

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК: 616.5-002.951-079.4

КОЛОС
Юлия Викторовна

**КЛИНИЧЕСКИЕ, ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ
АУТОИММУННЫХ БУЛЛЕЗНЫХ ДЕРМАТОЗОВ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.01.10 – кожные и венерические болезни

Минск 2015

Научная работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Лукьянов Александр Михайлович,**
доктор медицинских наук, доцент,
заведующий кафедрой кожных
и венерических болезней учреждения
образования «Белорусский государственный
медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Хворик Дмитрий Федорович,**
доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой дерматовенерологии
учреждения образования «Гродненский
государственный медицинский университет»

Зыкова Ольга Семеновна,
кандидат медицинских наук, доцент, доцент
кафедры дерматовенерологии учреждения
образования «Витебский государственный
ордена Дружбы народов медицинский
университет»

Оппонирующая организация: государственное учреждение образования
«Белорусская медицинская академия
последипломного образования»

Защита состоится 9 декабря 2015 года в 14⁰⁰ на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.04 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет», 220116 г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, ауд. № 10. E-mail: rector@bsmu.by, тел. +375 17 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «___» ноября 2015 года

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций Д 03.18.04,
кандидат медицинских наук, доцент



А.М. Дронина

ВВЕДЕНИЕ

Аутоиммунные буллезные дерматозы (АБД) – это гетерогенная группа приобретенных хронических заболеваний аутоиммунной природы, характеризующихся выработкой аутоантител к определенным антигенным структурам кожи и клинически проявляющихся пузырьным синдромом на коже и/или слизистых оболочках [Bolognia J.L. et al., 2008]. Наиболее часто среди них встречаются дерматозы группы акантолитической пузырчатки (АкП), буллезный пемфигоид (БП), герпетиформный дерматоз Дюринга (ГДД) [Burns T. et al., 2010]. Данные дерматозы отличаются тяжестью клинического течения, значительным снижением качества жизни и частой инвалидизацией пациентов, а в случае АкП могут иметь летальный исход при отсутствии рациональной иммуносупрессивной терапии [Wolff K. et al., 2007].

Используемые в Беларуси методы обследования пациентов с буллезной патологией: оценка клинических данных, метод Тцанка, банальное гистологическое исследование – не гарантируют точную постановку диагноза, что может приводить к диагностическим ошибкам и неправильному подбору лечения [Лукьянов А.М. и соавт., 2011]. Современные мировые подходы к диагностике АБД базируются на обнаружении специфических аутоантител. С этой целью используют прямую и непрямую реакции иммунофлюоресценции (нРИФ), иммуноферментный анализ (ИФА), иммуноблоттинг, реакцию иммунопреципитации [Kneisei A. et al., 2011]. Указанные методики в Республике Беларусь не применяются в практике.

Таким образом, существует острая необходимость разработки схемы дифференциальной диагностики АБД, в том числе с использованием иммунологических методик, как наиболее чувствительных и специфичных.

Дальнейшее изучение вопросов патогенеза, в том числе генетических механизмов развития заболевания также имеет большое научно-практическое значение как в плане усовершенствования традиционных подходов к диагностике и лечению АБД, так и поиска новых потенциальных мишеней таргетной терапии.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами) и темами

Диссертация выполнена в рамках инновационного проекта «Разработать и внедрить комплекс мероприятий по мониторингу и дифференциальной диагностике аутоиммунных заболеваний кожи и подкожной клетчатки» (сроки исполнения: июль 2012 г. – июнь 2015 г., номер государственной регистрации 20123540).

Цель и задачи исследования

Цель исследования – разработать схему дифференциальной диагностики заболеваний группы АкП, БП и ГДД на основании клинико-anamnestических, цитологических, патоморфологических, иммунологических критериев.

В соответствии с целью исследования были поставлены следующие задачи:

1. Определить общую заболеваемость и структуру заболеваний группы АБД в Республике Беларусь.
2. Провести сравнительный анализ и определить эффективность использования в диагностике заболеваний группы АкП, БП и ГДД клинико-anamnestических, цитологических, патоморфологических и иммунологических критериев.
3. Провести сравнительный анализ и определить эффективность использования нРИФ и ИФА в диагностике заболеваний группы АкП, БП и ГДД.
4. Предложить этапность проведения клинико-диагностических тестов в зависимости от их эффективности;
5. Выявить изменения в экспрессии генов у пациентов с АкП.

Объект исследования: 81 пациент с клиническим диагнозом АБД, проходивший обследование и лечение в УЗ «Городской клинический кожно-венерологический диспансер г. Минска (УЗ ГККВД г. Минска), УЗ «Брестский областной кожно-венерологический диспансер» (УЗ БОКВД), УЗ «Гродненский областной кожно-венерологический диспансер» (УЗ ГОКВД), УЗ «Могилевский областной кожно-венерологический диспансер» (УЗ МОКВД); данные о 397 пациентах, состоявших на диспансерном учете в кожно-венерологических диспансерах (КВД) Беларуси на конец 2011 г.; 196 медицинских карт стационарных больных, проходивших лечение в УЗ ГККВД г. Минска по поводу заболеваний группы «L10-L14 Буллезные нарушения» в период с января 2007 г. по июнь 2012 г.

Предмет исследования: эпидемиологические характеристики и клиническая картина АкП, БП, ГДД; клинические индексы степени тяжести течения АкП и БП (индексы PDAI и BPDAI соответственно); методы диагностики АкП, БП, ГДД; экспрессия генов периферических моноклеаров у пациентов с АкП.

Научная новизна:

1. Проведена оценка эпидемиологических характеристик АБД в Республике Беларусь, показано, что используемые в настоящее время методы верификации диагнозов группы АБД не соответствуют современным стандартам диагностики, что приводит к искажению показателей и структуры заболеваемости.

2. Проведен сравнительный анализ эффективности клинико-анамнестических, цитологических, патоморфологических, иммунологических критериев диагностики АБД и установлено, что наибольшей эффективностью обладают иммунологические критерии, основанные на обнаружении в сыворотке крови специфических аутоантител к белкам кожи человека, к тканевой трансглутаминазе и дезаминированным пептидам глиадина с помощью ИФА с рекомбинантными антигенами и/или нРИФ.

3. Разработана схема дифференциальной диагностики заболеваний группы АкП, БП, ГДД, основанная на совокупности клинико-анамнестических, цитологических, патоморфологических, иммунологических критериев при решающем значении последних.

4. Разработана схема исследования сывороток крови пациентов с АБД для метода нРИФ.

5. Впервые установлено изменение экспрессии ($p < 0,01$) 91 гена периферическими мононуклеарами крови у пациентов с АкП. Наибольшее повышение экспрессии выявлено у генов Fc γ рецептора 1A – FCGR1A.1, а также Fc фрагмента IgG-связывающего белка – FCGBP.

Положения, выносимые на защиту:

1. Гипердиагностика АкП (27,8%) и ГДД (74,1%), гиподиагностика БП (87,5%) обусловлены недостаточной, ограниченной клинико-анамнестическими и цитологическими критериями диагностикой АБД.

