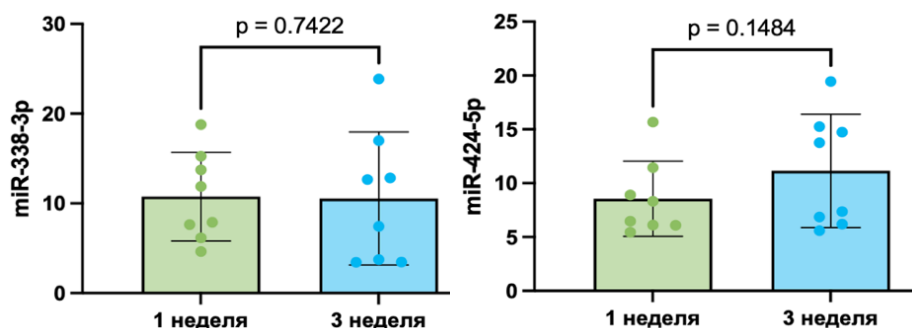


Рисунок 9 – Относительные уровни экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p в группе пациентов с аутоиммунной пузырчаткой с признаками стероидной резистентности на первой и третьей неделе нахождения на стационарном лечении и терапии системными глюкокортикостероидами

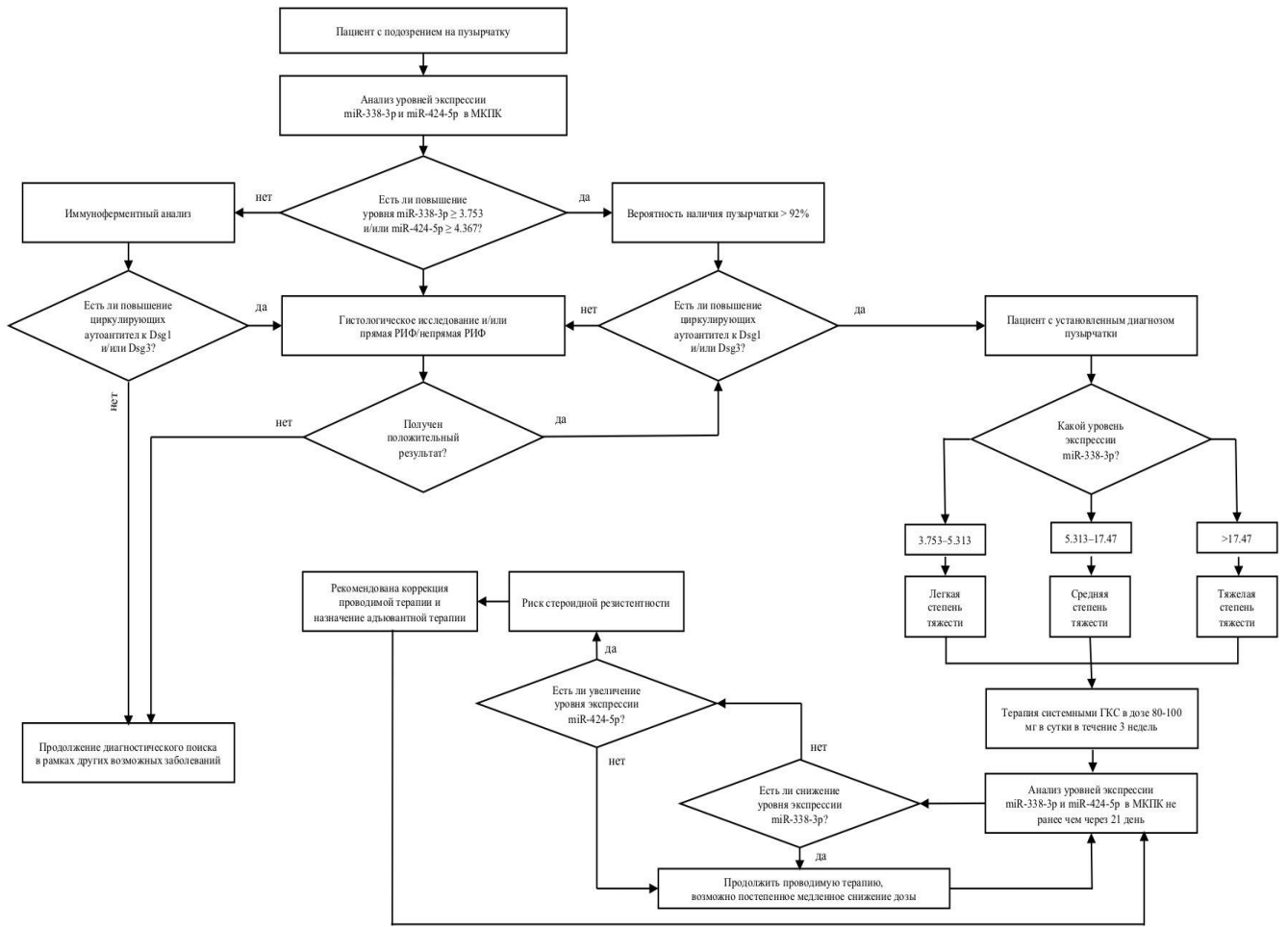


Рисунок 10 – Алгоритм ведения пациентов на основе оценки относительного уровня экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно последним исследованиям, микроРНК занимают ключевую позицию в регуляции иммунного ответа, демонстрируя высокую стабильность *in vivo* и возможность точного количественного определения, что делает их перспективными кандидатами в качестве диагностических биомаркеров различных патологических состояний (Zhang et al., 2013; Lindahl et al., 2018). Настоящее исследование представляет собой первую в России работу, в которой была проанализирована диагностическая значимость miR-338-3p и miR-424-5p при АП. Также важно отметить, что данное исследование является первой работой по данной тематике с подобного объема выборкой, в которой относительные уровни экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p были изучены в зависимости от таких факторов как форма АП (ВП или ЛП), длительность заболевания, прием системных ГКС, локализация патологического процесса, степень тяжести (оцененной по индексу тяжести болезни Крона PDAI), а также СР, что ранее в подобных работах не изучалось. Установлено, что у пациентов с АП в активной стадии

