

МЕТОД НЕПРЯМОЙ РЕАКЦИИ ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ: АЛГОРИТМ ИССЛЕДОВАНИЯ СЫВОРОТОК С АУТОИММУННЫМИ БУЛЛЕЗНЫМИ ДЕРМАТОЗАМИ

Колос Ю.В., Лукьянов А.М.

Белорусский государственный медицинский университет

Цель: разработать алгоритм исследования сывороток пациентов с аутоиммунными буллезными дерматозами (АБД) для метода непрямой реакции иммунофлуоресценции.

Материал и методы: на основании критериев включения и исключения были отобраны 56 пациентов с клиническим диагнозом АБД. Непрямую реакцию иммунофлуоресценции с сыворотками данных пациентов проводили с использованием коммерческих тест-систем компании Euroimmun (Германия), содержащих следующие субстраты: пищевод обезьяны, печень обезьяны, мочевой пузырь крыс. Иммуноферментный анализ с сыворотками пациентов также проводили с использованием коммерческих тест-систем компании Euroimmun, содержащих рекомбинантные антигены: десмоглеин 1, десмоглеин 3, энвоплакин, антиген ВР180, антиген ВР230, тканевую трансглутаминазу, дезаминированные пептиды глиаина. Для оценки эффективности нРИФ в диагностике АБД определяли чувствительность и специфичность метода, прогностическую значимость положительного и отрицательного результата теста, диагностическую эффективность теста. В качестве метода диагностического стандарта при расчете показателей использовали иммуноферментный анализ.

Результаты: По результатам нРИФ клинический диагноз вульгарной пузырчатки был подтвержден серологически в 78,1% случаев, вегетирующей и листовидной пузырчатки в 100%, буллезного пемфигоида в 80%, герпетиформного дерматоза Дюринга в 28,6% случаев соответственно. ИФА верифицировал клинический диагноз вульгарной пузырчатки в 81,3% случаев, вегетирующей и листовидной пузырчатки в 100%, буллезного пемфигоида в 80%, герпетиформного дерматоза Дюринга в 42,9% случаев соответственно. На основании результатов постановки нРИФ, а также ИФА были рассчитаны операционные характеристики нРИФ для акантолитической пузырчатки, буллезного пемфигоида, герпетиформного дерматоза Дюринга. Чувствительность нРИФ в случае акантолитической пузырчатки составила 96,8%, специфичность – 97,7%, диагностическая эффективность – 97,3%, в случае буллезного пемфигоида – 80%, 100% и 98,6%, герпетиформного дерматоза Дюринга – 66,7%, 98,5% и 95,9% соответственно.

На основании собственных данных, а также данных литературы был разработан алгоритм исследования сывороток пациентов с аутоиммунными

буллезными дерматозами для метода непрямой реакции иммунофлюоресценции и дана интерпретация возможных результатов нРИФ на различных субстратах.

Выводы: Разработан алгоритм исследования сывороток пациентов с аутоиммунными буллезными дерматозами для метода непрямой реакции иммунофлюоресценции.

Непрямая реакция иммунофлюоресценции обладает высокой диагностической эффективностью и наряду с иммуноферментным анализом может использоваться в практической медицине для серодиагностики аутоиммунных буллезных дерматозов.

Чувствительность нРИФ в случае акантолитической пузырчатки составляет 96,8%, специфичность – 97,7%, в случае буллезного пемфигоида – 80% и 100%, герпетиформного дерматоза Дюринга – 66,7% и 98,5% соответственно.

Ключевые слова: аутоиммунные буллезные дерматозы, непрямая реакция иммунофлюоресценции, чувствительность, специфичность, алгоритм.

Abstract: The objective of this study was to create an algorithm for indirect immunofluorescence (IIF) for the diagnosis of autoimmune bullous diseases (ABD).

56 patients with ABD were included in study. Blood serum of these patients were tested by IIF and ELISA (as diagnostic standard). Clinical diagnosis of pemphigus vulgaris was confirmed by IIF in 78,1% cases, by ELISA - in 81,3% cases, bullous pemphigoid – in 80% cases, dermatitis herpetiformis – in 28,6% and 42,9% cases respectively. The sensitivity of IIF for acantholytic pemphigus was 96,8%, specificity – 97,7%, for bullous pemphigoid - 80% and 100% respectively. The sensitivity of IIF for dermatitis herpetiformis was 66,7%, specificity - 98,5%.

On the basis of proprietary data, as well as literature data, the algorithm for indirect immunofluorescence (IIF) for the diagnosis of ABD was created and the interpretation of possible test results on various substrates was shown.

Иммунофлюоресценция как метод диагностики была внедрена в практику дерматолога в 60-е годы XX века и в значительной степени способствовала развитию представлений о патофизиологии многих заболеваний кожи, а также стала незаменимым инструментом для диагностики, особенно аутоиммунных буллезных дерматозов и болезней соединительной ткани [1-3].

Аутоиммунные буллезные дерматозы (АБД) – это гетерогенная группа заболеваний, характеризующихся выработкой аутоантител к определенным антигенным структурам кожи и клинически проявляющихся пузырьным синдромом на коже и/или слизистых оболочках [4-7, 9-14].

Для диагностики АБД используют:

- Прямую реакцию иммунофлюоресценции с криосрезом кожи пациента (пРИФ), выявляющую специфичные аутоантитела, фиксированные в коже (является «золотым стандартом» диагностики АБД);
- Непрямую реакцию иммунофлюоресценции (нРИФ), определяющую

специфичные аутоантитела, циркулирующие в сыворотке крови пациента [1-6, 8-19].