2. Иммунологические критерии, основанные на обнаружении в сыворотке крови специфических аутоантител к белкам клеточной адгезии кожи человека (десмоглеину 1 и 3 (ДСГ 1 и ДСГ 3), энвоплакину, ВР 180, ВР 230), а также к тканевой трансглутаминазе и дезаминированным пептидам глиадина с помощью ИФА с рекомбинантными антигенами и/или нРИФ, обладают наибольшей эффективностью в диагностике АБД и должны рассматриваться в качестве обязательных подтверждающих тестов.

3. Разработана схема дифференциальной диагностики заболеваний группы АкП, БП, ГДД, основанная на совокупности клинико-анамнестических, цитологических, патоморфологических, иммунологических (обнаружение специфических аутоантител в сыворотке крови с помощью ИФА с рекомбинантными антигенами) критериев при решающем значении последних.

4. У пациентов с АкП наблюдаются изменения в экспрессии 91 гена периферическими мононуклеарами ($p < 0,01$). Наибольшее повышение экспрессии установлено у генов функциональной группы иммуноглобулинов и их компонентов: гена Fc γ рецептора 1A – FCGR1A.1, а также Fc фрагмента IgG-связывающего белка – FCGBP.

Личный вклад соискателя ученой степени. Настоящая работа является самостоятельным научным исследованием, выполнена автором лично на базе

кафедры кожных и венерических болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет» (УО БГМУ), а также УЗ ГККВД г. Минска, УЗ БОКВД, УЗ ГОКВД, УЗ МОКВД.

Формулировка темы диссертации, постановка цели и задач исследования, а также их методическое решение проведены диссертантом совместно с научным руководителем: доктором медицинских наук, доцентом А.М. Лукьяновым.

Диссертантом самостоятельно на 100% выполнен патентно-информационный поиск, обзор отечественных и зарубежных источников литературы по теме исследования, разработаны критерии включения и исключения пациентов из исследования, проведен набор клинического материала с определением индексов PDAI и VPDAI, сформирована компьютерная база пациентов с АБД, осуществлялась подготовка иллюстрированного материала, статистическая и графическая обработка полученных результатов и их интерпретация, написание всех разделов диссертации с формулировкой выводов и практических рекомендаций.

Основные научные результаты диссертации получены автором лично и изложены в статьях. Эпидемиологические характеристики АБД представлены в статьях [2, 21], вклад диссертанта 95%. Результаты ИФА и нРИФ изложены в публикациях [4] – личный вклад 50%; [6, 7] – личный вклад 95%; [8,10] – личный вклад – 100%; [12, 13, 15, 17, 18, 20, 25, 26] – личный вклад 90%. Использование клинических индексов для оценки степени тяжести течения пузырчатки отражено в статьях [3, 5, 22], личный вклад 95%. Результаты патоморфологического исследования представлены в публикациях [14, 16, 23], личный вклад 80%. Анализ экспрессии генов и результаты биочипирования изложены в статьях [9, 24] – личный вклад 85%; [19] – личный вклад 100%. Анализ эффективности различных методов диагностики АБД выполнен автором лично на 100% [11].

На основании результатов научного исследования диссертантом совместно с научным руководителем А.М. Лукьяновым разработана инструкция по применению «Алгоритм дифференциальной диагностики акантолитической пузырчатки, буллезного пемфигоида, герпетического дерматоза Дюринга» (утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 11.07.2014, регистрационный номер 055-0614), личный вклад – 90% [27].

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов. Основные положения и результаты диссертации доложены и обсуждены на региональной научно-практической конференции с международным участием «Инновационные технологии в диагностике и лечении кожных заболеваний и инфекций уrogenитального тракта» (Гродно, 31.05.2012); 9-м весеннем симпозиуме Европейской академии дерматологии и венерологии (Верона, Италия, 6–10.06.2012); научной сессии УО БГМУ

(Минск, 29.01.2013, 27.01.2015); республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию образования кафедры кожных и венерических болезней УО БГМУ (Минск, 06.09.2013); 22-м конгрессе Европейской академии дерматологии и венерологии (Стамбул, Турция, 2–6.10.2013); 10-й Академии дерматологии и аллергологии (Устка, Польша, 6–9.02.2014); клинической конференции УЗ ГККВД г. Минска (Минск, 20.02.2014); республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 100-летию Белорусского научного общества дерматовенерологов «Дерматовенерология и косметология Республики Беларусь: вчера, сегодня, завтра» (Минск, 5–6.06.2014); 23-м конгрессе Европейской академии дерматологии и венерологии (Амстердам, Нидерланды, 8–12.10.2014); дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Инновации в медицине и фармации – 2014» (Минск, 11.11.2014); 12-м весеннем симпозиуме Европейской академии дерматологии и венерологии (Валенсия, Испания, 5–8.03.2015); республиканской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 50-летию медико-профилактического факультета УО БГМУ (Минск, 22.04.2015).

Результаты исследования использованы при разработке инструкции по применению «Алгоритм дифференциальной диагностики акантолитической пузырчатки, буллезного пемфигоида, герпетиформного дерматоза Дюринга» (утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь, 11.07.2014, регистрационный № 055-0614), которая внедрена в работу УЗ ГККВД г. Минска, УЗ БОКВД, УЗ МОКВД, УЗ «Минский областной кожно-венерологический диспансер».

Опубликование результатов диссертации. По материалам диссертации опубликованы: 11 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень изданий, утвержденных приказом ВАК Республики Беларусь и соответствующих пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (общий объем – 9,5 авторских листа), 13 статей в материалах научных конференций (в том числе 5 публикаций в материалах зарубежных конференций), 2 – в тезисах докладов, 1 инструкция по применению. Без соавторов опубликованы 4 статьи.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 188 страницах машинописного текста и включает 42 таблицы (объем 20 страниц), 36 рисунков (объем 21 страница). Состоит из оглавления, перечня условных обозначений, введения, общей характеристики работы, шести глав (обзор литературы, материал и методы исследования, 4 главы собственных исследований), заключения, библиографического списка (28 страниц), включающего 320 использованных источников и 27 публикаций соискателя, приложений (28 страниц).

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования

В диссертационное исследование включен 81 пациент с клиническим диагнозом АБД, проходивший обследование и лечение в УЗ ГККВД г. Минска, УЗ БОКВД, УЗ ГОКВД, УЗ МОКВД в период с 2011 по 2014 годы, в том числе 23 (28,4%) мужчины и 58 (71,6%) женщин в возрасте от 19 до 90 лет (62 (49–73) года) со следующими нозологическими формами (по МКБ-10): L10 Пузырчатка (51 случай), сочетание L10 Пузырчатка и L13.0 ГДД (3 случая), L12.0 БП (3 случая), L13.0 ГДД (24 случая).

Критерии включения в исследование: выставленный у пациента клинический диагноз АкП (L10), БП (L12.0), ГДД (L13.0) или подозрение на него; наличие пузырьного синдрома на коже и/или слизистых оболочках на момент обследования или в анамнезе; возраст пациента 18 и более лет; подписанное пациентом информированное согласие на диагностические и лечебные манипуляции.

Критерии исключения из исследования: возраст пациента до 18 лет; наличие у пациента острой инфекционной патологии на момент проведения исследования; наличие у пациента тяжелых соматических заболеваний в стадии декомпенсации; наличие у пациента психических расстройств.

В контрольную группу вошли 12 сопоставимых по возрастным и половым показателям ($p > 0,05$) практически здоровых лиц без кожной патологии на момент обследования.