заболевания уровни экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p существенно повышены и могут быть использованы в качестве анализа, дополняющего традиционные методы диагностики. Оценка относительного уровня экспрессии может быть использована как самостоятельное исследование, так и совместно с ИФА в качестве скринингового обследования для более точной лабораторной диагностики и минимизации риска диагностических ошибок в виде ложноотрицательных или ложноположительных результатов. Оптимальным пороговым значением для использования miR-338-3p и miR-424-5p в диагностике АП является значение для miR-338-3p ≥ 3.753 и для miR-424-5p ≥ 4.367 , при превышении данного порога прогнозируется высокий риск АП, чувствительность и специфичность составляют 94.59% и 92.00% для miR-338-3p, 94.59% и 90.00% для miR-424-5p соответственно. Однако, в отличие от ИФА, результаты относительного уровня экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p полученные с помощью ПЦР-РВ могут быть использованы для определения тяжести заболевания и эффективности проводимой терапии. В результате пролонгированного наблюдения за пациентами с определением уровня экспрессии miR-338-3p через три недели от начала патогенетической терапии установлено постепенное снижение уровня экспрессии данной микроРНК в среднем в 1.36 раз (26.7%) среди общей когорты пациентов в активной стадии АП, и в 1.45 раз (30.9%) в группе пациентов с положительным клиническим ответом на проводимую терапию, тогда как стабильный или возрастающий уровень miR-338-3p в совокупности с тенденцией к повышению относительного уровня экспрессии miR-424-5p в процессе патогенетической терапии, ассоциирован с риском развития СР. Также, у пациентов с АП имеется положительная корреляция между уровнем экспрессии miR-338-3p и степенью тяжести АП: лёгкая степень (3.753–5.313), средняя степень (5.313–17.47), тяжёлая степень (>17.47).

