Метод меченых антител как «золотой стандарт» диагностики аутоиммунных буллезных дерматозов

Н.В. МАХНЕВА[1], Е.Б. ДАВИДЕНКО[1,2], Л.В. БЕЛЕЦКАЯ[3]

[1]Московский научно-практический центр дерматовенерологии и косметологии Департамента здравоохранения; [2]Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского; [3]ФГУ «Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. акад. В.И. Шумакова», Москва

A labeled antibody method as the «gold standard» diagnosis of autoimmune bullous dermatitides

N.V. MAKHNEVA, E.B. DAVIDENKO, L.V. BELETSKAYA

Moscow Research and Practical Center for Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow Healthcare Department; M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute; Academician V.I. Shumakov Federal Research Center of Transplantology and Artificial Organs

Описаны основные принципы использования метода меченых антител, в частности иммунофлюоресценции, в диагностике аутоиммунных буллезных дерматозов. Включение иммунофлюоресценции в арсенал методов исследования врача-дерматовенеролога позволяет с учетом данных клинических и иммунологических исследований поставить точный диагноз буллезного дерматоза аутоиммунного происхождения. Помимо этого, метод предоставляет возможность провести дифференциальную диагностику среди отдельных форм определенного заболевания или группы заболеваний. Не менее важными являются обнаружение и учет «дополнительных» антител или иммунных комплексов, участие которых в роли патогенетических факторов может изменить и усложнить картину течения болезни. Правильно и своевременно установленный диагноз способствует назначению адекватных схем лечения и уменьшению риска развития осложнений.

Ключевые слова: лабораторная диагностика, метод меченых антител, иммунофлюоресценция, фиксированные иммунные комплексы, циркулирующие аутоантитела, аутоиммунные буллезные дерматозы.

The paper describes the basic principles of the use of a labeled antibody method, immunofluorescence in particular, to diagnose autoimmune bullous dermatoses. Incorporation of immunofluorescence into the range of studies allows a dermatovenereologist to make an accurate diagnosis of autoimmune bullous dermatoses, by taking into account clinical and immunological findings. Besides, the method makes it possible to establish a differential diagnosis between some forms of a particular disease or a group of diseases. It is equally important to detect and consider additional autoantibodies or immune complexes, the implication of which for the role of pathogenetic factors can modify and complicate the pattern of the disease. A correct and timely diagnosis assists in using adequate treatment regimens and reducing the risk of complications.

Key words: laboratory diagnosis, labeled antibody method, immunofluorescence, fixed immune complexes, circulating autoantibodies, autoimmune bullous dermatitides.

Аутоиммунные буллезные дерматозы — гетерогенная группа хронических органоспецифических аутоиммунных заболеваний кожи и слизистых оболочек с общим патогенетическим механизмом — вовлечением в патологический процесс аутоантител, взаимодействующих со специфическими молекулами адгезии десмосом эпидермиса, базальной мембраны и дермо-эпидермального соединения [1—3]. Несмотря на достигнутые успехи в изучении патогенеза этих дерматозов на уровне молекулярно-биологических исследований проблема остается одной из важных в дерматологии. Это связано с клиническим сходством и/или атипичными проявлениями буллезных дерматозов, особенно на ранних этапах их развития, с сомнительными результатами симптома Никольского, не позволяющими врачу у постели больного с уверенностью поставить клинический диагноз. Установление точного диагноза с целью дифференциальной диагностики, подбора адекватных методов терапии (разные формы патологии требуют разные схемы лечения) и выбора тактики ведения пациента является одной из серьезных задач в клинике буллезных дерматозов.

Данные по дополнительному применению к клиническому обследованию некоторых лабораторных методов свидетельствуют о том, что во многих случаях они способствуют уточнению диагноза [4, 5]. Так, более полувека назад иммунофлюоресценция как метод меченых антител, «ворвавшись» в медицину, совершила технологическую революцию в изучении патогенеза и разработке новых методов диагностики ряда заболеваний аутоиммунного про-

[1]e-mail: makhneva@mail.ru
[2]e-mail: moniki@monikiweb.ru
[3]e-mail: annak2003@bk.ru

© Коллектив авторов, 2013

исхождения, таких как истинная пузырчатка, буллезный пемфигоид, герпетиформный дерматит Дюринга, приобретенный буллезный эпидермолиз и линейный IgA-зависимый буллезный дерматоз [6].