При проведении нРИФ приготовленный субстрат инкубируют с исследуемой сывороткой, затем обрабатывают люминесцирующей сывороткой против иммуноглобулинов человека и исследуют в люминесцентном микроскопе [20, 21].

В таблице 1 представлены возможные результаты нРИФ, а также предпочтительные субстраты при различных нозологических формах АБД [1-6, 8, 22-26].

Таблица 1.

Характеристика результатов непрямой реакции иммунофлюоресценции с сывороткой крови при различных формах аутоиммунных буллезных дерматозов			
Заболевание	Локализация и характер свечения (используемый субстрат)	Ауто-антитела	Основные антигены
Вульгарная пузырчатка с поражением слизистых оболочек	Межклеточные пространства эпителия, преимущественно супрабазальные слои (пищевод обезьяны)	IgG	Десмоглеин 3
Вульгарная пузырчатка с поражением кожи и слизистых оболочек	Межклеточные пространства эпителия (пищевод обезьяны)	IgG	Десмоглеин 1 Десмоглеин 3
Листовидная пузырчатка	Межклеточные пространства эпителия, преимущественно поверхностные слои (пищевод морской свинки / пищевод обезьяны)	IgG	Десмоглеин 1
Паранеопластическая пузырчатка	Межклеточные пространства эпителия (мочевой пузырь крысы) Межклеточные пространства эпителия + зона базальной мембраны (пищевод обезьяны)	IgG	Энвоплакин Периплакин Десмоглеин 3
IgA-пузырчатка	Межклеточные пространства эпителия (пищевод обезьяны)	IgA	Десмоколлин 1 Десмоглеин 1 Десмоглеин 3

Лекарственно-индуцированная пузырчатка	Межклеточные пространства эпителия (пищевод обезьяны)	IgG	Десмоглеин 3 Десмоглеин 1
Буллезный пемфигоид	Линейное вдоль базальной мембраны (пищевод обезьяны) С эпидермальной стороны пузыря (расщепленная в 1М растворе натрия хлорида кожа)	IgG	BP180 BP230
Рубцующий пемфигоид	Линейное вдоль базальной мембраны (пищевод обезьяны) С эпидермальной / дермальной стороны пузыря (расщепленная в 1М растворе натрия хлорида кожа)	IgG IgA	BP180 Ламинин 332
Герпетиформный дерматоз Дюринга	Нитевидное в интралобулярных синусах (печень обезьяны) «По типу пчелиных сот» в области мышечной пластинки (пищевод обезьяны)	IgA	Тканевая / эпидермаль-ная трансглутаминаза
Герпес беременных	Линейное вдоль базальной мембраны (пищевод обезьяны)	IgG	BP180 BP230
Приобретенный буллезный эпидермолиз	Линейное вдоль базальной мембраны (пищевод обезьяны) С дермальной стороны пузыря (расщепленная в 1М растворе натрия хлорида кожа)	IgG	Коллаген VII типа
Линейный IgA-буллезный дерматоз	Линейное вдоль базальной мембраны (пищевод обезьяны) С эпидермальной / дермальной стороны пузыря (расщепленная в 1М растворе натрия хлорида кожа)	IgA	LAD-1 BP230 Коллаген VII типа
Буллезная форма системной красной волчанки	Линейное вдоль базальной мембраны (пищевод обезьяны) С дермальной стороны пузыря (расщепленная в 1М растворе натрия хлорида кожа) Положительная нРИФ на антинуклеарные антитела (HEp-2)	IgG	Коллаген VII типа

Чувствительность нРИФ при использовании пищевода обезьяны в случае вульгарной пузырчатки составляет по данным разных авторов от 87 до 98%,

специфичность до 90% [27, 28]. Однако ложно положительные реакции возможны при ожогах, токсикоаллергических реакциях на пенициллин, синдроме Лайелла, системной красной волчанке, *miastenia gravis*, буллезном и рубцующем пемфигоиде, красном плоском лишае и у пациентов с антителами против антигенов II (А) и III (В) групп крови системы АВО [29, 30]. Антидесмоглеиновые антитела иногда обнаруживаются и при не буллезных заболеваниях, например, силикозе, а также у здоровых родственников пациентов с вульгарной пузырчаткой [31, 32].

Титры антител при проведении нРИФ в случае вульгарной пузырчатки достоверно коррелируют с активностью заболевания и могут быть использованы для контроля лечения [3, 4, 33].

Модификацией нРИФ является метод биочип-мозаик: субстратные слайды покрываются комбинированными субстратами и делятся на реакционные зоны. Преимущество использования одновременно большого числа субстратов заключается в экономии времени на проведение исследования, а также в возрастании точности результата анализа (Рисунок 1) [34].