Таким образом, можно рассматривать miR-338-3p и miR-424-5p как перспективные биомаркеры для диагностики АП, а также как объективный инструмент оценки терапевтического ответа для своевременной модуляции терапевтических алгоритмов, что важно для контроля активного течения заболевания и предотвращения побочных эффектов системных ГКС.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с аутоиммунной пузырчаткой в активной стадии заболевания уровни экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p существенно повышены (≥ 3.753 и ≥ 4.367 соответственно) ($p < 0.0001$); чувствительность и специфичность метода составляет 94.59% и 92.00% для miR-338-3p, 94.59% и 90.00% для miR-424-5p соответственно. В среднем данные показатели в 2.58 (158.33%) раза выше по сравнению с уровнем экспрессии у пациентов с

аутоиммунной пузырчаткой в стадии ремиссии, условно здоровых субъектов, а также пациентов с иными буллезными дерматозами ($p < 0.0001$).

2. На основании выявленной корреляции между уровнем экспрессии miR-338-3p с клинико-диагностическим индексом оценки тяжести аутоиммунной пузырчатки PDAI (Pemphigus Disease Area Index) разработана шкала классификации тяжести аутоиммунной пузырчатки: лёгкая степень (3.753–5.313) ($p < 0.0001$), средняя степень (5.313–17.47) ($p = 0.0004$), тяжёлая степень (>17.47) ($p = 0.0095$).

3. Снижение уровня miR-338-3p в 1.45 (30.9%) раза и более при оценке уровня относительной экспрессии через 21 день от начала проводимой терапии системными глюкокортикостероидами (преднизолон или другие глюкокортикостероидные препараты в соответствии с преднизолоновым эквивалентом) коррелирует с клиническим улучшением и положительным ответом на патогенетическую терапию ($p < 0.0001$); оценка уровня экспрессии miR-424-5p не продемонстрировала подобной тенденции и не может использоваться для оценки динамики на проводимое лечение ($p = 0.6705$).

4. Тенденция к возрастанию или стабильный уровень экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p в процессе патогенетической терапии системными глюкокортикостероидами (преднизолон или другие глюкокортикостероидные препараты в соответствии с преднизолоновым эквивалентом) ассоциированы с риском развития стероидной резистентности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При подозрении на диагноз «Аутоиммунная пузырчатка», а также при отсутствии иных доступным методов диагностики в качестве скринингового метода для выявления диагноза и дифференциальной диагностики рекомендуется использовать оценку относительного уровня экспрессии miR-338-3p и miR-424-5p в мононуклеарных клетках периферической крови методом ПЦР-РВ. При превышении порога для miR-338-3p ≥ 3.753 и для miR-424-5p ≥ 4.367 прогнозируется высокий риск АП и рекомендовано проведение стандартных методов диагностики (ИФА, прямая и непряма РИФ, гистологическое исследование) в качестве подтверждающих для постановки диагноза.

2. Повторная оценка уровней 338-3p и miR-424-5p в мононуклеарных клетках периферической крови рекомендована не ранее 21 дня от начала терапии системными глюкокортикостероидами для оценки эффективности проводимой терапии, при снижении уровня miR-338-3p от исходного в среднем в 1.45 (30.9%) и более можно прогнозировать положительный ответ на терапию; после достижения отчетливого терапевтического эффекта (прекращение появления новых пузырей, активная эпителизация эрозий) можно приступить ко

второму этапу терапии больных пузырчаткой, который заключается в постепенном медленном, в течение нескольких месяцев снижении дозы преднизолона до 20–30 мг в сутки. В то же время, при стабильном или возрастающем уровне miR-338-3p в совокупности с тенденцией к возрастанию относительного уровня экспрессии miR-424-5p существует риск развития стероидной резистентности, рекомендована коррекция терапевтической тактики и присоединение адъювантной терапии (азатиоприн, метотрексат, циклоспорин, применение внутривенных иммуноглобулинов, плазмаферез).