Постановка клинического диагноза осуществлялась на основании клиничко-анамнестических критериев, включающих возраст дебюта заболевания, характеристику и локализацию элементов сыпи, определение симптома Никольского, субъективные ощущения пациента.

С целью верификации клинического диагноза выполнялись нРИФ и ИФА с сывороткой крови пациентов ($n=81$), цитологическое исследование клеточного состава пузырьной жидкости, а также мазков-отпечатков со дна эрозий с целью обнаружения акантолитических клеток ($n=67$), банальное патоморфологическое исследование ($n=24$).

нРИФ проводилась с использованием тест-систем Euroimmun, содержащих субстраты пищевода обезьяны, печени обезьяны, мочевого пузыря крысы. ИФА с сывороткой крови выполнялся с использованием тест-систем Euroimmun, содержащих рекомбинантные антигены ДСГ 1, ДСГ 3, энвоплакин, ВР 180, ВР 230, тканевую трансглутаминазу, дезаминированные пептиды глиадина.

По результатам лабораторных методов исследования у пациентов были верифицированы следующие нозологические формы АБД: L10 Пузырчатка (34 случая), сочетание L10 Пузырчатка и L13.0 ГДД (6 случаев), сочетание

L10 Пузырчатка и L12.0 БП (2 случая), L12.0 БП (19 случаев), L13.0 ГДД (5 случаев), сочетание L12.0 БП и L13.0 ГДД (3 случая). В 12 случаях диагноз АБД не был подтвержден лабораторно. Исследованы гендерные, возрастные характеристики полученных групп пациентов, а также особенности клинической картины, длительность заболевания, триггерные факторы, коморбидность.

Объективизация степени тяжести течения АкП проводилась с помощью индекса площади поражения при пузырчатке (PDAI), БП – индекса площади поражения при буллезном пемфигоиде (BPDAI). Значения индекса PDAI варьировали от 0 до 44 баллов (20 (7–28) баллов), индекса BPDAI – от 1 до 51 балла (26 (9–42) баллов), что свидетельствовало о легком или среднетяжелом течении заболевания.

Изменения в экспрессии генов периферических мононуклеаров методом биочипирования были проанализированы у 8 пациентов с верифицированным серологически и морфологически диагнозом АкП в возрасте от 19 до 62 лет, в среднем – 44,5 (16,6) лет. Индекс PDAI варьировал от 6 до 41 балла, 20 (13–31) баллов. В контрольную группу при проведении биочипирования вошли 13 здоровых доноров, сопоставимых по гендерным и возрастным характеристикам ($p > 0,05$).

Показатели и структура заболеваемости АБД в Беларуси изучалась на основании данных о 397 пациентах с АБД, состоявших на диспансерном учете в областных КВД республики и УЗ ГККВД г. Минска на конец 2011 г., а также 196 медицинских карт стационарных больных (форма № 003/у-07), проходивших лечение в УЗ ГККВД г. Минска по поводу заболеваний группы «L10-L14 Буллезные нарушения» в период с января 2007 г. по июнь 2012 г.

Статистическая и графическая обработка результатов исследования проводилась с применением пакета статистических программ Statistica 10.0 и программы Microsoft Excel 2010. В случае нормального распределения признака (согласно критерию Шапиро–Уилка) данные представлялись в виде среднего арифметического (M) и среднего квадратического отклонения (s). В случае распределения признака, отличного от нормального – в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25%–75%).

Для сравнения двух групп по количественному признаку использовался классический t -критерий Стьюдента для независимых выборок или U -критерий Манна–Уитни; по качественному признаку – критерий χ^2 или точный критерий Фишера. При проведении корреляционного анализа рассчитывался коэффициент корреляции Спирмена r . При использовании любого теста или критерия определялась вероятность справедливости нулевой гипотезы (отсутствие различий групп) p . Статистически значимыми различия считались при $p < 0,05$.

Для оценки эффективности различных методов в диагностике АБД рассчитывались чувствительность (Ч) и специфичность метода (С), прогностическая значимость положительного (ПЗПР) и отрицательного результата теста (ПЗОР), диагностическая эффективность (ДЭ).

При проведении биочипирования изображение и относительные значения интенсивности флюоресценции для каждого гена определялись с помощью программного обеспечения Mappix v.4.5.0. Статистические расчёты проводились в программе Multi Experiment Viewer Mev v4.8. Статистически значимыми различия считались при уровне $p < 0,01$ для t-теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эпидемиологические характеристики АБД в Республике Беларусь. Показатель общей заболеваемости по группе АБД на 2011 г. составил 4,19 случая на 100 000 населения. Показатель общей заболеваемости вульгарной пузырчаткой – 1,84 случая на 100 000 населения, ГДД и БП – 1,73 и 0,11 случая на 100 000 населения соответственно.

В структуре диагнозов группы АБД преобладали «L10.0 Вульгарная пузырчатка» (43,8%) и «L13.0 ГДД» (41,3%), в то время как доля «L12.0 БП» составляла всего 2,5%, что свидетельствовало о низком уровне диагностики данной патологии. Среди нозологических форм АП преобладала вульгарная как по республике в целом (79,5%), так и по регионам страны. Наиболее высокие показатели общей заболеваемости вульгарной пузырчаткой отмечены в Брестской и Могилевской областях: 2,58 и 2,39 случая на 100 000 населения соответственно.

Наблюдалась негативная тенденция снижения возраста дебюта вульгарной пузырчатки (у 27,4% диспансерных пациентов манифестация заболевания наблюдалась в возрасте до 40 лет), а также увеличения количества госпитализаций в стационары дерматовенерологического профиля по поводу АБД за период 2007–2011 гг. в среднем в 2 раза.

У большинства пациентов с АБД течение заболевания было отягощено сопутствующей патологией, что способствовало увеличению риска побочных эффектов от проводимой иммуносупрессивной терапии.

Такие нозологии как лекарственно-индуцированная пузырчатка, паранеопластическая пузырчатка, IgA-ассоциированная пузырчатка, герпес беременных, линейный IgA-буллезный дерматоз, буллезная форма системной красной волчанки, верификация которых связана со специальными гистологическими и иммунологическими методиками исследования, в отчетах лечебных учреждений дерматовенерологической службы республики отсутствовали.

Используемые в стране методики верификации диагнозов группы АБД: оценка клинико-анамнестических данных, а также результатов цитологического исследования – не соответствуют современным стандартам диагностики, что ведет к искажению показателей и структуры заболеваемости.

Молекулярный спектр аутоантител у пациентов с АБД. По результатам нРИФ клинический диагноз АкП был подтвержден серологически в 70,4% случаев (выявлены депозиты IgG в межклеточных пространствах эпителия на субстрате пищевод обезьяны), ГДД – в 22,2% (обнаружены нитевидные отложения IgA в интралобулярных синусах на субстрате печень обезьяны), что свидетельствовало о гипердиагностике данных заболеваний. В то время как при БП наблюдалась гиподиагностика: только в 14,3% случаев серологически верифицированного БП (депозиты IgG вдоль базальной мембраны на субстрате пищевод обезьяны) диагноз выставлялся клинически. В 9,9% случаев были выявлены серологические признаки паранеопластической пузырчатки (депозиты IgG в межклеточных пространствах эпителия на субстрате мочевого пузыря крысы), которая не выставлялась клинически ни в одном из случаев. Были получены статистически значимые различия результатов верификации диагноза с помощью данных клинического осмотра и нРИФ в случае АкП ($\chi^2=4,97$, $p=0,0258$), БП (F , $p=0,0001$), ГДД ($\chi^2=6,51$, $p=0,0108$).

Разработана схема исследования сывороток пациентов с АБД для метода нРИФ, включающая выбор субстрата, определение класса специфических аутоантител, а также интерпретацию характера и локализации специфического свечения.

По результатам ИФА клинический диагноз АкП был подтвержден серологически в 72,2% случаев (обнаружены IgG к ДСГ 3 и/или ДСГ 1 при вульгарной (вегетирующей) пузырчатке; IgG к ДСГ 1 при листовидной пузырчатке; IgG к энвоплакину, ДСГ 3 и/или ДСГ 1, ВР 230 при паранеопластической пузырчатке), ГДД – в 25,9% случаев (выявлены IgA к тканевой трансглутаминазе и/или дезаминированным пептидам глиадина). Только в 12,5% серологически верифицированного БП (обнаружены IgG к ВР 180 и/или ВР 230) диагноз выставлялся клинически. Были получены статистически значимые различия результатов верификации диагноза с помощью данных клинического осмотра и ИФА в случае АкП ($\chi^2=4,30$, $p=0,0381$), БП (F , $p=0,00001$), ГДД ($\chi^2=5,52$, $p=0,0188$).

Таким образом, по результатам серологических методов исследования показана гипердиагностика АкП (27,8%) и ГДД (74,1%), а также гиподиагностика БП (87,5%). Большинству пациентов (54,5%) с серологически верифицированным БП клинически выставлялся диагноз ГДД.

Статистически значимых различий результатов верификации диагноза с помощью нРИФ и ИФА получено не было как в случае АкП ($\chi^2=0,02$, $p=0,8751$),

так и БП ($\chi^2=0,28$, $p=0,5987$), ГДД ($\chi^2=0,04$, $p=0,833$). То есть оба метода имели сопоставимую эффективность в диагностике АД.

Концентрация аутоантител IgG к ДСГ 3 при ИФА у пациентов с серологически верифицированной вульгарной (вегетирующей) пузырчаткой варьировала от 22,6 ОЕд/мл до 506,6 ОЕд/мл, в среднем – 242,67 (151,21) ОЕд/мл. В случае листовидной пузырчатки концентрация аутоантител (IgG) к ДСГ 3 была ниже порогового значения. Различия в концентрации указанных аутоантител были статистически значимыми ($U=0,00$, $p=0,001678$).

Концентрация аутоантител IgG к ДСГ 1 у пациентов с серологически верифицированной вульгарной (вегетирующей) пузырчаткой составляла от 26,22 до 353,64 ОЕд/мл, в среднем – 144,97 (89,98) ОЕд/мл, у пациентов с листовидной пузырчаткой – от 78,7 до 400,7 ОЕд/мл, в среднем – 222,28 (163,31) ОЕд/мл. Различия в концентрации указанных аутоантител были статистически незначимыми ($U=22,00$, $p=0,071899$).

Таким образом, листовидная пузырчатка была ассоциирована с выработкой аутоантител к ДСГ 1 (в 100% случаев), при вульгарной (вегетирующей) пузырчатке обнаруживались аутоантитела либо к ДСГ 3 (в 38,5% случаев), либо к ДСГ 3 и 1 (в 61,5% случаев). Различия в молекулярном спектре аутоантител при вульгарной (вегетирующей) и листовидной пузырчатке были статистически значимыми ($\chi^2=23,56$, $p=0,00001$).

Клинический фенотип пациентов с АкП также был ассоциирован с молекулярным спектром аутоантител. Так, в случае изолированного поражения кожи были обнаружены аутоантитела IgG к ДСГ 1 (57,1% случаев пациентов с указанным фенотипом, все пациенты с листовидной пузырчаткой), либо к ДСГ 1 и ДСГ 3 (42,9% случаев соответственно, все пациенты с вульгарной (вегетирующей) пузырчаткой). При изолированном поражении слизистых выработка аутоантител IgG наблюдалась исключительно к ДСГ 3 (100% случаев, все пациенты с вульгарной пузырчаткой). При сочетанном поражении слизистых оболочек и кожи в большинстве случаев обнаруживались аутоантитела IgG как к ДСГ 1, так и к ДСГ 3 (87,5% случаев пациентов с указанным фенотипом, все пациенты с вульгарной (вегетирующей) пузырчаткой). Различия в молекулярном спектре аутоантител при указанных клинических фенотипах были статистически значимыми ($\chi^2=35,19$, $p=0,000001$).

Анализ ассоциации концентрации аутоантител IgG к ДСГ 3 и 1 и значений индекса PDAI у пациентов с вульгарной (вегетирующей) пузырчаткой выявил прямую средней силы статистически значимую корреляционную связь концентрации аутоантител IgG к ДСГ 1 и PDAI ($r=0,73$, $p=0,000017$), а также прямую средней силы статистически значимую корреляционную связь концентрации аутоантител IgG к ДСГ 3 и PDAI ($r=0,48$,

$p=0,011406$), то есть при возрастании значений концентраций аутоантител IgG к ДСГ 1 и ДСГ 3 наблюдалось увеличение значений индекса PDAI.

Роль цитологического и патоморфологического методов в диагностике АБД. Из 33 пациентов с АБД, у которых в мазках-отпечатках были обнаружены акантолитические клетки, серологически диагноз пузырчатки был подтвержден только в 78,9% (26) случаев. Были получены статистически значимые различия результатов верификации диагноза с помощью метода Тцанка и ИФА ($F, p=0,011$). Таким образом, результаты метода Тцанка не могут быть основанием для постановки диагноза пузырчатки, а носят лишь ориентировочное значение.

Из 28 пациентов нашей выборки, у которых исследовался цитоз пузырной жидкости, эозинофилия пузырной жидкости 10–29% установлена в 17,9% (5) случаев, свыше 30% – в 57,1% (16) случаев. В 60,7% случаев пациентов с эозинофилией пузырной жидкости свыше 10% ($n=21$) серологически был верифицирован БП, а не ГДД. Однако ассоциации между эозинофилией пузырной жидкости свыше 10% и наличием у пациента БП установлено не было ($\chi^2=0,77, p=0,37962$). Также не было обнаружено ассоциации между наличием других нозологических форм АБД и эозинофилией пузырной жидкости ($\chi^2=4,49, p=0,34369$). Таким образом, эозинофилия пузырной жидкости не может рассматриваться в качестве критерия диагностики ГДД либо другого АБД.

Клинический диагноз АкП ($n=13$) был подтвержден морфологически в 9 случаях, в 2 случаях (при локализации на слизистых) морфологически был верифицирован БП, а не пузырчатка. Клинический диагноз БП ($n=2$) был подтвержден морфологически в 1 случае, ГДД ($n=9$) – в 1 случае, в 8 случаях вместо ГДД морфологически определялся БП. В 3 случаях были выявлены неспецифические изменения, не позволившие интерпретировать полученную морфологическую картину. Были получены статистически значимые различия результатов верификации диагноза с помощью патоморфологического исследования и данных клинического осмотра в случае БП ($F, p=0,0078$) и ГДД ($F, p=0,0006$), однако при пузырчатке статистически значимых различий получено не было ($\chi^2=1,34, p=0,2466$). Таким образом, традиционное патоморфологическое исследование позволяет провести дифференциальную диагностику между различными группами пузырных дерматозов: интраэпидермальными (группой АкП) и субэпидермальными АБД (БП и ГДД), но неспецифично в плане диагностики конкретной нозологической формы. Для повышения эффективности патоморфологического исследования и снижения количества неспецифических результатов теста необходимо совершенствование методологии проведения панч-биопсии кожи и подготовки гистологических препаратов, а также использование специфических иммуногистохимических методов.