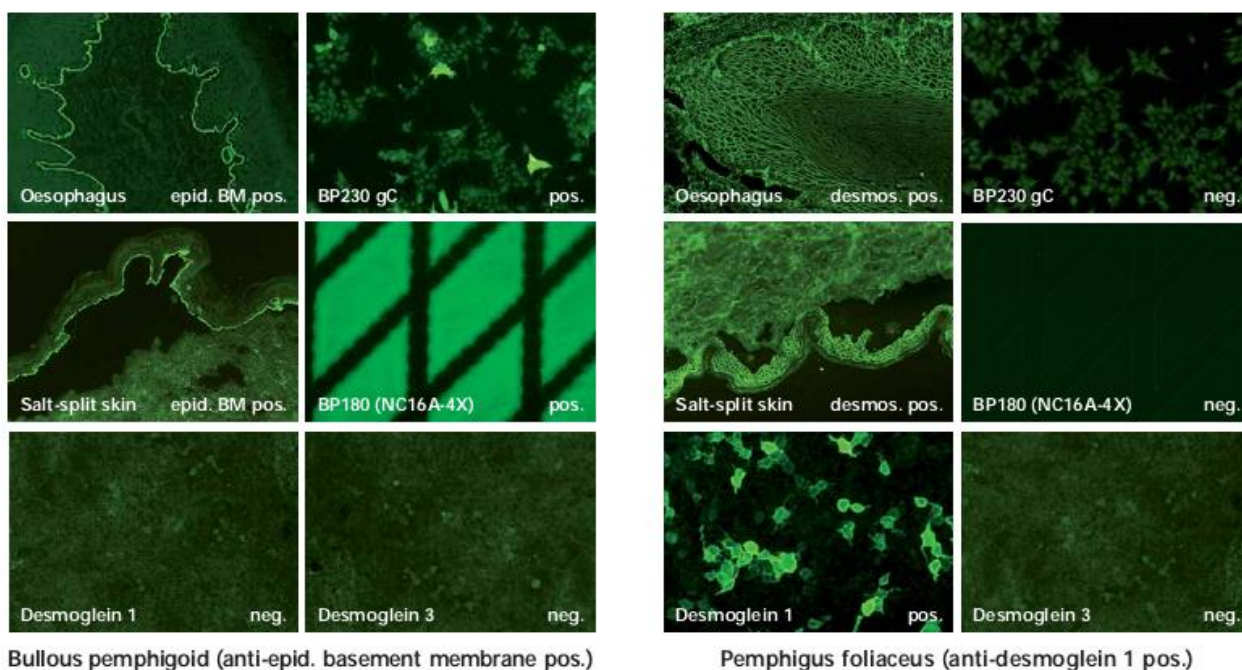


Рисунок 1. Субстраты биочип-мозаики Euroimmune (сверху вниз):

Пищевод обезьяны	Генномодифицированные линии клеток, экспрессирующие антиген BP 230
Расщепленная в 1-молярном солевом растворе NaCl кожа человека	Генномодифицированные линии клеток, экспрессирующие антиген BP 180
Генномодифицированные линии клеток, экспрессирующие антиген	Генномодифицированные линии клеток, экспрессирующие антиген

Новые методы серологической диагностики АД, такие как иммуноферментный анализ с рекомбинантными антигенами, иммуноблоттинг, иммунопреципитация, обладают большей чувствительностью и специфичностью, чем нРИФ, но последняя все еще широко используется в лабораториях мира [2].

В Республике Беларусь серодиагностика АД не применяется в практике.

Цель: разработать алгоритм исследования сывороток пациентов с аутоиммунными буллезными дерматозами для метода непрямой реакции иммунофлюоресценции.

Материал и методы: Дизайн исследования – поперечное исследование. На основании критериев включения и исключения (таблица 2) были отобраны 56 пациентов с аутоиммунными буллезными дерматозами: 39 (69,6%) женщин и 17 (30,4%) мужчин, средний возраст $58,9 \pm 15,7$ лет. Из них были сформированы 5 групп исследования:

- Пациенты с клиническим диагнозом L10.0 Вульгарная пузырчатка (n=32);
- Пациенты с клиническим диагнозом L10.1 Вегетирующая пузырчатка (n=3);
- Пациенты с клиническим диагнозом L10.2 Листовидная пузырчатка (n=2);
- Пациенты с клиническим диагнозом L12.0 Буллезный пемфигоид (n=5);
- Пациенты с клиническим диагнозом L 13.0 Герпетиформный дерматоз Дюринга (n=14).

Таблица 2.

Критерии включения/исключения пациентов из исследования	
Критерии включения	Критерии исключения
1. Клинический диагноз АД (по МКБ – 10): L 10.0, L 10.1, L 10.2, L 10.4, L 12.0, L 13.0 2. Выполненное цитологическое исследование содержимого пузырей и/или мазков-отпечатков со дна эрозий 3. Выполненное рутинное гистологическое исследование кожи патологического очага с окраской препарата гематоксилин-эозином (14 пациентов)	1. Наличие острой инфекционной патологии у пациента на момент исследования 2. Наличие у пациента психических расстройств.

4. Наличие подписанного пациентом информированного согласия на проведение исследования	
--	--

В контрольную группу включили здоровых доноров (n=15), а также пациентов с хронической доброкачественной семейной пузырчаткой Хейли-Хейли (n=3). Гендерное соотношение: 11 (61,1%) женщин, 7 (38,9%) мужчин. Средний возраст – 56,3±12лет.

Непрямую реакцию иммунофлюоресценции с сывороткой пациентов проводили с использованием коммерческих тест-систем компании Euroimmun (Германия):

- Euroimmun ИФ: Oesophagus monkey (выявляет аутоантитела (IgG) к антигенам межклеточных контактов и к антигенам базальной мембраны);
- Euroimmun ИФ: Rat Urinary Bladder (выявляет антиплакиновые аутоантитела (IgG));
- Euroimmun ИФ: Liver monkey (выявляет антиэндомизимальные аутоантитела (IgA)).

Иммуноферментный анализ с сывороткой пациентов также проводили с использованием коммерческих тест-систем компании Euroimmun (Германия), содержащих рекомбинантные антигены: десмоглеин 1, десмоглеин 3, энвоплакин, антиген ВР180, антиген ВР230, тканевую трансглутаминазу, дезаминированные пептиды глиадина.

Для оценки эффективности ИРИФ в диагностике АД определяли:

- Чувствительность метода (Ч) - доля лиц с положительным результатом теста среди лиц с заболеванием,
- Специфичность метода (С) - доля лиц с отрицательным результатом теста среди лиц без заболевания,
- Прогностическую значимость положительного результата теста (ПЗПР) – вероятность наличия заболевания при положительном результате теста,
- Прогностическую значимость отрицательного результата теста (ПЗОР) - вероятность отсутствия заболевания при отрицательном результате теста,
- Диагностическую эффективность (ДЭ) – доля истинных результатов среди всех результатов теста.