3. При постановке ПЦР-РВ рекомендуется проводить оценку уровня экспрессии микроРНК в мононуклеарных клетках периферической крови путем ее сравнения с экспрессией малой ядерной РНК U6, а также использовать для постановки реакции кДНК и синтезированные праймеры в разведении в 5 раз.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Аутоиммунная пузырчатка: новые подходы к диагностике и оценке тяжести заболевания / Н. П. Теплюк, Ю. В. Колесова, **Д. В. Мак**, А. А. Лепехова, С. В. Тошаков, Т. А. Федотчева // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. - 2023. - Т. 26. - № 5. - С. 515-526. doi: 10.17816/dv492306 [Scopus]

2. Диагностическая значимость и патогенетические аспекты исследования микроРНК при аутоиммунной пузырчатке / Н. П. Теплюк, **Д. В. Мак**, Т. А. Федотчева, Н. Л. Шимановский. — Текст: непосредственный // XVII Научно-практическая конференция дерматовенерологов и косметологов с международным участием «Санкт-Петербургские дерматологические чтения» : материалы конференции, Санкт-Петербург, 26 октября 2023 г. / под ред. А. В. Самцова, Е. В. Соколовского. — Санкт-Петербург : Издательство Санкт-Петербургская общественная организация «Человек и его здоровье», 2023. — С. 112 - 114.

3. Поиск объекта для оценки влияния стероидных гормонов на уровень экспрессии микроРНК-155 / А. В. Голоунина, О. А. Земляная, М. Е. Успенская, **Д. В. Мак**, Н. П. Теплюк. — Текст: непосредственный // VI Съезд фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций, новые люди — новые лекарства» : материалы съезда, Москва, 22 ноября 2023 г. — Москва : Издательство «Фолиум», 2023. — С. 41. — doi: 10.30906/ekf-2023-86s-41.

4. 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. doi: 10.17816/dv6334133 [Scopus]

5. Диагностическая значимость микроРНК miR-338-3p при аутоиммунной пузырчатке / Н. П. Теплюк, **Д. В. Мак**, Н. Л. Шимановский, Т. А. Федотчева. — Текст: непосредственный //

Рахмановские чтения: XLI научно-практическая конференция с международным участием «От болезни к здоровой коже» : материалы конференции, Москва, 17 мая 2024 г. — Москва : Издательство Сеченовского Университета, 2024. — С. 19 - 22. — УДК 616.5(082). — ББК 55.83(94.3).

6. Диагностическая значимость оценки уровня экспрессии miR-338-3p у пациентов с аутоиммунной пузырчаткой / Н. П. Теплюк, **Д. В. Мак**, Д. Н. Ульченко, Т. А. Федотчева. — Текст: непосредственный // XVIII Научно-практическая конференция дерматовенерологов и косметологов «Санкт-Петербургские дерматологические чтения» : материалы конференции, Санкт-Петербург, 24–25 октября 2024 г. / под ред. А. В. Самцова, Е. В. Соколовского. — Санкт-Петербург : Издательство Санкт-Петербургская общественная организация «Человек и его здоровье», 2024. — С. 119 - 120.

7. 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. Е. Ульченко // **Российский журнал кожных и венерических болезней.** - 2025. - Т. 28. - №2. – С. 200-211. doi: 10.17816/dv642566 [Scopus]

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АП – аутоиммунная пузырчатка

ВП – вульгарная пузырчатка

ЛП – листовидная пузырчатка

ГКС – глюкокортикостероиды

Dsg1 – десмоглеин 1

Dsg3 – десмоглеин 3

ИФА – иммуноферментный анализ

РИФ – реакция иммунофлюоресценции

PDAI – Pemphigus Disease Area Index

ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота