

На правах рукописи

ГРЕКОВА ЕКАТЕРИНА ВЛАДИМИРОВНА

**ОПТИМИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕТОДА
ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ ГРИБОВИДНОГО МИКОЗА**

14.01.10 – Кожные и венерические болезни

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2019

Работа выполнена в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Олисова Ольга Юрьевна

Научный консультант: доктор биологических наук, профессор
Залетаев Дмитрий Владимирович

Официальные оппоненты:

Ламоткин Игорь Анатольевич - доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н. Н. Бурденко» Минобороны России, кожно-венерологическое отделение, заведующий отделением

Белюсова Ирина Эдуардовна - доктор медицинских наук, профессор, ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, кафедра кожных и венерических болезней, профессор кафедры

Ведущая организация: ФГБОУ ВО "Московский государственный медико-стоматологический университет им.А.И. Евдокимова" Минздрава России

Защита диссертации состоится «__» _____ 2019 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д.208.040.10 на базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2.

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

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

T-клеточные лимфомы кожи (ТКЛК) - гетерогенная группа лимфопролиферативных заболеваний (ЛПЗ), характеризующаяся формированием инфильтрата из атипичных T-лимфоцитов в эпидермисе, дерме и гиподерме с возможностью вторичного внекожного распространения (кровь, лимфатические узлы, легкие, селезенка, печень) [Кохан М. М. и соавт., 2002, Кунгуров Н.В. и соавт., 2010, Willemze R. et al, 2006].

В группе больных ТКЛК подавляющее большинство (80%) составляют больные грибвидным микозом (ГМ) [Лезвинская Е.М. и соавт, 2000, Cerioni L. et al, 2014].

Установление диагноза ГМ возможно на основании комплексной оценки клинико-анамнестических данных, гистологического (часто неоднократного), иммунофенотипического исследования опухолевых клеток и молекулярно-генетического (наличие клональности по генам γ - или β -цепей T-клеточного рецептора (ТКР) [Казаков Д.В. и соавт, 2007, Поддубная И.В., 2016, Olsen E.A. et al, 2011, Белоусова И.Э., 2014,].

На ранних стадиях заболевания дифференциальная диагностика крайне затруднительна из-за клинического сходства с хроническими доброкачественными дерматозами (ХДД) [Олисова О.Ю. и соавт., 2017, Братцева Е.В. и соавт., 2010, Kandolf Sekulović L. et al, 2007]. Было выявлено, что у больных классической формой ГМ средний срок до верификации диагноза равняется 5 годам, однако при других подтипах и формах увеличивается [Willerslev-Olsen A. et al, 2011, Кунгуров Н.В., Кохан М.М., 2010].

Наиболее сложным в дифференциальной диагностике является бляшечный параспориоз (БП), особенно крупнобляшечный вариант (КБП) [Белоусова И.Э., 2015, Жуков А.С., 2014].

По данным Wu J. и соавт. [Wu J. et al, 2009] трансформация КБП в ГМ отмечается в 10-40% случаев, хотя ряд авторов считает КБП изначально ТКЛК с медленной опухолевой прогрессией [Sanchez J.L., Askerman A.V., 1979, Разнатовский И.М., 1982, Казаков Д.В., 1999, Сыдинов А.А., 2013]. По поводу мелкобляшечного параспориоза (МБП) абсолютное большинство ученых считает, что он является хроническим доброкачественным воспалительным дерматозом, но существует мнение, что он также может рассматриваться как abortивная форма ТКЛК или начальная стадия ГМ [King-Ismael D. et al, 1992, Burg J. et al, 1995].

Достоверность диагноза ГМ, подтвержденного только клиническими, гистологическими и иммуногистохимическими признаками, составляет 50-75% [Bernier C. et al, 2007, Виноградова Ю.Е., Потекаев Н.С. и соавт, 2007]. Наиболее достоверным диагностическим методом является ПЦР-исследование для идентификации реаранжировки гена γ -цепи T-клеточного рецептора (ТКР), но он не может быть универсальным из-за невысокой специфичности в начальных

стадиях ГМ, а также наличия «клональных дерматозов». Стоит отметить, что моноклональность Т-лимфоцитов инфильтрата является постоянным признаком исключительно в опухолевой стадии заболевания [Братцева Е.В. и соавт., 2010, Сидорова Ю.В., 2004].

Молекулярно-генетические исследования, проведенные в последние годы, убедительно доказывают роль генетических факторов в инициации злокачественного процесса и развития опухоли.

Активность сигнального пути Jak-3/STAT препятствует развитию ТКЛК через стимуляцию синтеза IL-5, IL-10, IL-12, IL-17A и IL-17F, регулирование факторов ангиогенеза [Nishikomori R. et al, 2002, Krejsgaard T. et al, 2011, Lasek W. et al, 2014]. Имеются сведения о дисрегуляции сигнального пути и интерлейкиннезависимой пролиферции злокачественных Т-клеток при ГМ, т.е. в опухолевых клетках наблюдается абберантная активация белков Jak и сигнальных систем STAT [Litvinov I.V. et al, 2014, Netchiporouk E. et al, 2014].

В последнее время большое значение придается микроокружению опухолевых лимфоцитов [Berger C.L. et al, 2002, Жуков А.С. и соавт., 2014]. Считается, что окружающие опухоль клетки (Т-регуляторные клетки, дендритные клетки, макрофаги) влияют на развитие неконтролируемой пролиферации опухолевых клеток и способствуют их уклонению от иммунного надзора [Jawed S.I. et al, 2014, Chen F. et al, 2015].

Согласно изложенным выше данным и рекомендациям Международного общества по лимфомам кожи (ISCL), Европейской организации изучения и лечения рака (EORTC) [Olsen E.A. et al, 2011] поиск и изучение новых, более информативных и специфичных генетических маркеров для ранней диагностики ГМ является актуальной научной задачей.

В настоящее время отмечается прогресс в терапии ГМ, однако до сих пор лечение больных представляет значительные трудности. В настоящее время для терапии ГМ применяются препараты первой и второй линии, включая топические кортикостероиды, фото- и лучевую терапию, иммунотерапию (интерферон) и ретиноиды, а также химиотерапевтические препараты (вориностат, хлорамбуцил, доксорубин, гемцитабин) [Поддубная И.В., 2016, Olsen E.A. et al, 2011]. Однако данные методы терапии оказываются или малоэффективными, или дают кратковременный эффект.

Фотохимиотерапия (ПУВА) для лечения больных ГМ применяется с 1970 года [Олисова О.Ю., Wolverton S.E., 2012], однако имеется ограниченное число работ, посвященных данной проблеме [Herrmann J.J. et al, 1995, Gilcrest B.A. et al, 1976, Briffa D.V. et al, 1980, Roupe G. et al, 1996, Querfeld C. et al, 2005]. Также имеются единичные исследования, а также описание серии случаев о положительном терапевтическом эффекте ПУВА-терапии и ИФН- α у больных ГМ, главным образом на ранних стадиях заболевания [Kuzel T.M. et al, 1995, Chiarion-Sileni V. et al, 2002, Spaccarelli N. et al, 2005, Rupoli S. et al, 2005, Nikolaou V. et al, 2011]. Однако, до сих

пор не разработана методика и эффективная схема комбинированного метода терапии больных ГМ.

Таким образом, значительное снижение качества жизни, прогрессирующее течение с частыми рецидивами и неблагоприятным прогнозом, отсутствие общепринятых диагностических критериев, неоднозначность в подходах к ведению больных и недостаточная эффективность терапии обуславливают необходимость усовершенствования уже существующих и разработки более эффективных методов лечения. Также в настоящее время перспективным направлением дерматовенерологии является персонализация лечения ГМ в сочетании с безопасностью и эффективностью.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: выявление генетических маркеров ранней диагностики грибовидного микоза для повышения эффективности патогенетической терапии.

В соответствии с целью исследования, были определены **задачи:**

1. Оценить информативность результатов клинико-anamnestического, гистологического, иммуногистохимического, молекулярно-генетического методов исследования для диагностики грибовидного микоза.
2. Изучить уровень экспрессии генов FOXP3, STAT4, интерлейкин (IL)-12 и оценить их роль в ранней диагностике грибовидного микоза.
3. Разработать диагностический алгоритм ранних стадий грибовидного микоза.
4. Оценить эффективность и безопасность комбинации ПУВА-терапии и ИФН- α у больных грибовидным микозом.

Научная новизна

1. Впервые установлено статистически значимое преобладание уровня экспрессии гена STAT4 у больных пятнистой и бляшечной стадиями грибовидного микоза (181 отн.ед.; 316 отн.ед.) по сравнению с больными бляшечным параспориозом (18,5 отн.ед.; $p < 0,05$). Определено, что при опухолевой стадии и эритродермической форме грибовидного микоза отмечается снижение уровня экспрессии гена STAT4 (7,19 отн.ед.).
2. Впервые научно обоснована диагностическая значимость экспрессии гена STAT4 для верификации диагноза грибовидный микоз: применение клинических, гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических методов исследования, включая определение уровня экспрессии гена STAT4 (> 100 отн.ед.), повышает точность ранней диагностики грибовидного микоза с 59,1% до 92,59% соответственно.
3. Впервые проведен сравнительный анализ экспрессии маркера Т-регуляторных клеток гена FOXP3, а также IL-12В методом ПЦР-РВ и выявлено, что при грибовидном микозе количество Т-регуляторных клеток в очагах пораженной кожи было умеренным (в зависимости

от стадии) и незначительным – при бляшечном парапсориазе. Экспрессия IL-12B была слабой в обеих группах.

Практическая значимость исследования

1. Выполненное исследование уровня экспрессии генов FOXP3, STAT4, IL-12B методом ПЦР-РВ и интерпретация его результатов, а также дифференциально-диагностические признаки, достоверно различающие группы больных грибвидным микозом и бляшечным парапсориазом, могут применяться в ранней диагностике грибвидного микоза.
2. Усовершенствован диагностический алгоритм ранних стадий грибвидного микоза, включающий определение уровня экспрессии гена STAT4 (> 100 отн.ед.).
3. Комбинация ПУВА-терапии и ИФН-α является более эффективной по сравнению с монотерапией ПУВА и позволяет достичь клинической ремиссии у 75% больных, значительного улучшения - у 19% больных, однако у 6% - эффекта от проводимой терапии не отмечалось.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Гиперэкспрессия STAT4 имеет высокую диагностическую значимость при верификации грибвидного микоза на ранних стадиях, а также для проведения дифференциального диагноза с бляшечным парапсориазом.
2. Выявляемая экспрессия у всех больных маркера Т-регуляторных клеток FOXP3, а также IL-12B не является диагностически значимой при исследовании грибвидного микоза и может быть расценена в качестве вспомогательного диагностического метода.
3. Комбинация ПУВА-терапии и ИФН-α у больных грибвидным микозом является высокоэффективным и безопасным методом, вызывая клиническую ремиссию у 75% больных IV-IIIА стадий.

Внедрение в практику результатов исследования

Полученные результаты и рекомендации успешно используются в лечебно-диагностической и учебной работе кафедры и клиники кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России, ФГБУ НМИЦ гематологии Минздрава России.

Результаты исследования используются в педагогической практике как на додипломном, так и последипломном уровне на кафедре кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО «Первый МГМУ имени И.М. Сеченова» Минздрава России.

Апробация результатов

Результаты исследования были доложены и обсуждены на:

- 1120-м и 1121-м заседаниях Московского общества дерматовенерологов имени А.И. Пospelова (г. Москва, 19 декабря 2018 г., 16 января 2018 г.),

- XXXV Научно-практической конференции с международным участием «Рахмановские чтения: перспективные направления диагностики и терапии в дерматовенерологии и косметологии» (г. Москва, 26 января 2018 г.),
- XVIII Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (г. Москва, 18 мая 2018 г.),
- XXVII Конгрессе Европейской академии дерматологии и венерологии (г. Париж, Франция, 14-16 сентября 2018 г.),
- XII Научно-практической конференции «Санкт-Петербургские дерматологические чтения» (г. Санкт-Петербург, 25-27 октября 2018 г.),
- VIII Межрегиональном форуме дерматовенерологов и косметологов (г. Москва, 4-5 октября 2018 г.),
- XV Российской конференции с международным участием «Злокачественные лимфомы» (г. Москва, 24-25 октября 2018 г.),
- Международной конференции «Современные молекулярные и биохимические маркеры в клинической и экспериментальной медицине» (г. Прага, Чехия, 30-31 октября 2018 г.),
- XXII Российском онкологическом конгрессе (г. Москва, 13-15 ноября 2018 г.).
- XXIV Всемирном конгрессе по дерматологии (г. Милан, Италия, 10-15 июня 2019 г.).

Автор окончил цикл повышения квалификации «Лимфопролиферативные заболевания кожи» под руководством д.м.н., профессора Белоусовой И.Э. на базе ЧОУ ВО «Санкт-Петербургский медико-социальный институт» 21-24 ноября 2017 года.

Также автор прошел зарубежную стажировку в Тренинг-центре по дерматопатологии на базе лаборатории «Биоптика» в г. Пльзень, Чехия под руководством профессора Казакова Д.В. 3-30 сентября 2018 года в рамках Проекта «5-100» Сеченовского университета.

Ценность результатов научной работы автора подтверждается получением призовых мест:

- III Международный конкурс научных работ Quality Education - 2017 (в рамках требований ФГОС) – 1 место;
- Конкурс на лучшую демонстрацию клинического случая 2017 года в рамках 126-го научного сезона Московского общества дерматовенерологов имени А.И. Поспелова – 1 место;
- Международный медицинский Форум «Вузовская Наука. Инновации» (платформа Онкология) – 1 место.

Апробация диссертационной работы состоялась на совместной научной конференции кафедры кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова лечебного факультета и

лаборатории медицинской генетики Института молекулярной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 4 декабря 2018 года.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендуемых ВАК, и 2 статьи в журнале, входящем в Scopus, Web of Science (ИФ=4,284).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.01.10 – Кожные и венерические болезни. Кожные и венерические болезни – область медицинской науки, изучающая кожный покров и видимые слизистые оболочки в норме и патологии. Основное внимание уделяется этиологии, эпидемиологии, патогенезу, диагностике, лечению и профилактике дерматозов и инфекций, передаваемых половым путем.