В качестве метода диагностического стандарта использовали иммуноферментный анализ, так как данный метод является высокочувствительным (до 100%) и специфичным (до 99,6%) и позволяет не только определить группу АД (интраэпидермальный либо субэпидермальный

дерматоз), но и верифицировать конкретную нозологическую форму АД на основании полученного молекулярного спектра аутоантител.

Результаты нРИФ и ИФА заносили в четырехпольную таблицу:

		Метод стандарта (ИФА)	
		Болен	Здоров
Исследуемый метод (нРИФ)	Болен (положительный результат теста)	a Совпадение заключений о наличии болезни (истинно положительный результат)	b Гипердиагностика (ложно положительный результат)
	Здоров (отрицательный результат теста)	c Гиподиагностика (ложно отрицательный результат)	d Совпадение заключений об отсутствии болезни (истинно отрицательный результат)

Расчет показателей проводили по формулам:

$$Ч = (a / a+c) * 100\%$$

$$С = (d / b+d) * 100\%$$

$$ПЗПР = (a / a+b) * 100\%$$

$$ПЗОР = (d / c+d) * 100\%$$

$$ДЭ = (a+d / a+b+c+d) * 100\%$$

Статистический анализ данных проводили с использованием программы STATISTICA 10.0. и Microsoft Excel 2010.

Результаты.

При постановке нРИФ на субстрате пищевод обезьяны были обнаружены аутоантитела (IgG) к компонентам десмосом (специфичное изумрудно-зеленое свечение в межклеточных пространствах эпителия - рисунок 2) в 78,1% сывороток пациентов с клиническим диагнозом L10.0 Вульгарная пузырчатка, в 100% сывороток пациентов с L10.1 Вегетирующая пузырчатка, в 100% сывороток пациентов с L 10.2 Листовидная пузырчатка (таблица 3), что серологически подтвердило диагноз акантолитической пузырчатки. Титры сывороток составили от 1:20 до 1:160.

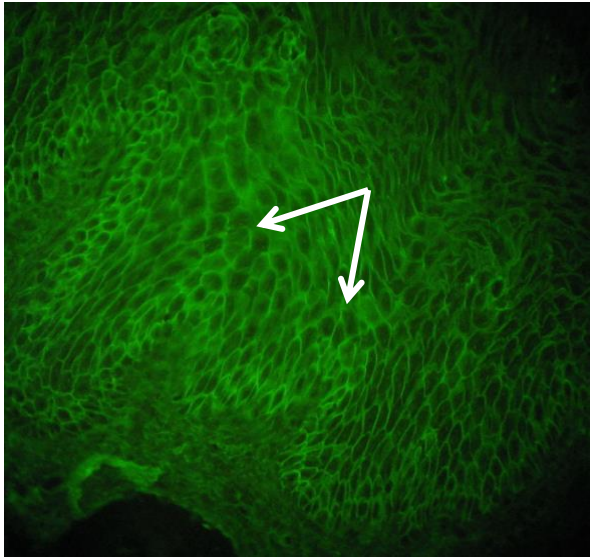


Рисунок 2. Депозиты IgG в межклеточных пространствах эпителия в случае акантолитической пузырчатки, субстрат – пищевод обезьяны.

В 80% сывороток пациентов с клиническим диагнозом L12.0 Буллезный пемфигоид на субстрате пищевод обезьяны были выявлены аутоантитела (IgG) к антигенам базальной мембраны (специфичное изумрудно-зеленое свечение вдоль базальной мембраны - рисунок 3), что серологически верифицировало данный диагноз (таблица 3). Титры сывороток составили от 1:20 до 1:80.

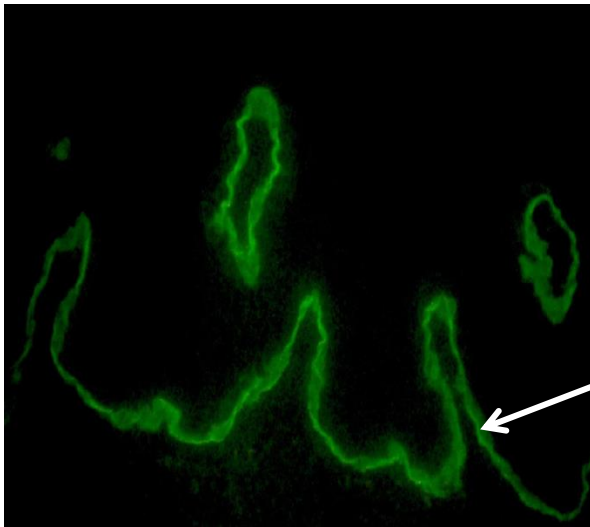


Рисунок 3. Депозиты IgG вдоль базальной мембраны в случае буллезного пемфигоида, субстрат – пищевод обезьяны.

В 28,6 % сывороток пациентов с клиническим диагнозом L13.0 Герпетиформный дерматоз Дюринга (ГДД) также были обнаружены аутоантитела (IgG) к антигенам базальной мембраны, что свидетельствовало в пользу диагноза буллезного пемфигоида, а не ГДД (таблица 3).

Таблица 3.