Изменение экспрессии генов у пациентов с АкП. Установлены изменения в экспрессии 91 гена периферическими мононуклеарами крови у пациентов с АкП: у 56 генов наблюдалось повышение экспрессии, у 35 – понижение ($p < 0,01$). Гены, модифицировавшие свою экспрессию, выявлены в функциональных группах генов иммуноглобулинов и их рецепторов; цитокинов, хемокинов, ростовых факторов и их рецепторов; толл-подобных рецепторов; клеточного цикла, дифференцировки и апоптоза; онкогенов; системы комплемента; белков внеклеточного матрикса; белков компонентов организации и структуры клеток; молекул адгезии; генов мембранных каналов, а также генов, ответственных за процессы репликации, транскрипции, процессинга.

Значительное повышение экспрессии наблюдалось у генов Fc γ рецептора 1A – FCGR1A.1 (в 22,8 раза, $p = 0,00001$), а также Fc фрагмента IgG-связывающего белка – FCGBP (в 12,6 раза, $p = 0,00001$).

Повышение экспрессии генов CCL13 ($p = 0,00002$), CCL18 ($p = 0,00253$), CCL21 ($p = 0,00005$), кодирующих цитокины, участвующие в хемотаксисе моноцитов, лимфоцитов, базофилов и эозинофилов, свидетельствует в пользу преимущественного участия данных клеток в иммунном воспалении при пузырчатке. В то время как экспрессия гена CXCL8 ($p = 0,00359$), кодирующего цитокины, ответственные за хемотаксис нейтрофилов в очаг воспаления, была понижена.

Повышение экспрессии гена caspase 9, apoptosis-related cysteine protease ($p = 0,00014$), кодирующего фермент каспазу 9, указывает на возможную роль процессов апоптоза в патогенезе АкП.

Снижение экспрессии генов, кодирующих белки активации системы комплемента по классическому пути (C1qA, C1qB, C1qR1, C1s), и повышение экспрессии гена DF, кодирующего фактор D альтернативного пути свидетельствует о недостаточной вовлеченности классического пути в элиминацию иммунных комплексов системой комплемента при пузырчатке ($p < 0,01$).

Сравнительный анализ эффективности различных критериев диагностики АБД. Рассчитаны операционные характеристики клиничко-анамнестических (таблица 1), цитологических (таблица 2), патоморфологических критериев (таблица 3) диагностики АБД.

Таблица 1. – Операционные характеристики клиничко-анамнестических критериев при диагностике различных форм АБД

Нозологическая форма	Ч	С	ПЗПР	ПЗОР	ДЭ
АкП	90,7%	70%	72,2%	89,7%	79,6%
БП	11,5%	100%	100%	74,4%	75,3%
ГДД	42,9%	73,4%	22,2%	87,9%	68,8%

Таблица 2. – Операционные характеристики цитологических критериев при диагностике АкП

Нозологическая форма	Ч	С	ПЗПР	ПЗОР	ДЭ
АкП	74,3%	78,1%	78,8%	73,5%	76,1%

Таблица 3. – Операционные характеристики патоморфологических критериев при диагностике различных форм АБД

Нозологическая форма	Ч	С	ПЗПР	ПЗОР	ДЭ
АкП	75%	100%	100%	80%	87,5%
БП	61,5%	72,7%	72,7%	61,5%	66,7%

Показано, что наиболее высокой ДЭ обладают иммунологические критерии, основанные на обнаружении специфических аутоантител в сыворотке крови с помощью нРИФ (таблица 4) и ИФА. Однако в силу ряда важных преимуществ ИФА (автоматизация постановки и оценки теста, возможность определения конкретной нозологической формы АБД на основании полученного молекулярного спектра аутоантител), а также сопоставимой эффективности нРИФ и ИФА ($p > 0,05$) в диагностике АБД, последний метод предпочтителен для практической медицины.

Таблица 4. – Операционные характеристики нРИФ при диагностике различных форм АБД

Нозологическая форма	Ч	С	ПЗПР	ПЗОР	ДЭ
АкП	95,2%	94,1%	93%	96%	94,6%
БП	88%	98,5%	95,7%	95,7%	95,7%
ГДД	71,4%	94,9%	71,4%	94,9%	91,4%

Разработана 5-этапная схема дифференциальной диагностики заболеваний группы АкП, БП, ГДД, предполагающая последовательную оценку данных клинического осмотра, цитологического, патоморфологического, иммунологического обследования (ИФА) при решающем значении последнего. При этом верификация нозологической формы АБД проводится на основании полученного молекулярного спектра аутоантител (таблица 5).

При этом в случае вульгарной пузырчатки (или ее клиническом варианте – вегетирующей пузырчатке) молекулярный спектр аутоантител представлен аутоантителами к ДСГ 3 либо сочетанием аутоантител к ДСГ 3 и 1. Для листовидной пузырчатки характерны аутоантитела к ДСГ 1. Основным молекулярным признаком паранеопластической пузырчатки является обнаружение аутоантител к плакинам (в том числе к энвоплакину). Кроме того, при данной нозологической форме могут выявляться аутоантитела к ДСГ 3 и/или ДСГ 1, к антигену буллезного пемфигоида 1 (ВР 230). При БП определяются аутоантитела к NC16A домену антигена буллезного пемфигоида 2 (ВР 180)

и/или к антигену буллезного пемфигоида 1 (ВР 230). Для ГДД характерны аутоантитела к тканевой трансглутаминазе и/или дезаминированным пептидам глиаина.

Таблица 5. – Молекулярный спектр аутоантител заболеваний группы АкП, БП, ГДД

Аутоантитела к:	Нозологическая форма АБД				
	Вульгарная (вегетирующая) пузырчатка	Листовидная пузырчатка	Паранеопластическая пузырчатка	БП	ГДД
ДСГ 3 (IgG)	+	–	+	–	–
ДСГ 1(IgG)	+	+	+	–	–
ВР 180 (IgG)	–	–	–	+	–
ВР 230 (IgG)	–	–	+	+	–
энвоплакину (IgG)	–	–	+	–	–
тканевой трансглутаминазе (IgA)	–	–	–	–	+
дезаминированным пептидам глиаина (IgA)	–	–	–	–	+

Необходимо отметить возможность одновременного наличия у одного пациента нескольких нозологических форм АБД. В этом случае при ИФА будут обнаруживаться различные аутоантитела, характерные для соответствующих нозологических форм АБД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Показатель общей заболеваемости АБД в 2011 г. составил 4,19 случая на 100 000 населения, показатель общей заболеваемости вульгарной пузырчаткой – 1,84 случая на 100 000 населения, ГДД и БП – 1,73 и 0,11 случая на 100 000 населения соответственно. В структуре диагнозов группы АБД преобладали L10.0 Вульгарная пузырчатка (43,8%) и L13.0 ГДД (41,3%), доля L12.0 БП составляла 2,5%. Отмечены тенденции снижения возраста дебюта АкП (27,4% пациентов моложе 40 лет), увеличения количества госпитализаций по поводу АБД (в 2 раза за период 2007–2011 гг.) [2, 21].