Диссертация соответствует формуле специальности и области исследований соответственно п. 1, 3, 4.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 149 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав (обзор литературы, описание материалов и методов исследования, собственные результаты и их обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы из 167 источников (59 - на русском и 108 - на иностранных языках). Работа иллюстрирована 44 рисунками, 22 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе кафедры кожных и венерических болезней им. В.А.Рахманова и Лаборатории медицинской генетики Института молекулярной медицины ПМГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Под нашим наблюдением находилось 50 больных, из которых было 27 больных грибовидным микозом и 23 больных бляшечным парапсориазом в возрасте от 28 до 82 лет, получавших терапию на базе клиники кожных и венерических болезней им. В.А.Рахманова ПМГМУ им. И.М. Сеченова и Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» (ФГБУ «НМИЦ гематологии») в период с 2016 по 2018 гг. Было отмечено незначительное преобладание больных мужского пола (52%).

Стадирование ГМ осуществлялось согласно классификации TNM (tumor-node-metastasis). Группа контроля включала 10 здоровых лиц (средний возраст $44 \pm 2,5$ лет).

Критериями включения пациентов в исследование являлись: установленный диагноз ГМ или БП, возраст пациента от 18 лет, добровольное желание участвовать и подписанные информированное согласие с общим планом обследования и лечения, а также на диагностическую процедуру (биопсию) и проведение генетического исследования.

Критерии невключения: несоответствие критериям включения, нежелание пациента участвовать в исследовании, наличие сопутствующей соматической патологии у пациентов в стадии декомпенсации, онкологические заболевания, нарушения функции печени, алкоголизм, наркомания, психические расстройства, беременность, кормление грудью.

Критерии исключения: желание пациента прекратить участие в исследовании, беременность, несоблюдение пациентом режима, назначенной схемы обследования и лечения, регулярный прием иммуносупрессантов, а также системных кортикостероидов.

Пациенты, включенные в исследование, были обследованы в соответствии с данными Российских клинических рекомендаций по диагностике и терапии лимфопролиферативных заболеваний (2016) [Поддубная И.В., 2016]. Диагноз ГМ был верифицирован на основании комплексной оценки клинического осмотра, результатов гистологического (часто неоднократного), иммунофенотипического исследований биоптатов из очагов поражения кожи и индекса пролиферативной активности Ki-67, а также молекулярно-генетического метода с определением клональности по реаранжировке гена γ -цепи ТКР на базе кафедры патологической анатомии ПМГМУ им. И.М. Сеченова и ФГБУ «НМИЦ гематологии».

Измерялся процент вовлечения площади поверхности всего тела (%TBSA) отдельно для пятен, бляшек и опухолей в 12 областях тела с использованием ладони пациента в качестве «критерия». Общий % TBSA для поражения каждого типа умножали на взвешенный фактор тяжести (1 = пятно, 2 = бляшка и 4 = опухоль) и суммировали, получая шкалу mSWAT.

Нами был использован метод инцизионной биопсии (6 мм). Исследуемый фрагмент пораженной кожи сохранялся в таре, содержащей 10% нейтральный формалин, после чего материал подвергался стандартной проводке с парафиновой заливкой. Готовились срезы толщиной 5-6 мкм, которые окрашивались гематоксилином и пикрофуксином по Ван-Гизону, гематоксилином-эозином. Для проведения патоморфологического исследования в проходящем свете применяли световой микроскоп Carl Zeiss (Германия) с использованием объективов 4x, 10x, 20x, 40x, 100x, 200x, 400x.

Иммуногистохимическое исследование кожи с изучением иммунофенотипов CD3⁺, CD4⁺, CD5⁺, CD7⁺, CD8⁺, CD45RO⁺, определение индекса пролиферативной активности Ki-67 проводили на парафиновых срезах по схемам, которые были рекомендованы фирмами-производителями. Результаты оценивали полуколичественным методом, подсчитывая число клеток в четырех полях зрения при увеличении x 400. Использовались следующие степени

экспрессии: слабая <<+>> при наличии окрашенных гранул в 1-49-ти клетках, умеренная <<++>> - в 50-99 клетках, резко выраженная <<+++>> - в 100 и более клетках.

Оценку Т-клеточной клональности изучали методом ПЦР с мультиплексными системами праймеров BIOMED-2, исследовали реаранжировку генов TCRB (D β -J β , V β -J β) и TCRG (V γ -J γ).

Определение уровня экспрессии генов (FOXP3, STAT4, IL-12B) выполняли на базе Лаборатории медицинской генетики Института молекулярной медицины ПМГМУ им. И.М. Сеченова. Объектами исследования были пораженные участки кожи больных ГМ, БП и здоровых лиц, взятые методом инцизионной биопсии (6 мм), которые до проведения исследования хранили при температуре -20 °С.

Анализ экспрессии генов FOXP3, STAT4, IL12B проводился методом TaqMan Real time-ПЦР с обратных транскриптов в термоциклере для ПЦР в реальном времени (Bio-Rad, USA) с использованием зондов TaqMan (Applied Biosystems, США), меченых флуоресцентным красителем FAM.

Больные ГМ были рандомизированы: первая группа получала ПУВА-терапию в сочетании с ИФН- α (n=16); вторая группа – ПУВА в виде монотерапии (n=11). Выбор метода терапии был обусловлен тяжестью кожного процесса, наличием сопутствующей патологии и определялся стадией ГМ с учетом TNM-классификации.

ПУВА-терапию проводили по схеме 4-разового облучения в неделю с начальной дозой УФА 0,5-1 Дж/см² и поэтапным наращиванием дозы на 0,5-1 Дж/см² через каждые 2 сеанса до разовой дозы 8-10 Дж/см². Из фотосенсибилизаторов применяли 8-метоксипсорален (1 мг/кг за 2 часа до процедуры). Одновременно с ПУВА-терапией больные первой группы получали ИФН- α по назначению гематолога ФГБУ «НМИЦ гематологии». Инъекции проводились подкожно в передненаружную поверхность бедер или боковую часть брюшной стенки 3 раза в неделю, начиная с 1 млн МЕ с постепенным наращиванием разовой дозы до 3-6 млн МЕ в зависимости от стадии и выраженности кожных проявлений.

Наружная терапия больных ГМ включала топические глюкокортикостероиды II-V класса и эмолиенты.

Оценку эффективности проводили согласно схеме определения общего ответа на лечение ГМ клинических рекомендаций Российского общества дерматовенерологов (2016) для диагностики лимфом кожи [Кубанова, А.А., 2016]. Оценивались отдаленные результаты лечения. Продолжительность наблюдения за пациентами после проведенного курса терапии составила 12 месяцев.

Статистическая обработка данных

С целью проведения статистического анализа данных, включая получение описательной статистики, проверку нормальности распределения количественных признаков, а также

проведение сравнения сформированных групп больных с использованием критериев Стьюдента (Т-критерия) и Манна-Уитни (для признаков, имеющих отличное от нормального распределение). Для формирования графиков использовались пакеты программ STATISTICA 6.0 и EXCEL 2003.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Общая характеристика больных грибвидным микозом и бляшечным параспориозом

Под нашим наблюдением находилось 50 больных, из которых было 27 больным грибвидным микозом и 23 больных бляшечным параспориозом в возрасте от 29 до 82 лет, из них было 14 (52%) мужчин и 13 (48%) женщин. Пациенты с классической формой ГМ были подразделены на три подгруппы согласно клиническим стадиям заболевания: пятнистая - 11 (41%), бляшечная - 8 (30%), опухолевая - 5 (18%). Также в исследование были включены пациенты с эритродермической формой ГМ – 2 (7%) и фолликулотропным подтипом ГМ – 1 (4%).

Все больные были тщательно обследованы для исключения системности процесса. Вовлечение лимфатических узлов, преимущественно шейных, надключичных, подмышечных и паховых, было отмечено в 26% случаев. На первичном приеме дерматолога диагноз ГМ был заподозрен в 55% случаев. Продолжительность ГМ на период обращения составила в среднем 6,32 лет (от 1 года до 13 лет).

У всех больных ГМ высыпания имели распространенный характер, без тенденции к периферическому росту и слиянию, локализовались симметрично, преимущественно на коже груди (81%), живота (81%), спины (78%), верхних (74%) и нижних конечностях (78%), ягодиц (52%) и паховой области (48%).

Для пятнистой стадии (n=11) наиболее характерным признаком явились шелушащиеся, асимметричные, слабо инфильтрированные пятна с четкими границами, округлых очертаний, размерами 5-10 см, расположенные на участках кожи, не подвергающихся солнечному облучению, у 8 (73%) пациентов. В 27% случаев наблюдалась пойкилодермия (атрофия кожи, телеангиэктазии, пятнистая пигментация). Субъективно отмечался незначительный зуд в 73% случаев.

Бляшечная стадия ГМ (n=8) проявлялась уплотненными шелушащимися красновато-бурыми бляшками у всех (100%) пациентов, а также пятнами - у 5 (63%). Помимо этого, были выявлены единичные папулы в 38% случаев. Феномен одновременного прогрессирования и регрессирования отдельных высыпаний выявлялся у 5 (45%) больных.

У всех больных опухолевой стадией ГМ (n=5) наблюдались опухолевые узлы различной локализации. У одного пациента IVA₂ стадии отмечался умеренный зуд и увеличение подбородочных, надключичных и подмышечных лимфоузлов, не спаянных с кожей, безболезненных.

Группа больных БП состояла из 23 пациентов. В группу БП были включены пациенты со следующими диагнозами: МБП - 9 (39%) пациентов, КБП - 14 (61%). Продолжительность БП на период обращения составляла от 6 месяцев до 5 лет (в среднем – 23,15 месяцев).

У больных МБП отмечалось поражение кожи в виде слегка шелушащихся желтовато-розовых пятен пальцеобразных или удлинено-овальных очертаний с заостренными концами, диаметром 3-5 см. Для нижних конечностей характерной локализацией являлась внутренняя поверхность бедер, для верхних – внутренняя поверхность плеч и предплечий, для туловища – вдоль реберной дуги по линиям Лангера.

Начальными клиническими проявлениями КБП были шелушащиеся насыщенно-розовые пятна и слегка инфильтрированные бляшки овальных очертаний, диаметром 6-10 см, с четкими границами. Также у 10 (71%) больных наблюдался феномен «скрытого шелушения». Высыпания локализовались преимущественно в области ягодиц, живота и задней поверхности бедер и носили асимметричный характер.

Таким образом, клиничко-анамнестическое исследование позволяет заподозрить ГМ уже на ранних стадиях заболевания. Анализ результатов полученных данных дает возможность выделить некоторые характерные признаки для больных ГМ:

- 1) высыпания насыщенного розового или красного цвета, с четкими границами, размером больше 5 см,
- 2) локализация - преимущественно на груди, животе и спине, сопровождающиеся выраженным зудом,
- 3) асимметричный характер высыпаний,
- 4) феномен одновременного прогрессирования и регрессирования отдельных высыпаний.

Результаты гистологического, иммуногистохимического и молекулярно-генетического метода диагностики

У всех обследованных больных ГМ имелись гистологические признаки поражения эпидермиса, дермо-эпидермального соединения и дермы.

В гистологических препаратах больных пятнистой стадии ГМ (n=11) у 4 (36%) пациентов был обнаружен выраженный акантоз, у 4 (36%) - гиперкератоз. В верхних отделах дермы у 9 (82%) больных отмечался скудный поверхностный перигландулярный и периваскулярный лимфоцитарный инфильтрат из небольших клеток с округло-

овальными/ядрами с минимальными признаками эпидермотропизма, преимущественно базального слоя кератиноцитов (базальный эпидермотропизм); с примесью гистиоцитов. Микробсцессов Потрие у всех больных пятнистой стадией ГМ обнаружено не было. При гистологическом исследовании больных ГМ бляшечная стадия (n=8) характеризовалась наличием «диспропорционального эпидермотропизма» у 4 (50%) пациентов. При этом у 5 (63%) больных выявлялось скопление в эпидермисе атипичных лимфоцитов с формированием микробсцессов Потрие. У больных опухолевой стадией (n=5) характерным являлся плотный очаговый или диффузный интрадермальный лимфоидный инфильтрат из клеток мелких размеров с церебриформными ядрами с признаками выраженного эпидермотропизма и формированием микробсцессов Потрие.

При КБП (n=14) в эпидермисе выявлялся паракератоз у 9 (64%), умеренный акантоз и гипогранулез - у 10 (71%) пациентов. Скучный лимфоцитарный инфильтрат из мелких клеток с примесью гистиоцитов наблюдался в верхних слоях дермы с минимальными признаками эпидермотропизма. У 5 (36%) больных наблюдались единичные атипичные лимфоциты с церебриформными ядрами, что вызывало трудности в проведении дифференциальной диагностики с ГМ. Изменения в очагах поражения эпидермиса при МБП (n=9) были незначительными и отмечались в виде ортокератоза (78%), вакуолизации клеток шиповатого слоя (67%), паракератоза (22%), акантоза (13%). В сосочковом слое дермы отмечался умеренный периваскулярный лимфо-гистиоцитарный инфильтрат с примесью единичных эозинофилов (89%).

Таким образом, выявить патогистологические признаки ГМ на пятнистой стадии – трудная задача для патоморфолога. Стоит отметить, что гистологическая картина была сомнительной у 12 (44%) больных ГМ, из них – у 8 больных пятнистой и у 4 - бляшечной стадиями ГМ, а также подозрительной – у 7 (30%) больных БП.

При иммуногистохимическом исследовании выявлена значимость определения экспрессии маркера зрелых Т-лимфоцитов CD3+ в эпидермисе и дерме для дифференциальной диагностики ГМ и БП. Также следует отметить умеренно выраженную экспрессию CD5+ в эпидермисе, CD7+ и CD45RO+ в дерме у больных ГМ, CD8+ в эпидермисе – у больных БП. Индекс пролиферативной активности (Ki-67) у больных ГМ (47 [15-86] %) был почти в 2 раза выше, чем у больных БП (26 [2-43] %).

Применяя клинико-anamnestический, гистологический и иммуногистохимический методы исследования, диагноз ГМ удалось установить у 19 (70%) больных ГМ, из них – у 7 (64%) больных на ранних стадиях.

В группе больных ГМ реаранжировка по генам γ -цепи ТКР была выявлена в 17 из 27 клинических случаев ГМ и у 3 из 23 больных БП, при этом у остальных пациентов картина

была или сомнительной, или носила поликлональный характер. Таким образом, частота ложноотрицательных результатов составила 37 % (преимущественно на ранних стадиях).

Таким образом, несмотря на эффективность и точность метода определения клональности по генам γ -цепи ТКР, остается определенный процент пациентов, у которых данный метод не позволяет установить диагноз. В целях осуществления комплексной диагностики ГМ ПЦР-исследование должно применяться в обязательном порядке. Применяя комплексную диагностику грибовидного микоза, на современном этапе установить диагноз на ранних стадиях до сих пор остается трудной задачей.

Результаты экспрессии генетических маркеров

В ходе молекулярно-биологического исследования генетических маркеров методом ПЦР-РВ выявлено, что уровень экспрессии гена STAT4 показал значительное (в 9 раз) повышение экспрессии мРНК транскриптов у пациентов ГМ (168 отн.ед.) по сравнению с больными БП (18,5 отн.ед.; $p < 0,05$) и в 553 раза - со здоровыми лицами (0,3 отн.ед.; $p < 0,05$).

Установлено, что у пациентов ГМ уровень экспрессии гена FOXP3 (15,3 отн.ед.) в 5 раз выше по сравнению с группой больных БП, однако это не является статистически значимым (3,1 отн.ед.; $p > 0,05$), и в 82 раза – по сравнению со здоровыми лицами (0,2 отн.ед.; $p < 0,05$). Помимо этого, отмечено резкое снижение уровня экспрессии гена FOXP3 у больных эритродермической формой ГМ (0,93 отн.ед.) и выраженное повышение - у пациента с фолликулотропным подтипом ГМ (48 отн.ед.)

Выявлена слабая экспрессия IL-12B во всех группах.

Также было отмечено статистически значимое преобладание уровня экспрессии гена STAT4 у больных пятнистой и бляшечной стадиями ГМ (181 отн.ед.; 316 отн.ед.) по сравнению с больными БП (18,5 отн.ед.; $p < 0,05$) и здоровыми лицами (0,3 отн.ед.; $p < 0,05$).

Полученные данные отображены в таблице 1.

В связи с этим нами было сформировано две группы больных согласно уровню экспрессии гена STAT4: I группа - ≤ 100 отн.ед., II группа - > 100 отн.ед. Структура диагнозов в I группе распределилась следующим образом: ГМ – 7,7 %, БП – 63,8 %, здоровые лица – 28,5 %; во II группе: ГМ – 66,7 %, БП – 33,3 %, здоровые лица – 0 %. Это свидетельствует в пользу того, что при определении только уровня экспрессии гена STAT4 (> 100 отн.ед.) вероятность установления диагноза ГМ увеличивается до 66,7 % (Рис. 1).

При проведении корреляционного анализа между уровнем экспрессии генов STAT4 и FOXP3 в разных группах нами были выявлены статистически значимые коэффициенты корреляции между маркерами (Рис. 2). При уровне экспрессии STAT4 = 1-100 отн.ед. уровень экспрессии FOXP3 достигает ≥ 4 отн.ед. в 57,1 % случаев. В случае экспрессии гена STAT4 ≥ 100 отн.ед. уровень экспрессии FOXP3 достигает ≥ 4 отн.ед. в 66,7 % случаев.

Таблица 1 - Распределение значений уровня экспрессии генетических маркеров (FOXP3, STAT4, IL-12B) у больных грибовидным микозом, бляшечным параспориозом и у здоровых лиц

Группа	FOXP3	STAT4	IL-12B
Здоровые лица	0,2 [0,01-0,60]	0,3 [0,01-0,70]	0,03 [0,01-0,10]
Бляшечный параспориоз (БП)	3,1 [0,01-16,50]	18,5 [0,37-88,3]	0,7 [0,08-5,50]
Мелкобляшечный параспориоз	1,59 [0,01-4,86]	5,43 [0,36-26,80]	0,3 [0,16-1,35]
Крупнобляшечный параспориоз	8,93 [4,62-16,52]	56,42 [7,3-88,9]	1,95 [0,09-5,50]
Грибовидный микоз (ГМ)	15,3 [1,0-49,3]	168* [1,1-456]	2,2 [0,02-15]
Пятнистая стадия	21,53 [5,25-37,70]	181* [147-240]	5,3 [0,04-150]
Бляшечная стадия	25,34 [1,32-49,38]	316* [179-456]	0,54 [0,05-1,02]
Опухолевая стадия	25,58 [20,4-30,80]	151 [76,7-225]	0,31 [0,03-0,30]

Примечание. * — $p < 0,05$ -- статистически значимые различия между группами больных ГМ и БП. Данные представлены как медиана, 25 – 75 перцентили. Уровень экспрессии указан в относительных единицах (отн.ед.) относительно АСТВ.

По результатам проведенного нами исследования был усовершенствован диагностический алгоритм ранних стадий ГМ (Рис. 3).

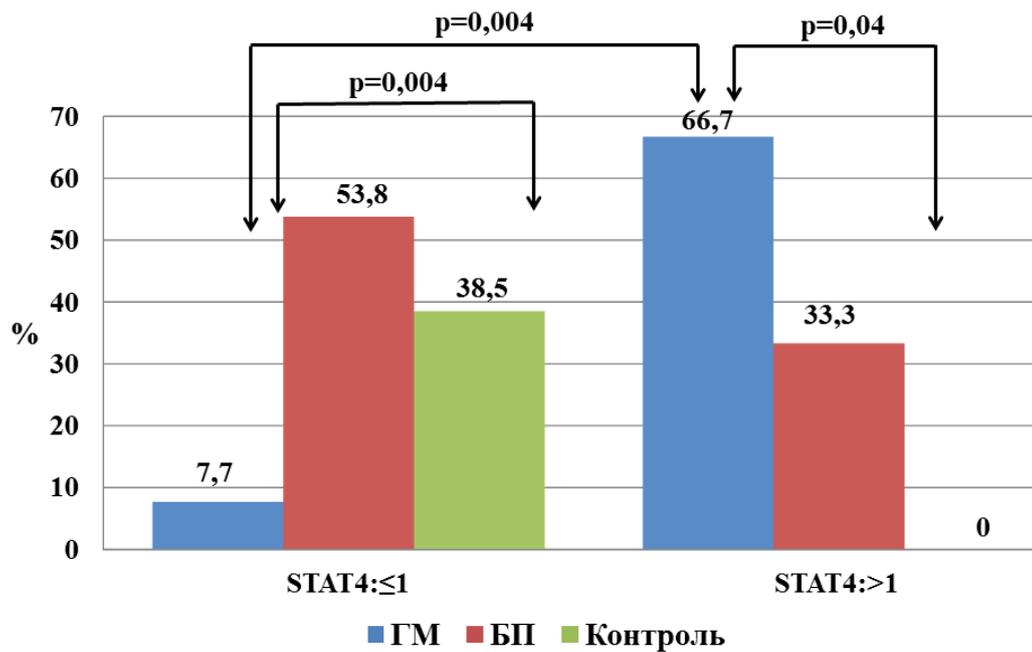


Рисунок 1 - Структура диагнозов при разных уровнях STAT4*

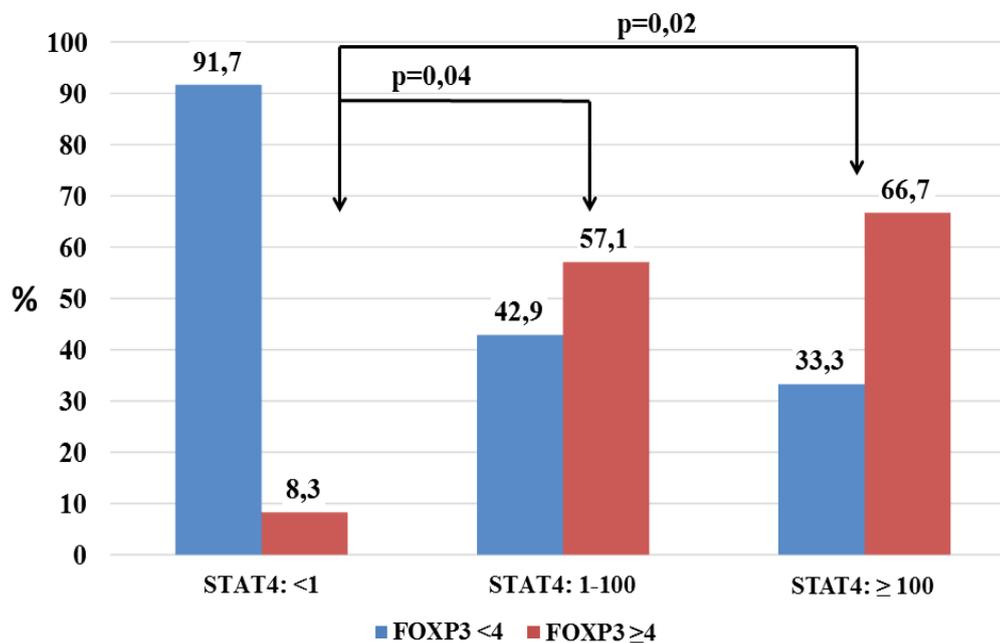


Рисунок 2 - Корреляционные связи между уровнем экспрессии STAT4 и FOXP3*

*Уровень экспрессии указан в относительных единицах (отн.ед.) относительно АСТВ

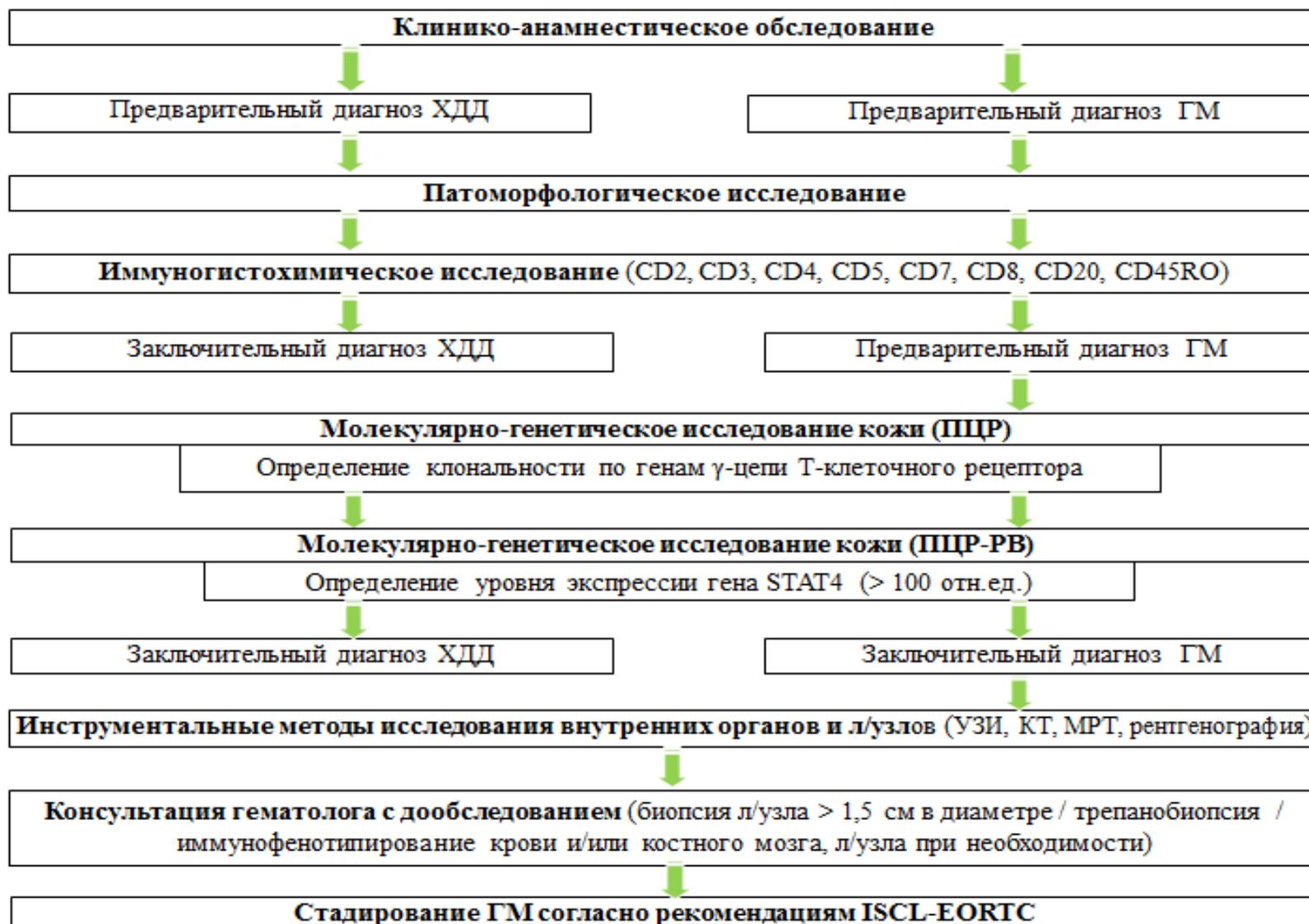


Рисунок 3 - Диагностический алгоритм ранних стадий грибовидного микоза.

Примечание. ХДД – хронический доброкачественный дерматоз, ГМ – грибовидный микоз.

Оценка результатов комбинации ПУВА-терапии и интерферона- α по сравнению с монотерапией ПУВА у больных грибовидным микозом

Комбинацию ПУВА-терапии в сочетании с ИФН- α получали 16 больных ГМ первой группы (7 женщин и 9 мужчин), средний возраст которых составил 54 (28-80) лет. По стадиям заболевания пациентов распределили следующим образом: IB - 5 (31%), IIA - 4 (25%), IIB - 3 (19%), IIIA - 3 (19%), IVA₂ - 1 (6%).

Начальная доза ПУВА-терапии составила 0,5--1 Дж/см². Курсовая доза облучения составила от 138 до 340 Дж/см² (в среднем 208), количество процедур на курс - от 32 до 56 (в среднем 40). Максимальная разовая доза варьировала от 6,5 Дж/см² до 10 Дж/см² (в среднем 8,5 Дж/см²), Длительность терапии составила 8-14 (в среднем 10) недель.

Большинство пациентов (n=13; 81%) получали терапию ИФН- α в дозировке 3 млн МЕ трижды в неделю, в то время как двум больным ГМ IIIA стадии и одному больному IVA₂ стадии (n=3; 19%), эффект от лечения у которых был недостаточным, потребовалось увеличение дозы до 6 млн МЕ трижды в неделю. Курсовая доза ИФН- α составила в среднем 225 [141-429] млн МЕ. Длительность лечения ИФН- α у больных ГМ составила 16-28 (в среднем 18) недель.