Результаты постановки нРИФ на субстрате пищевод обезьяны		
Группа пациентов	Депозиты Ig G в межклеточных пространствах эпителия, абс. (%) случаев	Депозиты Ig G вдоль базальной мембраны, абс. (%) случаев
L10.0 Вульгарная пузырчатка (n=32)	25 (78,1%)	0
L10.1 Вегетирующая пузырчатка (n=3)	3 (100%)	0
L 10.2 Листовидная пузырчатка (n=2)	2 (100%)	0
L12.0 Буллезный пемфигоид (n=5)	0	4 (80%)
L13.0 Герпетиформный дерматоз Дюринга (n=14)	0	4 (28,6%)
Контрольная группа (n=18)	0	0

Только в 28,6% сывороток пациентов с клиническим диагнозом герпетиформный дерматоз Дюринга были обнаружены аутоантитела (IgA) к эндомиозию в виде нитевидных отложений в интралобулярных синусах на субстрате печень обезьяны (рисунок 4), что серологически подтвердило данный диагноз (таблица 4). Титры сывороток составили от 1:20 до 1:40.

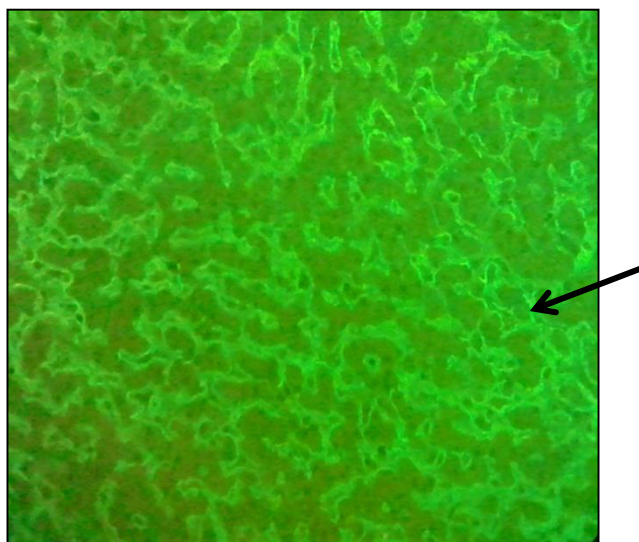


Рисунок 4. Нитевидные отложения IgA в интралобулярных синусах в случае герпетиформного дерматоза Дюринга, субстрат – печень обезьяны.

Таблица 4.

Результаты постановки нРИФ на субстрате печень обезьяны	
Группа пациентов	Нитевидные отложения IgA в

	интралобулярных синусах, абс. (%) случаев
L10.0 Вульгарная пузырчатка (n=32)	0
L10.1 Вегетирующая пузырчатка (n=3)	0
L 10.2 Листовидная пузырчатка (n=2)	0
L12.0 Буллезный пемфигоид (n=5)	0
L13.0 Герпетиформный дерматоз Дюринга (n=14)	4 (28,6%)
Контрольная группа (n=18)	0

В 12,5% исследуемых сывороток пациентов с АБД, в том числе в 15,6% случаев вульгарной пузырчатки, 14,3% случаев герпетиформного дерматоза Дюринга были выявлены антиплакиновые антитела (таблица 5), характерные для паранеопластической пузырчатки (специфичное изумрудно-зеленое свечение в межклеточных пространствах эпителия на субстрате мочевого пузыря крысы - рисунок 5).

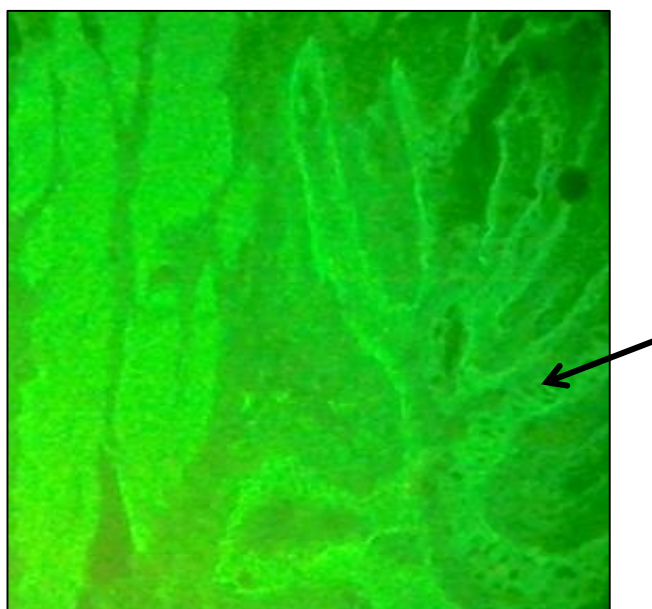


Рисунок 5. Депозиты IgG в межклеточных пространствах эпителия в случае паранеопластической пузырчатки, субстрат – мочевого пузыря крысы.

Таблица 5.

Результаты постановки нРИФ на субстрате мочевого пузыря крысы	
Группа пациентов	Депозиты Ig G в межклеточных пространствах эпителия, абс. (%) случаев
L10.0 Вульгарная пузырчатка (n=32)	5 (15,6%)

L10.1 Вегетирующая пузырчатка (n=3)	0
L 10.2 Листовидная пузырчатка (n=2)	0
L12.0 Буллезный пемфигоид (n=5)	0
L13.0 Герпетиформный дерматоз Дюринга (n=14)	2 (14,3%)
Контрольная группа (n=18)	0

В сыворотках пациентов контрольной группы специфичные аутоантитела выявлены не были.

На основании результатов постановки нРИФ на различных субстратах, а также ИФА с сыворотками пациентов (таблица 6) были рассчитаны операционные характеристики нРИФ для акантолитической пузырчатки, буллезного пемфигоида, герпетиформного дерматоза Дюринга (таблица 7).

Таблица 6.