Несмотря на свой «возраст» метод меченых антител (прямой и непрямой методы иммунофлюоресценции) во всем мире считается одним из «золотых стандартов» и единственным иммунопатологическим инструментом в диагностике буллезных дерматозов, с помощью которых удается выявить фиксированные иммунные комплексы (иммуноглобулины и компоненты комплемента) в тканях больного и наличие в сыворотке циркулирующих аутоантител, направленных к антигенам тканей кожи [7].

Основные принципы использования метода меченых антител

Суть метода меченых антител, в частности иммунофлюоресценции, заключается в использовании люминесцентного варианта реакции антиген—антитело, происходящей при соединении антигенов с соответствующими специфическими антителами, меченными флюоресцирующими красителями. Метод используется в двух модификациях — прямой и непрямой. Иммунологическая реакция антиген—антитело происходит непосредственно на предметном стекле [6, 8].

Прямой метод иммунофлюоресценции. Прямой метод иммунофлюоресценции используют для выявления фиксированных антител (иммуноглобулинов) и полных иммунных комплексов (иммуноглобулины, компоненты комплемента). Для этого исследуют биопсию с клинически интактного участка кожи. Под местной анестезией 2,0% раствором новокаина или лидокаина проводится биопсия кожи размером 0,3—0,5×0,5 см. Для постановки точного диагноза и исключения неверных интерпретаций артефактных результатов исследования (ложноположительных и ложноотрицательных) биопсийный материал получают строго с интактного участка кожи больного.

Образец ткани помещают в чистый пенициллиновый флакон, на дне которого находится ватка, смоченная физиологическим раствором или водой для инъекций. Излишки физиологического раствора необходимо удалить из флакона для создания в нем условий, приближенных к физиологическим. Затем резиновую крышку флакона прокалывают иглой для подкожных инъекций, на кончик которой «монтируют» кусочек исследуемой ткани. Поскольку белковые структуры ткани имеют тенденцию к разрушению, транспортировка должна осуществляться немедленно. При отсутствии возможности отправить биопсийный материал немедленно, его необходимо поместить в холодильник (4 °С) и транспортировать в течение 1 сут.

Ткань биоптата замораживают при низкой температуре (–20 °С (–60 °С) и заливают гелем Tissue-Tek. Серийные срезы из замороженной нефиксированной ткани толщиной 5 мкм готовят в криостате (–20 °С), помещают на предметное стекло, подсушивают в течение 30 мин при комнатной температуре. Затем срезы промывают в фосфатном буфере (PBS) pH 7,0—7,4 в течение 5 мин для удаления не связанных с тканями растворимых белков и обрабатывают люминесцирующей сывороткой (метка изотиоцианатом флюоресцеина) против Ig основных классов (G, A, M), C3-компонента комплемента и фибрина во влажной камере при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем вновь промывают PBS в течение 5 мин и заключают под покровное стекло в 60% нейтральный глицерин. Для предохранения срезов от выгорания в люминесцентном микроскопе в глицерин добавляют парафенилендиамин. Для морфологического контроля одновременно проводят изучение криостатных срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, в световом микроскопе [6, 8].

Непрямой метод иммунофлюоресценции. Для исследования циркулирующих антител в сыворотке у пациента берут кровь из кубитальной вены объемом 3,0—5,0 мл в чистую сухую пробирку без реагентов в любое время суток и независимо от приема пищи. Полученный материал транспортируют в лабораторию немедленно или хранят не более 1 сут в холодильнике (4 °С) с последующей транспортировкой.

Поскольку аутоантитела при аутоиммунных буллезных дерматозах направлены к тканеспецифическим антигенам, имеющимся в органах большинства видов животных класса млекопитающих, с целью их выявления используют разные субстраты из тканей кожи и других органов человека, а также и ряда видов животных (крыс, мышей, кроликов, обезьян, телят). По нашим данным, наиболее чувствительным субстратом является пищевод кролика, кожа кролика, крысы и теленка, слизистая оболочка полости рта крысы, наименее — нормальная кожа человека и обезьяны, пищевод обезьяны, а нечувствительным — слизистая оболочка полости рта и влагалище обезьяны [6, 8].