Использование клиничко-anamnestических и цитологических критериев в качестве решающих при постановке диагноза АБД приводит к искажению показателей и структуры заболеваемости: гипердиагностика АкП составила 27,8%, ГДД – 74,1% соответственно, гиподиагностика БП – 87,5% [1, 2, 6–8, 10, 13, 15, 18].

2. ДЭ клиничко-anamnestических критериев для АкП составляет 79,6%, Ч – 90,7%, С – 70%; для БП – 75,3%, 11,5% и 100%; для ГДД – 68,8%, 42,9% и 73,4% соответственно. ДЭ цитологического критерия (метода Тцанка) для АкП составляет 76,1%, Ч – 74,3%, С – 78,1% [11].

Патоморфологические критерии обладают высокой ДЭ при АкП – 87,5% (Ч – 75%, С – 100%), однако при БП их ДЭ снижается до 66,7% (Ч – 61,5%, С – 72,7%) [11, 14].

Иммунологические критерии, основанные на обнаружении специфических аутоантител к белкам клеточной адгезии кожи человека (ДСГ 1, ДСГ 3, энвоплакину, ВР 180, ВР 230), к тканевой трансглутаминазе и дезаминированным пептидам глиаина в сыворотке крови с помощью нРИФ и/или ИФА, обладают высокой эффективностью и должны рассматриваться в качестве подтверждающих диагноз АБД [4, 6–8, 10, 11, 13, 15–18, 23, 25, 26].

3. ДЭ нРИФ для АкП составляет 94,6%, Ч – 95,2%, С – 94,1%, для БП – 95,7%, 88% и 98,5%, для ГДД – 91,4%, 71,4% и 94,9% соответственно [6, 10, 11].

При сопоставимой с нРИФ эффективностью в диагностике АБД ($p > 0,05$) ИФА обладает рядом преимуществ (автоматизация постановки и учета результатов, возможность определения конкретной нозологической формы АБД на основании полученного молекулярного спектра аутоантител), что делает ИФА предпочтительным для использования в клинической практике [7, 10, 11, 18, 26].

Значения концентрации аутоантител IgG к ДСГ 3 и ДСГ 1 при ИФА у пациентов с вульгарной (и ее клиническим вариантом – вегетирующей) пузырчаткой ассоциированы со степенью тяжести течения заболевания (индексом PDAI) и могут использоваться как прогностический фактор. Установлена прямая средней силы статистически значимая корреляционная связь концентрации аутоантител IgG к ДСГ 1 и значений индекса PDAI ($r=0,73$, $p=0,000017$), а также прямая средней силы статистически значимая корреляционная связь концентрации аутоантител IgG к ДСГ 3 и значений индекса PDAI ($r=0,48$, $p=0,011406$), то есть при возрастании значений концентраций аутоантител IgG к ДСГ 1 и ДСГ 3 наблюдается увеличение значений индекса PDAI [3, 5, 7, 22].

4. Разработана схема дифференциальной диагностики заболеваний группы АкП, БП, ГДД, основанная на совокупности клинико-анамнестических, цитологических, патоморфологических, иммунологических критериев (обнаружение специфических аутоантител к ДСГ 1, ДСГ 3, энвоплакину, антигенам ВР 180 и ВР 230, тканевой трансглутаминазе, дезаминированным пептидам глиаина в сыворотке крови с помощью ИФА с рекомбинантными антигенами) при решающем значении последних [7, 10, 11, 27].

Разработана схема исследования сывороток крови пациентов с АБД для метода нРИФ, включающая выбор субстрата, определение класса иммуноглобулинов в сыворотке крови, а также интерпретацию характера и локализации специфического свечения [4, 6, 12, 13, 20].

5. У пациентов с АкП наблюдаются статистически значимые ($p < 0,01$) изменения в экспрессии 91 гена периферическими мононуклеарами крови. У 56 генов установлено повышение экспрессии, у 35 – понижение [9, 19].

Гены, модифицировавшие свою экспрессию ($p < 0,01$), выявлены в функциональных группах генов иммуноглобулинов и их рецепторов; цитокинов, хемокинов, ростовых факторов и их рецепторов; толл-подобных рецепторов; клеточного цикла, дифференцировки и апоптоза; онкогенов; системы комплемента; белков внеклеточного матрикса; белков компонентов организации и структуры клеток; молекул адгезии; генов мембранных каналов, а также генов, ответственных за процессы репликации, транскрипции, процессинга [9, 19].

Выраженное повышение экспрессии установлено у генов функциональной группы иммуноглобулинов и их рецепторов: Fc γ рецептора 1A – FCGR1A.1 (в 22,8 раза по сравнению с контрольной группой, $p = 0,00001$), а также Fc фрагмента IgG-связывающего белка – FCGBP (в 12,6 раза соответственно, $p = 0,00001$) [9, 19, 24].

Повышение экспрессии генов CCL13 ($p = 0,00002$), CCL18 ($p = 0,00253$), CCL21 ($p = 0,00005$), кодирующих цитокины, участвующие в хемотаксисе моноцитов, лимфоцитов, базофилов и эозинофилов, свидетельствует в пользу преимущественного участия данных клеток в иммунном воспалении при пузырчатке [9].

Повышение экспрессии гена caspase 9, apoptosis-related cysteine protease ($p = 0,00014$), кодирующего фермент каспазу 9, указывает на возможную роль процессов апоптоза в патогенезе АкП [9].

Рекомендации по практическому использованию результатов исследования

1. Для повышения эффективности диагностики АБД рекомендуется включать иммунологические методики (ИФА с рекомбинантными антигенами и/или нРИФ) в качестве обязательного этапа верификации диагноза.

2. Для объективной оценки степени тяжести течения заболевания и рационального выбора терапии рекомендуется включать индексы PDAI (индекс площади поражения при пузырчатке) и BPDAI (индекс площади поражения при БП) в клинический протокол обследования пациентов с АкП и БП.

3. Инструкция по применению «Алгоритм дифференциальной диагностики акантолитической пузырчатки, буллезного пемфигоида, герпетического дерматоза Дюринга» (утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь 11.07.2014, регистрационный № 055-0614) может использоваться учреждениями здравоохранения при оказании специализированной медицинской помощи пациентам с АкП БП, ГДД, что подтверждается актами внедрения результатов научного исследования в работу КВД республики [27].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ**Статьи в рецензируемых журналах**