Результаты постановки непрямо́й реакции иммунофлюоресценции и иммуноферментного анализа с сыворотками крови пациентов с аутоиммунными буллезными дерматозами				
Группа пациентов	нРИФ		ИФА	
	Диагноз подтвержден, абс. (%) случаев	Диагноз не подтвержден, абс. (%) случаев	Диагноз подтвержден, абс. (%) случаев	Диагноз не подтвержден, абс. (%) случаев
L10.0 Вульгарная пузырчатка (n=32)	25 (78,1%)	7(21,9%)	26(81,3%)	6(18,7%)
L10.1 Вегетирующая пузырчатка (n=3)	3 (100%)	0	3(100%)	0
L 10.2 Листовидная пузырчатка (n=2)	2 (100%)	0	2(100%)	0
L12.0 Буллезный пемфигоид (n=5)	4 (80%)	1(20%)	4(80%)	1(20%)
L13.0 Герпетиформный дерматоз Дюринга (n=14)	4 (28,6%)	10 (71,4%)	6(42,9%)	8(57,1%)
Контрольная группа (n=18)	Специфичные аутоантитела не выявлены			

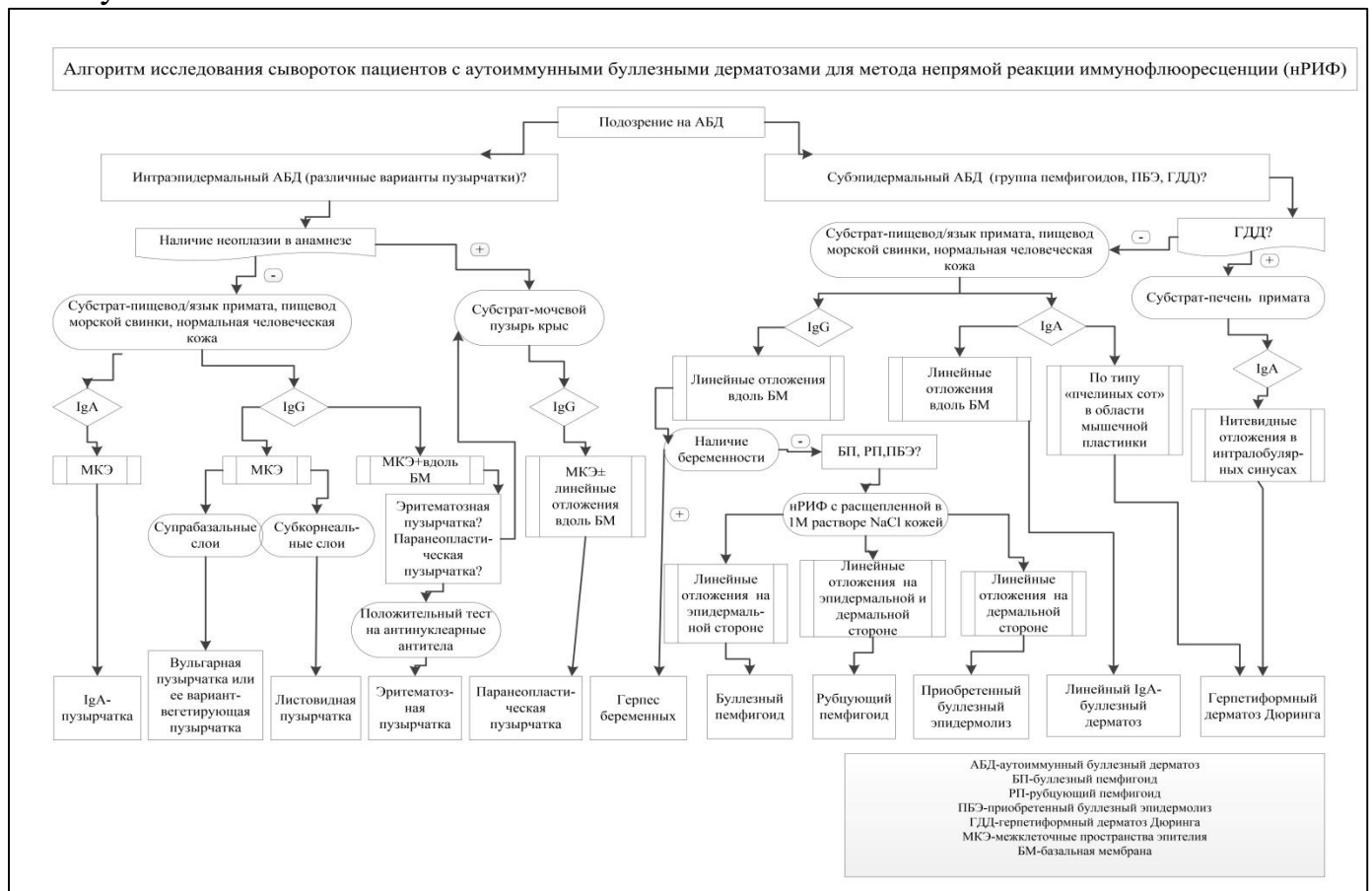
Таблица 7.

Операционные характеристики непрямо́й реакции иммунофлюоресценции для различных форм аутоиммунных буллезных дерматозов
--

Нозология	Чувствительность	Специфичность	Прогностическая значимость положительного результата теста	Прогностическая значимость отрицательного результата теста	Диагностическая эффективность
Акантолитическая пузырчатка	96,8%	97,7%	96,8%	97,7%	97,3%
Буллезный пемфигоид	80%	100%	100%	98,6%	98,6%
Герпетиформный дерматоз Дюринга	66,7%	98,5%	80%	97,1%	95,9%

На основании собственных данных, а также данных литературы был разработан алгоритм исследования сывороток пациентов с аутоиммунными буллезными дерматозами для метода непрямой реакции иммунофлюоресценции (рисунк 6).

Рисунок 6.