Криостатные нефиксированные срезы толщиной 4—5 мкм тщательно промывают в PBS (pH 7,0—7,4) в течение 5 мин, затем их сначала обрабатывают исследуемой (промежуточной) немеченой сывороткой больного. Эту сыворотку применяют в максимально большом числе разведений, учитывая в дальнейшем при оценке результатов самое большое разведение, которое дает четкую положительную реакцию. Обработку срезов проводят во влажной камере при комнатной температуре в течение 45—60 мин. Далее срезы промывают в течение 5 мин PBS (pH 7,0—7,4), обрабатывают меченой сывороткой против класса IgG и/или IgA человека в течение 30 мин, вновь промывают 5 мин PBS и заключают под покровное стекло в 60% нейтральный глицерин. Препараты исследуют под люминесцентным микроскопом. Одновременно

ставят положительный и отрицательный контроли. В качестве отрицательного контроля используют нормальную сыворотку (здорового человека или животного) в тех же разведениях. Период инкубации на срезе равен времени инкубации испытуемой сыворотки, содержавшей антитела. В качестве положительного контроля используют сыворотку больного, содержащую антитела к изучаемому антигену и хранящуюся в замороженном виде [6].

Результаты

Как уже отмечалось, аутоиммунные буллезные дерматозы – это гетерогенная группа хронических органоспецифических аутоиммунных заболеваний кожи и слизистых оболочек. Каждое заболевание из этой группы (аутоиммунная пузырчатка, буллезный пемфигоид, герпетиформный дерматит Дюринга, приобретенный буллезный эпидермолиз, линейный IgA-зависимый буллезный дерматоз) имеет специфическую иммунопатологическую картину, которая позволяет с точностью дифференцировать заболевания друг от друга [1].

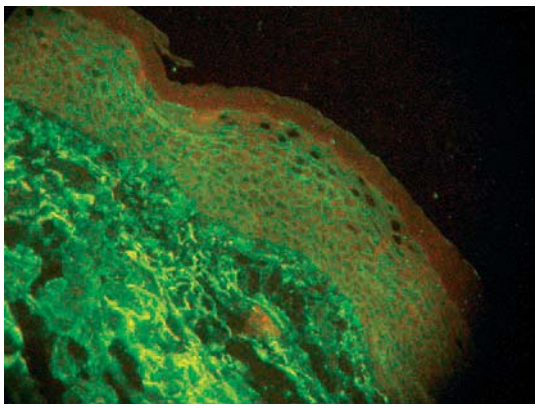
Аутоиммунная пузырчатка

Аутоиммунная пузырчатка — одно из самых ярких образцов аутоиммунного заболевания. Аутоантитела служат причиной нарушения связей между отдельными клетками эпидермиса, развития акантолиза и образования внутриэпидермальных пузырей [8, 9].

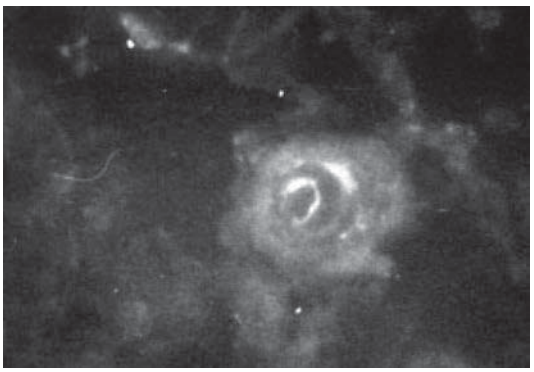
Аутоантитела характеризуются высокой тканевой специфичностью и реагируют только с антигенами межклеточной субстанции (белков десмосомального аппарата, молекул адгезии) многослойного плоского эпителия (кожа, слизистая оболочка полости рта, пищевода и других органов) и относятся к IgG **(рис. 1, а)**. Антитела не реагируют с антигенами тканей других органов, кроме антигенов межклеточной субстанции эпителия телец Гассаля тимуса человека и животных **(см. рис. 1, б)** [10].

При пузырчатке паранеопластического генеза наряду с антителами к межклеточной субстанции многослойного плоского эпителия и тельцам Гассаля выявляются «дополнительные» антитела, которые специфичны для антигенов многих видов тканей. Это антитела к антигенам миоидных клетока тимуса, изотропных дисков мускулатуры, гладкой мускулатуры капилляров миокарда, соединительнотканной структуры печени и ядер ее клеточных элементов [11].