1. Дифференциальная диагностика пузырных дерматозов / А. М. Лукьянов, Ю. В. Колос, В. А. Малютин, М. В. Левченя, Л. П. Титов // *Здравоохранение*. – 2011. – № 8. – С. 29–38.
2. Лукьянов, А. М. Эпидемиологические характеристики аутоиммунных буллезных дерматозов в Республике Беларусь / А. М. Лукьянов, Ю. В. Колос // *ARS MEDICA*. – 2012. – № 12(67). – С. 73–86.
3. Колос, Ю. В. Использование клинических индексов для оценки степени тяжести течения пузырчатки / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов // *Мед. панорама*. – 2013. – № 1(136). – С. 69–74.
4. Создание диагностикума для выявления антител к компонентам (белкам) кожи человека в сыворотке крови пациентов с иммунопатологией / М. В. Левченя, Ю. В. Колос, А. С. Мурашко, А. М. Лукьянов, Л. П. Титов // *Медицина*. – 2013. – № 4. – С. 67–73.
5. Колос, Ю. В. Объективные критерии оценки степени тяжести течения аутоиммунных буллезных дерматозов / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов // *Мед. панорама*. – 2014. – № 1(145). – С. 44–53.
6. Колос, Ю. В. Метод непрямой реакции иммунофлюоресценции: алгоритм исследования сывороток крови пациентов с аутоиммунными буллезными дерматозами / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов // *Мед. панорама*. – 2014. – № 1(145). – С. 61–68.
7. Колос, Ю. В. Буллезные дерматозы: диагностическое значение определения аутоантител методом иммуноферментного анализа / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов // *Здравоохранение*. – 2014. – № 3(145). – С. 55–61.
8. Колос, Ю. В. Буллезный пемфигоид и герпетиформный дерматоз Дюринга: клиника, диагностика и лечение / Ю. В. Колос // *Рецепт*. – 2014. – № 5(97). – С. 88–98.
9. Изменения в экспрессии генов мононуклеаров периферической крови у пациентов с акантолитической пузырчаткой / А. М. Лукьянов, Ю. В. Колос, М. В. Левченя, Л. П. Титов // *Мед. панорама*. – 2014. – № 8(152). – С. 48–56.
10. Колос, Ю. В. Роль серологических методов в диагностике акантолитической пузырчатки / Ю. В. Колос // *Лабораторная диагностика*. Восточная Европа. – 2014. – № 4. – С. 107–119.
11. Колос, Ю. В. Эффективность различных методов диагностики аутоиммунных буллезных дерматозов / Ю. В. Колос // *Мед. панорама*. – 2015. – № 1(154). – С. 32–38.

Материалы конференций

12. Получение антигенных субстратов для диагностики буллезных дерматозов на основе криосрезов кожи человека / М. В. Левченя, Л. П. Титов, А. М. Лукьянов, В. А. Горанов, Ю. В. Колос, В. А. Малютин // ARS MEDICA. – 2011. – № 15(51). – С. 150–151. – [Актуальные вопросы дерматовенерологии и косметологии : материалы VI съезда дерматовенерологов Республики Беларусь, Витебск, 24–25 нояб. 2011 г.].

13. Применение непрямой реакции иммунофлюоресценции для диагностики аутоиммунных буллезных дерматозов / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов, М. В. Левченя, Т. А. Сикорская // Инновационные технологии в диагностике и лечении кожных заболеваний и инфекций урогенитального тракта : материалы регион. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Гродно, 31 мая 2012 г. – Гродно, 2012. – С. 72–75.

14. Роль морфологического исследования в диагностике аутоиммунных буллезных дерматозов / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов, Т. А. Бич, В. А. Малютин // ARS MEDICA. – 2013. – № 8(78). – С. 120–125. – [90 лет кафедре кожных и венерических болезней : материалы Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию образования каф. кож. и вен. болезней УО БГМУ, Минск, 6 сент. 2013 г.].

15. Колос, Ю. В. Герпетиформный дерматоз Дюринга: диагностические возможности иммуноферментного анализа / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов, М. В. Левченя // ARS MEDICA. – 2013. – № 8(78). – С. 117–120. – [90 лет кафедре кожных и венерических болезней : материалы Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию образования каф. кож. и вен. болезней УО БГМУ, Минск, 6 сент. 2013 г.].

16. Колос, Ю. В. Клинический случай сочетания листовидной пузырчатки и герпетиформного дерматоза Дюринга / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов, Т. А. Бич // ARS MEDICA. – 2014. – № 1(81). – С. 45–49. – [Дерматовенерология и косметология Республики Беларусь: вчера, сегодня, завтра : материалы Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 100-летию Бел. науч. о-ва дерматовенерологов, Минск, 5–6 июня 2014 г.].

17. Колос, Ю. В. Молекулярный спектр аутоантител при различных клинических фенотипах акантолитической пузырчатки / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов // ARS MEDICA. – 2014. – № 1(81). – С. 49–53. – [Дерматовенерология и косметология Республики Беларусь: вчера, сегодня, завтра : материалы Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 100-летию Бел. науч. о-ва дерматовенерологов, Минск, 5–6 июня 2014 г.].

18. Колос, Ю. В. Ошибки диагностики герпетиформного дерматоза Дюринга / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов // ARS MEDICA. – 2014. – № 1(81). – С. 53–57. – [Дерматовенерология и косметология Республики Беларусь: вчера,

сегодня, завтра : материалы Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 100-летию Бел. науч. о-ва дерматовенерологов, Минск, 5–6 июня 2014 г.].

19. Колос, Ю. В. Технология биочипирования для изучения экспрессии генов у пациентов с акантолитической пузырчаткой / Ю. В. Колос // Инновации в медицине и фармации – 2014 : материалы дистанцион. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Минск, 11 нояб. 2014 г. [Электронный ресурс]. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

20. Antigenic substrates for diagnosis of autoimmune bullous dermatoses / A. Lukyanau, Y. Kolas, V. Maliutsin, M. Liauchenia // Материалы 9-го весен. симпозиума Европ. академии дерматологии и венерологии, Верона (Италия), 6–10 июня 2012 г. [Электронный ресурс]. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

21. Lukyanau, A. The prevalence of autoimmune bullous dermatoses in the Republic of Belarus / A. Lukyanau, Y. Kolas // Материалы 9-го весен. симпозиума Европ. академии дерматологии и венерологии, Верона (Италия), 6–10 июня 2012 г. [Электронный ресурс]. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

22. Using of the pemphigus disease area index and the autoimmune bullous skin disorder intensity score for assessment of severity of pemphigus / A. Lukyanau, Y. Kolas, V. Maliutsin, T. Sikorskaya // Материалы 22-го конгр. Европ. академии дерматологии и венерологии, Стамбул (Турция), 2–6 окт. 2013 г. [Электронный ресурс]. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

23. Kolas, Y. Case of concomitant pemphigus foliaceus and dermatitis herpetiformis / Y. Kolas, A. Lukyanau // Материалы 23-го конгр. Европ. академии дерматологии и венерологии, Амстердам (Нидерланды), 8–12 окт. 2014 г. [Электронный ресурс]. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

24. Kolas, Y. Overexpression of FCGR1A gene in patients with acantholytic pemphigus / Y. Kolas, A. Lukyanau // Материалы 12-го весен. симпозиума Европ. академии дерматологии и венерологии, Валенсия (Испания), 5–8 марта 2015 г. [Электронный ресурс]. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

Тезисы докладов

25. Колос, Ю. В. Особенности молекулярного спектра аутоантител при вульгарной и листовидной пузырчатке / Ю. В. Колос, А. М. Лукьянов // Санкт-Петербургские дерматологические чтения : тез. VII науч.-практ. конф. дерматовенерологов и косметологов, Санкт-Петербург, 30 окт. – 1 нояб. 2014 г. – СПб, 2014. – С. 27.

26. Lukyanau, A. M. Autoimmune bullous dermatosis: diagnostic efficiency of enzyme immunoassay / A. M. Lukyanau, Y. V. Kolas // 10-я Академия дерматологии и аллергологии : тез. международной науч.-практ. конф., Устка (Польша), 6–9 февр. 2014 г. – Устка, 2014. – С. 77–78.