Данный алгоритм включает следующие этапы:

- Выбор субстрата, содержащего целевые антигены в зависимости от

предполагаемой нозологической формы АД (при диагностике АД обычно используют пищевод / язык примата, пищевод морской свинки, печень примата, нормальную человеческую кожу, мочевой пузырь крыс);

- Определение класса иммуноглобулинов специфичных аутоантител (чаще IgG, IgA);

- Определение локализации свечения в определенных зонах используемого субстрата (межклеточные пространства эпителия, вдоль базальной мембраны или их сочетание, в интралобулярных синусах или другие варианты);

- Оценку характера свечения (линейное, гранулярное, нитевидное или другие типы).

Так, при подозрении на наличие у пациента одной из форм пузырчатки (группа интраэпидермальных аутоиммунных дерматозов) после оценки клинично-anamnestических данных в качестве предпочтительного субстрата для проведения нРИФ необходимо использовать пищевод примата (более специфичен для выявления антител к ДСГ3) и пищевод морской свинки (более специфичен для выявления антител к ДСГ1). Также возможно использование языка примата, нормальной человеческой кожи [1, 2, 4-6, 8, 19, 23-27].

Интерпретацию результатов нРИФ следует проводить следующим образом:

- IgA в межклеточных пространствах эпителия свидетельствуют в пользу IgA-пузырчатки;

- IgG в межклеточных пространствах эпителия, особенно в субкорнеальных слоях – в пользу листовидной пузырчатки;

- IgG в межклеточных пространствах эпителия в супрабазальных слоях или по всей толще эпителия – в пользу вульгарной пузырчатки или при наличии соответствующей клиники в пользу вегетирующей пузырчатки;

- IgG в межклеточных пространствах эпителия и в зоне базальной мембраны характерны для эритематозной пузырчатки и паранеопластической пузырчатки, при этом выявление антиядерных антител (на субстрате Нер - 2) свидетельствует в пользу эритематозной пузырчатки [1-2, 8-12, 23-26].

При наличии в анамнезе пациента неоплазии, а также при подозрении на паранеопластическую пузырчатку нРИФ лучше проводить с субстратом - мочевой пузырь крыс (выявляет антиплакиновые антитела). Выявление IgG в межклеточных пространствах эпителия, а также в зоне базальной мембраны на данном субстрате подтверждает диагноз [1, 2, 26].

При подозрении на наличие у пациента субэпидермального буллезного дерматоза в качестве предпочтительного субстрата для проведения нРИФ необходимо использовать пищевод примата. Также возможно использование пищевода морской свинки, нормальной человеческой кожи [1, 2, 8, 13, 23, 24, 30].

Интерпретацию результатов нРИФ следует проводить следующим образом:

- Линейные отложения IgA вдоль базальной мембраны свидетельствуют пользу линейного IgA-буллезного дерматоза;
- IgA по типу «пчелиных сот» в области мышечной пластинки – в пользу герпетиформного дерматоза Дюринга;
- Линейные отложения IgG вдоль базальной мембраны – в пользу буллезного, рубцующего пемфигоида, герпеса беременных, приобретенного буллезного эпидермолиза. Дифференциальная диагностика между этими формами может быть проведена с учетом данных анамнеза (наличие беременности, особенно 2-3 триместр и соответствующая клиническая картина свидетельствует в пользу герпеса беременных) и результатов нРИФ с расщепленной в 1-молярном растворе натрия хлорида кожей. При этом локализация свечения (IgG) с дермальной стороны искусственного пузыря свидетельствует в пользу приобретенного буллезного эпидермолиза, с эпидермальной стороны – в пользу буллезного пемфигоида, в случае рубцующего пемфигоида отложение IgG возможно как с дермальной, так и с эпидермальной стороны [1, 2, 4-6, 8, 13, 22-24, 30, 36].

Необходимо отметить, что при подозрении на герпетиформный дерматоз Дюринга наиболее чувствительным субстратом для проведения нРИФ является печень обезьяны. Нитевидные отложения IgA в интралобулярных синусах свидетельствует в пользу данного диагноза. Также для диагностики ГДД возможно использование кишечника/желудка примата. Свечение в области собственной пластинки слизистой и мышечной пластинки наподобие пчелиных сот характерно для ГДД [36].

Выводы:

1. Разработан алгоритм исследования сывороток пациентов с аутоиммунными буллезными дерматозами для метода непрямой реакции иммунофлюоресценции.

2. Непрямая реакция иммунофлюоресценции обладает высокой диагностической эффективностью и наряду с иммуноферментным анализом может использоваться в практической медицине для серодиагностики аутоиммунных буллезных дерматозов.