Связанные с тканями Ig и иммунные комплексы, определяемые прямым методом иммунофлюоресценции, удается выявить в эпидермисе, как в период обострения, так и во время ремиссии при отсутствии высыпаний на коже и/или слизистых оболочках. При этом в случаях вульгарной и вегетирующей пузырчатки фиксированный Ig локализуется в межклеточных пространствах преимущественно базального и шиповатого слоев эпидермиса **(рис. 2, а)**, при листовидной и себорейной пузырчатке — в межклеточной субстанции шиповатого и преимущественно зернистого слоев эпидермиса **(см. рис. 2, б)**, при паранеопластической пузырчатке фиксируется в межклеточной субстанции всех слоев эпидермиса [10].



а

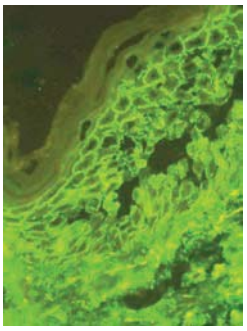


б

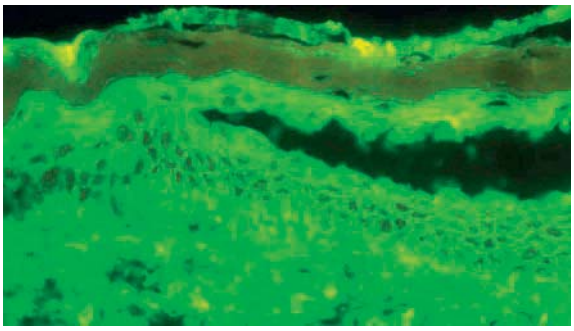
Рис. 1. **Определение циркулирующих аутоантител в сыворотке крови больных аутоиммунной пузырчаткой. Непрямой метод иммунофлюоресценции (×400).**

а, б — обработка сывороткой больной вульгарной пузырчаткой. Реакция в межклеточной субстанции всех слоев эпидермиса (а) и телец Гассаля (б): а — срез кожи практически здорового человека; б — срез тимуса ребенка.

Однако в ряде случаев, несмотря на наличие клинических проявлений заболевания, в тканях не удается выявить связанный Ig в характерной локализации. Это можно объяснить тем, что иммунные комплексы, формирующиеся в условиях избытка антигена или антител, способны растворяться в водной среде **(рис. 3, а)**. В связи с этим был предложен *модифицированный прямой метод иммунофлюоресценции* (патент №209768, 27.11.97), при котором срезы обрабатывают водными смесями органических растворителей (этанола или диоксана) в концентрации 40—50% в течение 1—3 мин. При использовании водной смеси этанола или диоксана установлено,



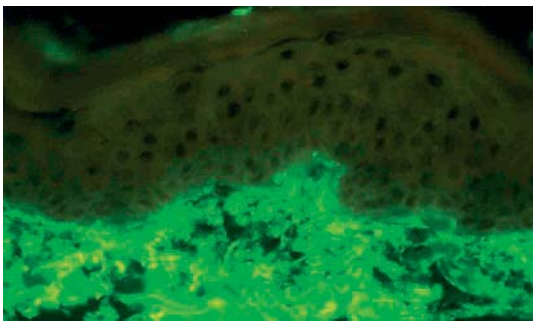
а



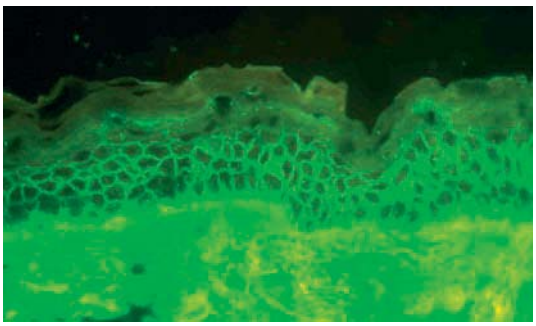
б

Рис. 2. **Криостатные срезы кожи больных аутоиммунной пузырчаткой. Участки клинически непораженной кожи. Обработка меченой сывороткой против IgG. Прямой метод иммунофлюоресценции (×400).**

а — срез кожи больной вульгарной пузырчаткой. Разрыв связи между клетками базального и шиповатого слоев. Реакция в межклеточной субстанции базального и шиповатого слоев; б — срез кожи больного себорейной пузырчаткой. Разрыв связей клеток между шиповатым и зернистым слоем. Реакция в межклеточной субстанции всех слоев эпидермиса с секвестрацией материала на поверхность кожи. Наиболее выраженная реакция в зернистом слое эпидермиса.