ПУВА в виде монотерапии была проведена 11 больным ГМ второй группы (6 женщин и 5 мужчин) в возрасте от 29 до 80 лет (средний возраст 52 года). По стадиям заболевания пациентов распределили следующим образом: IA - 3 (27,5%), IB - 4 (36,5%), IIA - 2 (18%), IIB - 2 (18%).

Всего на курс лечения больные получали от 38 до 76 процедур (в среднем 52). Максимальная разовая доза варьировала от 6 Дж/см² до 10 Дж/см² (среднее 7,5 Дж/см²), курсовая доза - от 148 до 355 Дж/см² (195 Дж/см² в среднем).

В результате проведенной терапии комбинированным методом положительный эффект был получен у 15 (94%) больных ГМ (Рис. 4). Была отмечена редукция индекса mSWAT на 90-100% у 12 (75%) больных IB--IIIA стадиями, что соответствовало клинической ремиссии. У 3 (19%) больных IIA-IIIА стадиями ГМ отмечалось значительное улучшение в виде уменьшения площади поражения и яркости высыпаний, уменьшения шелушения, зуда, у 1 (6%) больного IVA₂ стадии ГМ эффекта от проводимой терапии не отмечалось. В результате лечения больных второй группы клиническая ремиссия была достигнута у 6 (55%) больных (Табл. 2).

У пациентов, получавших комбинированный метод терапии, было установлено, что полная ремиссия наблюдалась у всех больных в течение 9 месяцев; до 1 года она сохранялась у 22 (81%) больных. Рецидив заболевания после ПУВА в виде монотерапии наступил у 3 (27%) больных спустя 7 месяцев.

Таблица 2 - Результаты терапии больных грибковидным микозом, получавших ПУВА в сочетании с интерфероном- α

Показатель	Клиническая ремиссия	Значительное улучшение	Без эффекта
Количество больных	12 (75 %)	3 (19%)	1 (6%)
Стадии ГМ	IA-IIIА	IIВ-IIIА	IVА ₂
Число процедур ПУВА-терапии	32-44	44-48	56
Длительность лечения ПУВА (недели)	8-10	10-12	14
Курсовая доза ПУВА (Дж/см ²)	142-204	229-283	340
Длительность лечения ИФН- α (недели)	16-22	18-24	28
Курсовая доза ИФН- α (млн МЕ)	141-197	160-354	390



Рисунок 4 - Клинические примеры пациентов с грибковидным микозом с достигнутой полной ремиссией

В целом отмечалась хорошая клиническая переносимость ПУВА и ИФН- α . Побочные эффекты сводились только к развитию фототоксических явлений (в виде фотодерматита, сухости кожных покровов) и гриппоподобному синдрому, лейкопении, которые не приводили к остановке лечения до регресса побочных реакций и зачастую купировались самостоятельно, при снижении дозировки препарата или при присоединении минимальной коррегирующей терапии.

Наблюдение за больными ГМ проводилось в течение 1 года после окончания терапии. Больным первой группы было рекомендовано продолжить прием ИФН- α , а курс ПУВА-терапии повторить через 1 год. Пациенту IIВ стадии, получавшему ПУВА-терапию, было рекомендовано добавить курс ИФН- α . Для достижения клинической ремиссии больной получил суммарную дозу 160 млн МЕ на протяжении 18 недель.

У пациентов, получавших комбинированный метод терапии, было установлено, что полная ремиссия наблюдалась у всех больных в течение 9 месяцев; до 1 года она сохранялась у 22 (81%) больных.

Рецидив заболевания после ПУВА в виде монотерапии наступил у 3 (27%) больных спустя 7 месяцев.

Повторный курс ПУВА-терапии получили по собственному желанию 2 больных ГМ из обеих групп, у которых в результате лечения была достигнута клиническая ремиссия. При повторном курсе ПУВА-терапии для достижения клинической ремиссии потребовалось меньшее количество процедур, суммарная доза УФ и продолжительность лечения.

Таким образом, можно сказать, что комбинация ПУВА-терапии с ИФН- α является высокоэффективным методом лечения различных стадий ГМ, с помощью которого достигается стойкая ремиссия. При сравнении результатов проводимой терапии выявлено, что эффективность ПУВА-терапии в сочетании с ИФН- α (75%) была выше в 1,4 раза, чем ПУВА как монотерапии (55%).

Кроме того, использование ИФН- α позволяет сократить сроки лечения и быстрее достичь более продолжительной ремиссии ГМ. Комбинированный метод хорошо переносится больными с минимальными побочными явлениями в виде фототоксических реакций, гриппоподобного синдрома и лейкопении у 62,5% больных. В случае возникновения рецидива ГМ клиническое излечение наступает за более короткие сроки, при этом уменьшается и куммулятивная доза УФ, и количество процедур. Также согласно полученным результатам, более выраженный положительный эффект от комбинированного метода лечения наблюдался у больных ГМ IIВ--IIIА стадии, однако была достигнута ремиссия у пациентов даже с обширным поражением кожи на поздних стадиях (IIВ--IIIА), что явилось статистически достоверным ($p < 0,05$).

ВЫВОДЫ

1. Анализ проведенных исследований показал, что несмотря на комплексную оценку клинико-anamnestических, неоднократных гистологических, иммунофенотипических и молекулярно-генетических (определение реаранжировки по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора) данных, верификация диагноза у больных грибовидным микозом ранних стадий возможна в 59,1 % случаев.

2. Установлено, что у больных пятнистой стадии (181 отн.ед.) грибовидного микоза по сравнению с больными бляшечным парапсориазом (18,5 отн.ед.) отмечается статистически значимое преобладание уровня экспрессии гена STAT4 ($p < 0,05$). При уровне экспрессии гена STAT4 > 1 отн.ед. вероятность установления диагноза ГМ увеличивается до 66,7 %. Выявляемая экспрессия у всех больных маркера Т-регуляторных клеток FOXP3, а также IL-12B не является диагностически значимой и может рассматриваться только в качестве вспомогательного диагностического метода.

3. Включение в диагностический алгоритм ранних стадий грибовидного микоза изучение уровня экспрессии гена STAT4 (> 100 отн.ед.) повышает точность диагностики ранних стадий грибовидного микоза с 59,1% до 92,59%.

4. Комбинация ПУВА-терапии и ИФН- α является высокоэффективным и безопасным методом лечения грибовидного микоза, вызывает клиническую ремиссию у 75% больных и может с успехом применяться у больных грибовидным микозом IB--IIIA стадии. Выявлено, что эффективность ПУВА-терапии в сочетании с ИФН- α в 1,4 раза выше, чем ПУВА в виде монотерапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для установления диагноза грибовидного микоза наиболее эффективна комплексная диагностика, включающая клинико-anamnestический, гистологический, иммуногистохимический и молекулярно-генетический (выявление клональности по генам γ -цепи Т-клеточного рецептора) методы, однако на ранних стадиях для верификации диагноза необходимо применение ПЦР-РВ для определения уровня экспрессии гена STAT4, что позволяет повысить эффективность ранней диагностики грибовидного микоза и может рекомендоваться для использования в клинической и амбулаторной практике врачей-дерматологов, онкогематологов.