3. Чувствительность нРИФ в случае акантолитической пузырчатки составляет 96,8%, специфичность – 97,7%, в случае буллезного пемфигоида – 80% и 100%, герпетиформного дерматоза Дюринга – 66,7% и 98,5% соответственно.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Mutasim D. Immunofluorescence in dermatology / D. Mutasim [et al.] // J. Am. Acad. Dermatol. 2001. № 12. P.803-822.
2. Rani, Z. Immunofluorescence in immunobullous diseases / Z. Rani [et al.] // J. of Pakistan Association of Dermatol. 2003. № 13. P. 76-88.
3. Diagnostic significance of immunofluorescent tests in dermatology [Electronic resource] / 2013. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20491380>
4. Bologna Dermatology 2 volume set / J. L. Bologna [et al.]; editors: J. L. Bologna, J. L. Jorizzo, R. P. Rapini. 2nd ed. Elsevier Limited, 2008. 2500p.
5. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine 2 volume set. / K. Wolff [et al.]; editors: K. Wolff [et al.]. 7th ed. NY: McGraw-Hill Professional, 2007. 2402p.
6. Rook's Textbook of Dermatology (2010) / T. Burns [et al.]. editors: T. Burns, S. Breathnach, N. Cox, C. Griffiths. 8nd ed. UK: WILEY-BLACKWELL, 2010. 4362p.
7. Kneisei, A. Autoimmune bullous skin diseases. Part 1: Clinical manifestations / A. Kneisei [et al.] // JDDG. 2011. № 9. P. 844-857.
8. Kneisei, A. Autoimmune bullous skin diseases. Part 2: diagnosis and therapy / A. Kneisei [et al.] // JDDG. 2011. № 9. P. 927-947.
9. Autoimmune Diseases of the Skin. Pathogenesis, Diagnosis, Management/ M. Hertl. 3rd ed. Springer, 2011. 469p.
10. Hertl M. Pemphigus vulgaris / M. Hertl [et al.] // CME Dermatol. 2009. № 4. P. 94-115.
11. Emedicine Dermatology: Pemphigus vulgaris [Electronic resource] / 2013. – Mode of access: <http://emedicine.medscape.com/article/1064187-overview>
12. Emedicine Dermatology: Pemphigus erythematosus [Electronic resource] / 2013. – Mode of access: <http://emedicine.medscape.com/article/1063881-overview>
13. Emedicine Dermatology: Bullous Pemphigoid [Electronic resource] / 2013. – Mode of access: <http://emedicine.medscape.com/article/1062391-overview>
14. Emedicine Dermatology: Dermatitis Herpetiformis [Electronic resource] / 2012. - Mode of access: <http://emedicine.medscape.com/article/1062640-overview>
15. Burge S.M. An immunohistological study of desmosomal components in pemphigus / S.M Burge [et al.] // Br. J. Dermatol. 1993. Vol. 128, P.363–370.
16. Direct immunofluorescence in cutaneous vesiculobullous lesions [Electronic resource] / 2012. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18306538>.
17. Role of direct immunofluorescence on Tzanck smears in pemphigus vulgaris. [Electronic resource] / 2013. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17580352>
18. Jukić IL. Significance of immunofluorescence in the diagnosis of autoimmune bullous dermatoses / IL. Jukić [et al.] // Clin Dermatol. 2011. № 29(4), P. 389-97.
19. Guidelines for the Management of Pemphigus Vulgaris: Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, and Baseline Investigations [Electronic resource] / 2013. – Mode of access: <http://www.medscape.com/viewarticle/465485>

20. Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods / Richard A. McPherson, Matthew R. Pincus. 21st ed. Saunders, 2006. 1472 p.
21. Essential Clinical Immunology/ J.B. Zabriskie. UK: Cambridge University Press, 2009. 373p.
22. Sidonia Mihai. Immunopatology and molecular diagnosis of autoimmune bullous diseases / Mihai Sidonia [et al.] // J. Cell. Mol. Med. 2007. № 3. Vol. 11, P. 462-481.
23. Schmidt E. Modern diagnosis of autoimmune blistering skin diseases / E. Schmidt [et. al.] // Autoimmun. Rev. 2010. №10, P. 84-89.
24. Tsuruta D. Molecular diagnosis of autoimmune blistering diseases / D.Tsuruta [et. al.] // Methods Mol Biol. Methods Mol. Biol. 2013 № 961. P. 17-32.
25. Gately LE 3rd Update on immunofluorescent testing in bullous diseases and lupus erythematosus / LE Gately 3rd[et. al.] // Dermatol Clin. 1994. №12 (1). P. 133-142.
26. Allen CM. Paraneoplastic pemphigus: a review of the literature / CM Allen [et. al.] // Oral Diseases. 2000. № 6, P. 208–214.
27. The use of two substrates to improve the sensitivity of indirect immunofluorescence in the diagnosis of pemphigus [Electronic resource] / 2013. – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10848736>
28. Jiao D. Sensitivity of indirect immunofluorescence, substrate specificity, and immunoblotting in the diagnosis of pemphigus / D. Jiao [et. al.] // J Am Acad Dermatol. 1997. №37. P. 211-216.
29. Pemphigus [Electronic resource]. 2013. - Mode of access: <http://www.arupconsult.com/Topics/Pemphigus.html>
30. Lever's Histopathology of Skin Diseases / David E. Elder [et al.]; editors: David E. Elder [et al.]. 9th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2004. 1219p.
31. Ueki H. Antidesmoglein autoantibodies in silicosis patients with no bullous diseases / H. Ueki [et al.] // Dermatology. 2001. №202. P.16-21.
32. Brandsen R. Circulating pemphigus IgG in families of patients with pemphigus: comparison of indirect immunofluorescence, direct immunofluorescence, and immunoblotting / R. Brandsen [et al.] // J. Am. Acad. Dermatol. 1997. №36. P. 44-52.
33. Mortazavi H. Correlation of pemphigus vulgaris antibody titers by indirect immunofluorescence with activity of disease based on pemphigus area and activity score (PAAS) / H. Mortazavi [et al.] // Acta Medica Iranica, 2008. №3. P. 239-244
34. Nina van Beck. Serological diagnosis of autoimmune bullous skin diseases: prospective comprasion of the BIOCHIP mosaic-based indirect immunofluorescence technique with the conventional multi-step single test strategy / Nina van Beck [et al.] // Orphanet J Rare Dis. 2012. № 9, 71- 79.
35. Antinuclear Antibody [Electronic resource] / 2013. – Mode of access: <http://emedicine.medscape.com/article/2086616-overview#showall>
36. Liver (Monkey) Instructions for the indirect immunofluorescence test [Electronic resource] / 2013. – Mode of access: <http://www.euroimmun.de>