а



б

Рис. 3. **Криостатные срезы кожи больных вульгарной пузырчаткой. Участки клинически непораженной кожи. Обработка меченой сывороткой против IgG. Прямой метод иммунофлюоресценции (×400).**

а — классический прямой метод иммунофлюоресценции: фиксированный IgG в межклеточной субстанции эпидермиса не выявляется; б — модифицированный прямой метод иммунофлюоресценции: растворимые иммунные комплексы в межклеточной субстанции эпидермиса, выявленные после обработки срезов 40% этанолом.

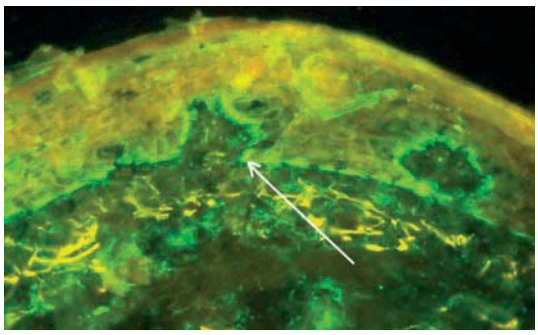
что такое мягко денатурирующее средство, как 40—60% водная смесь органических растворителей, стабилизирует связь между антителом и тканевым антигеном, препятствуя вымыванию антител из срезов. Это приводит к выявлению реакции в межклеточных пространствах в 100% случаев аутоиммунной пузырчатки **(см. рис. 3, б)** [5, 6].

Буллезный пемфигоид

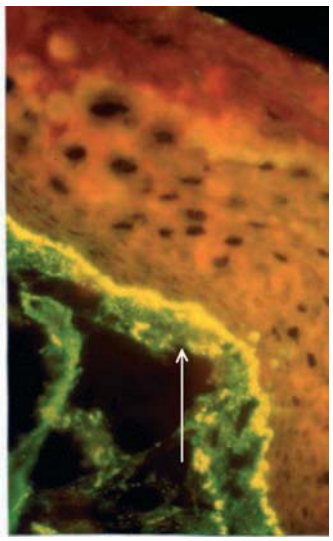
Буллезный пемфигоид представляется наиболее частым буллезным дерматозом, аутоиммунное происхождение которого не вызывает сомнения. Об этом свидетельствуют наличие циркулирующих аутоантител, направленных против собственных антигенов, тканевое повреждение в месте фиксации иммунных комплексов, трансплацентарная передача аутоантител от матери, страдающей буллезным пемфигоидом, к новорожденному и наличие особых генетических участков, ответственных за развитие этой патологии [12].

Аутоантитела являются одной из причин разрушения базальной мембраны эпидермиса с последующим образованием подэпидермального пузыря [13]. Аутоантитела, циркулирующие в крови больных буллезным пемфигоидом, реагируют с компонентами базальной мембраны эпидермиса кожи человека и животных. Непрямым методом иммунофлюоресценции в сыворотке крови больных буллезным пемфигоидом обнаруживают IgG-аутоантитела к антигенам базальной мембраны эпидермиса **(рис. 4, а)**, а при отслоении эпидермиса от дермы — к антигенам эпидермальной части пузыря **(см. рис. 4, б)**. Титр антител составляет разведения от 1:10 до 1:128. Корреляции между выявленным титром специфически реагирующих с антигенами базальной мембраной антител и интенсивностью клинических проявлений заболевания не обнаружено [14].

Для выявления фиксированных иммунных комплексов в тканях используется прямой метод иммунофлюоресценции. В криостатных срезах клинически интактных участков кожи больных буллезным