2. Для достижения клинической ремиссии у больных грибовидным микозом целесообразно применение ПУВА-терапии по методике 4-разового облучения в неделю в сочетании с интерфероном-альфа в дозе от 3 до 6 млн ЕД трижды в неделю в зависимости от переносимости и стадии заболевания. Курс состоит из 37 ± 5 процедур ПУВА при длительности

терапии 9 ± 1 недель с курсовой дозой облучения 176 ± 28 Дж/см² в сочетании с 61 ± 11 инъекций ИФН- α при длительности терапии 20 ± 3 недель с курсовой дозой 175 ± 21 млн МЕ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Грекова, Е.В. Комбинация ПУВА-терапии с интерфероном- α у больных грибовидным микозом / О.Ю. Олисова, К.В. Смирнов, Е.В. Грекова // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2017. - №20(3). – С. 132-9.

2. Grekova, E.V. Effectiveness of interferon- α and PUVA in mycosis fungoides therapy / O.Yu. Olisova, E.V. Grekova // **Scientific journal “Fundamentalis scientiam”**. – 2017. - №2 (3). – P.44-50.

3. Грекова, Е.В. Гиперэкспрессия STAT4 – возможный диагностический маркер ранних стадий грибовидного микоза / О.Ю. Олисова, Е.В. Грекова, Л.Г. Горенкова, Е.А. Алексеева, Д.В. Залетаев // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2018 - № 21(2). – С. 94-101.

4. Grekova, E.V. Cutaneous pseudolymphoma caused by Poly Implant Prothèse breast implants / O.Yu. Olisova, O.V. Grabovskaya, N.P. Teplyuk, A.S. Tertychnyy, V.A. Varshavsky, E.V. Grekova // **Journal of European Academy of Dermatology and Venerology**. – 2018. - 32(9). - e358-e360.

5. Грекова, Е.В. Эритродермическая форма грибовидного микоза: алгоритм диагностики и лечения (клин. случай) / О.Ю. Олисова, А.А. Сыдилов, И.Н. Чупров, Л.Г. Горенкова, С.А. Черныш, В.А. Доронин, Е.В. Грекова // **Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика**. – 2018. - №4. – С. 295-302.

6. Грекова, Е.В. Клинические аспекты и алгоритм диагностики эритродермий различных дерматозов / О.Ю. Олисова, Д.В. Заславский, А.А. Сыдилов, И.Н. Чупров, Йорг Вензел, Е.В. Грекова // **Российский журнал кожных и венерических болезней**. – 2018. – №21(2). – С. 72-80.

7. Грекова, Е.В. Роль генетических маркеров FOXP3, STAT4, IL-12B в ранней диагностике грибовидного микоза / Е.В. Грекова, О.Ю. Олисова, Д.В. Залетаев, Е.А. Алексеева // Сборник тезисов XI Международной научно-практической конференции «Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования». – 2018. – №5(10). – С. 21-4.

8. Grekova, E.V. Cutaneous pseudolymphoma caused by Poly Implant Prothèse breast implants / O.Yu. Olisova, O.V. Grabovskaya, N.P. Teplyuk, A.S. Tertychnyy, V.A. Varshavsky, E.V. Grekova // 27th European Academy of Dermatology and Venereology Congress, Abstract Book — Paris, France, 14-16 September 2018. – P. 73.

9. **Grekova, E.V.** Effectiveness of interferon- α and PUVA in mycosis fungoides therapy / O.Yu. Olisova, **E.V. Grekova** // 27th European Academy of Dermatology and Venereology Congress, Abstract Book — Paris, France, 14-16 September 2018. – P. 82.
10. **Грекова, Е.В.** STAT4 – генетический маркер для ранней диагностики грибовидного микоза / **Е.В. Грекова**, О.Ю. Олисова, Е.А. Алексеева, Д.В. Залетаев // Сборник тезисов VIII Межрегионального форума дерматовенерологов и косметологов. - Москва, 4-5 октября 2018 г. – С. 45-6.
11. **Грекова, Е.В.** Гиперэкспрессия STAT4 – возможный диагностический маркер ранних стадий грибовидного микоза / **Е.В. Грекова**, О.Ю. Олисова, Е.А. Алексеева, Д.В. Залетаев, Л.Г. Горенкова // Сборник тезисов XV Российской конференции с международным участием «Злокачественные лимфомы». – Москва, 25-26 октября 2018 г. – С. 53.
12. **Грекова, Е.В.** Совершенствование молекулярно-генетического метода диагностики грибовидного микоза / О.Ю. Олисова, Д.В. Залетаев, **Е.В. Грекова**, Е.А. Алексеева // Сборник тезисов XII Научно-практической конференции «Санкт-Петербургские дерматологические чтения». - Санкт-Петербург, 25-27 октября 2018 г. – С. 96-7.
13. **Грекова, Е.В.** Уникальный случай псевдолимфомы как реакция на силиконовый имплант / О.Ю. Олисова, Н.П. Теплюк, О.В. Грабовская, В.А. Варшавский, А.С. Тертычный, **Е.В. Грекова** // Сборник тезисов XII Научно-практической конференции «Санкт-Петербургские дерматологические чтения». - Санкт-Петербург, 25-27 октября 2018 г. – С. 175-6.
14. **Grekova, E.V.** Overexpression of STAT4 is a possible diagnostic marker of early stages of mycosis fungoides. / **E.V. Grekova**, O.Yu. Olisova, E.A. Alekseeva, D.V. Zaletayev // **Biological markers in fundamental and clinical medicine.** – 2018. - №2 (2). – P. 30.
15. **Грекова, Е.В.** Тезисы постерных докладов и принятые к публикации. Комбинация ПУВА-терапии с интерфероном- α у больных грибовидным микозом: 7-летнее ретроспективное исследование / О.Ю. Олисова, К.В. Смирнов, Л.Г. Горенкова, **Е.В. Грекова** // Злокачественные опухоли. – 2018. - №3s1. - С. 234-82.
16. **Грекова, Е.В.** Современные возможности дифференциальной диагностики бляшечного параспориоза и ранних стадий грибовидного микоза / О.Ю. Олисова, **Е.В. Грекова**, В.А. Варшавский, Л.Г. Горенкова, Е.А. Алексеева, Д.В. Залетаев, А.А. Сыдииков // **Архив патологии.** – 2019. - № 81(1). – С. 9-17.
17. **Grekova, E.V.** PUVA and interferon- α 2b combined therapy for patients with mycosis fungoides at different stages of the disease: a seven-year retrospective study in Russia / O.Yu. Olisova, M. Megna, **E.V. Grekova**, D.V. Zaslavsky, L.G. Gorenkova, A.A. Sidikov, E.A. Timoshchuk // **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.** – 2019. - 33(2). - e72-e74.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БП – бляшенный парапсориаз

ГМ – грибовидный микоз

ИЛ (IL) – интерлейкин

ИФН – интерферон

КБП – крупнобляшенный парапсориаз, МБП – мелкобляшечный парапсориаз

ПЦР-РВ (Real time-ПЦР) – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени

ПУВА (Psoralen + UltraViolet A) – псорален-ультрафиолет А

ТКЛК – Т-клеточные лимфомы кожи

ТКР – Т-клеточный рецептор

ХДД – хронический доброкачественный дерматоз

FOXP – Forkhead Box Protein

mSWAT – модифицированная шкала взвешенной оценки тяжести заболевания

STAT – сигнальные передатчики и активаторы транскрипции