Инструкции по применению

27. Алгоритм дифференциальной диагностики акантолитической пузырьчатки, буллезного пемфигоида, герпетиформного дерматоза Дюринга : инструкция по применению : утв. Министерством здравоохранения Республики Беларусь 11.07.2014, регистрационный номер 055-0614 / А. М. Лукьянов, Ю. В. Колос ; Белорус. гос. мед. ун-т. – Минск, 2014. – 15 с.

Репозиторий БГМУ

Колас Юлія Віктараўна

Клінічныя, патамарфалагічныя і імуналагічныя крытэрыі дыферэнцыяльнай дыягностыкі аўтаімунных булёзных дэрматозаў

Ключавыя словы: аканталітычная пухырчатка, булёзны пемфігоід, герпетыформны дэрматоз Дзюрынга, дыферэнцыяльная дыягностыка, імунаферментны аналіз, непрамая рэакцыя імунафлюарэсцэнцыі, біячыпіраванне, экспрэсія генаў.

Мэта даследавання: распрацоўка схемы дыферэнцыяльнай дыягностыкі захворванняў групы аканталітычнай пухырчаткі, булёзнага пемфігоіду і герпетыформнага дэрматозу Дзюрынга.

Метады даследавання: клінічны агляд, цыталагічнае і патамарфалагічнае даследаванне, непрамая рэакцыя імунафлюарэсцэнцыі, імунаферментны аналіз, біячыпіраванне.

Выкарастаная апаратура: светлавы мікраскоп Leica, люмінесцэнтны мікраскоп Nikon ECLIPSE 50i, планшэтны спектрафатометр BioTek ELx800, дэнсітометр Nanodrop, сканер біячыпаў Innoscan.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Упершыню праведзена ацэнка эпідэміялагічных характарыстык аўтаімунных булёзных дэрматозаў у Рэспубліцы Беларусь.

Распрацавана схема дыферэнцыяльнай дыягностыкі захворванняў групы аканталітычнай пухырчаткі, булёзнага пемфігоіду і герпетыформнага дэрматозу Дзюрынга, заснаваная на сукупнасці клініка-анамнестычных, цыталагічных, патамарфалагічных, імуналагічных крытэрыяў (знаходжанне спецыфічных аўтаантыцелаў да дэсмаглеіну 1 і 3, энваплакіну, BP 180, BP 230, тканкавай трансглютаміназы і дэзамініраваных пептыдаў гліадзіну ў сываратцы крыві з дапамогай імунаферментнага аналізу) пры вырашальным значэнні апошніх.

Распрацавана схема даследавання сываратак крыві пацыентаў з аўтаімуннымі булёзнымі дэрматозамі для метаду непрамой рэакцыі імунафлюарэсцэнцыі.

Метадам біячыпіравання ўпершыню вызначана змяненне экспрэсіі 91 гена перыферычнымі монануклеарамі крыві ў пацыентаў з аканталітычнай пухырчаткай: у 56 генах назіралася павышэнне экспрэсіі, у 35 – паніжэнне. Найбольшае павышэнне экспрэсіі выяўлена ў генах Fc γ рэцэптара 1A, а таксама Fc фрагмента IgG-звязваючага бялку.

Галіна прымянення: дэрматавенералогія.

РЕЗЮМЕ

Колос Юлия Викторовна

Клинические, патоморфологические и иммунологические критерии дифференциальной диагностики аутоиммунных буллезных дерматозов

Ключевые слова: акантолитическая пузырчатка, буллезный пемфигоид, герпетиформный дерматоз Дюринга, дифференциальная диагностика, иммуноферментный анализ, непрямая реакция иммунофлюоресценции, биочипирование, экспрессия генов.

Цель исследования: разработка схемы дифференциальной диагностики заболеваний группы акантолитической пузырчатки, буллезного пемфигоида и герпетиформного дерматоза Дюринга.

Методы исследования: клинический осмотр, цитологическое и патоморфологическое исследование, непрямая реакция иммунофлюоресценции, иммуноферментный анализ, биочипирование.

Использованная аппаратура: световой микроскоп Leica, люминесцентный микроскоп Nikon ECLIPSE 50i, планшетный спектрофотометр BioTek ELx800, денситометр Nanodrop, сканер биочипов Innoscan.

Полученные результаты и их новизна. Впервые проведена оценка эпидемиологических характеристик аутоиммунных буллезных дерматозов в Республике Беларусь.

Разработана схема дифференциальной диагностики заболеваний группы акантолитической пузырчатки, буллезного пемфигоида и герпетиформного дерматоза Дюринга, основанная на совокупности клинико-anamnestических, цитологических, патоморфологических, иммунологических критериев (обнаружение специфических аутоантител к десмоглеину 1 и 3, энвоплакину, BP 180, BP 230, тканевой трансглутаминазе и дезаминированным пептидам глиадина в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа) при решающем значении последних.

Разработана схема исследования сывороток крови пациентов с аутоиммунными буллезными дерматозами для метода непрямой реакции иммунофлюоресценции.

Методом биочипирования впервые установлено изменение экспрессии 91 гена периферическими мононуклеарами крови у пациентов с акантолитической пузырчаткой: у 56 генов наблюдалось повышение экспрессии, у 35 – понижение. Наибольшее повышение экспрессии выявлено у генов Fc γ рецептора 1A, а также Fc фрагмента IgG-связывающего белка.

Область применения: дерматовенерология.

SUMMARY

Kolas Yuliya Victorovna

**The clinical, pathomorphological and immunological criteria
for the differential diagnosis of autoimmune bullous dermatoses**

Key words: acantholytic pemphigus, bullous pemphigoid, dermatitis herpetiformis, differential diagnosis, enzyme immunoassay, indirect immunofluorescence, microarray, gene expression.

Aim of the research: to create a scheme of differential diagnosis of acantholytic pemphigus, bullous pemphigoid and dermatitis herpetiformis.

Methods of the research: clinical examination, cytology and pathomorphology, indirect immunofluorescence, enzyme immunoassay, microarray.

Equipment: light microscope Leica, fluorescent microscope Nikon ECLIPSE 50i, spectrophotometer BioTek ELx800, densitometer Nanodrop, microarray scanner Innoscan.

Obtained results and their novelty. The epidemiological characteristics of autoimmune bullous dermatoses in the Republic of Belarus were investigated in this study.

The scheme of differential diagnosis of acantholytic pemphigus, bullous pemphigoid and dermatitis herpetiformis Duhring was created based on clinical, cytological, pathomorphological, immunological criteria (detection of specific autoantibodies against desmoglein 1 and 3, envoplakin, BP 180, BP 230, tissue transglutaminase and deaminated gliadin peptides in patients serum using enzyme immunoassay).

The scheme of analysis of results of indirect immunofluorescence for patients with autoimmune bullous dermatoses was created.

The changes were found in expression of 91 genes by peripheral blood mononuclear in patients with acantholytic pemphigus: 56 genes had increased expression, 35 – decreased. Overexpression of Fc γ receptor 1A (FCGR1A) gene as well as Fc fragment of IgG-binding protein (FCGBP) gene was observed.

Area of application: dermatovenereology.

Подписано в печать 26.10.15. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».

Ризография. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,36. Тираж 60 экз. Заказ 641.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.