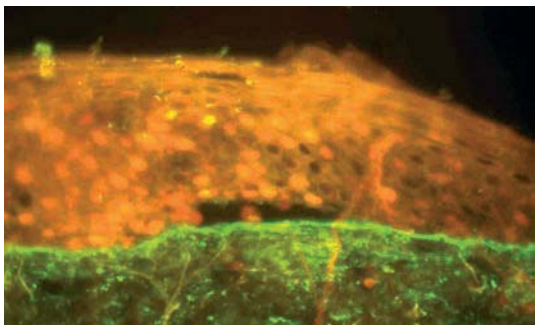
а



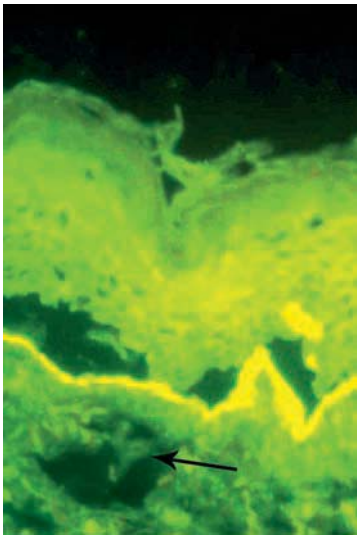
б

***Рис. 4.* Исследование материала больных буллезным пемфигоидом (×400).**

а — срез кожи донора здорового человека. Обработка сывороткой больного буллезным пемфигоидом. Непрямой метод иммунофлюоресценции. Реакция в зоне базальной мембраны эпидермиса (стрелка); б — срез кожи больного буллезным пемфигоидом. Обработка меченой сывороткой против IgG. Прямой метод прямой иммунофлюоресценции. Реакция в зоне базальной мембраны эпидермиса, на покрышке подэпидермального пузыря (стрелка).



а



б

***Рис. 5.* Материалы больных приобретенным буллезным эпидермолизом (×400).**

а — криостатный срез кожи донора здорового человека, обработанный сывороткой больной приобретенным буллезным эпидермолизом. Непрямой метод иммунофлюоресценции. Фиксация IgG в зоне базальной мембраны эпидермиса, в месте обычного для заболевания отслоения эпидермиса от дермы; б — криостатный срез кожи больного приобретенным буллезным эпидермолизом. Прямой метод иммунофлюоресценции. Характерная фиксация IgG на дне (стрелка) подэпидермального пузыря (lamina densa).

пемфигоидом независимо от клинических форм его проявления выявляют фиксацию IgG в зоне базальной мембраны эпидермиса, а в месте формирования пузыря — на его покрышке (lamina lucida), что является диагностическим признаком буллезного пемфигоида **(рис. 5, б)**. В той же локализации в ряде случаев можно наблюдать и фиксацию иммуноглобулинов других классов и ранних компонентов комплемента [10, 15].

Приобретенный буллезный эпидермолиз

Приобретенный буллезный эпидермолиз — редкое аутоиммунное заболевание кожи и слизистых оболочек, в основе клинической диагностики которого лежит возникновение спонтанных или травмо-индуцированных пузырей в зрелом возрасте больного с отсутствием семейной предрасположенности [16]. Нередко заболевание протекает атипично, имитируя другие буллезные дерматозы, такие как буллезный пемфигоид, рубцующийся пемфигоид или линейный IgA-зависимый буллезный дерматоз.

Одним из основных патогенетических факторов, способствующих расщеплению дермо-эпидермального соединения и образованию подэпидермального пузыря, являются аутоантитела к одному из компонентов базальной мембраны эпидермиса, в частности к коллагену VII типа. Антитела не являются специфичными только для антигенов базальной мембраны эпидермиса человека и животных, они также взаимодействуют с антигенами базаль-

ных мембран слизистой оболочки полости рта, пищевода, влагалища [17].

Большинство аутоантител в сыворотке крови пациентов относятся как к комплементактивируемым, так и комплементнеактивируемым субклассам IgG **(см. рис. 5, а)**. При этом факт присутствия или отсутствия комплементактивирующих аутоантител субклассов IgG в крови, титр которых может достигать 1:640, не коррелирует с клиническими формами заболевания. Участие системы комплемента приводит к более выраженным клиническим проявлениям воспалительного приобретенного буллезного эпидермолиза, который клинически сходен с буллезным пемфигоидом и рубцующимся пемфигоидом. В некоторых случаях патогенетическая роль при указанной патологии принадлежит циркулирующим аутоантителам IgA или одновременно IgA и IgG. С помощью непрямого метода иммунофлюоресценции в сыворотке крови больных выявляют антитела IgG и/или IgA к антигенам базальной мембраны эпидермиса — к антигенам lamina densa [16, 17].

В ходе иммуноморфологического исследования биоптатов кожи больных приобретенным буллезным эпидермолизом первоначально были выявлены отложения IgG в зоне базальной мембраны эпидермиса, сходные с таковыми при буллезном пемфигоиде. Прямым методом иммунофлюоресценции в криостатных срезах клинически непораженных участков кожи больных приобретенным буллезным эпидермолизом отмечается выраженная фиксация IgG в виде линейных отложений в зоне базальной мембраны эпидермиса, а в месте формирования пузыря — на его дне (lamina densa), что является диагностическим признаком данного буллезного дерматоза **(см. рис. 5, б)**. В той же локализации могут быть обнаружены IgA, IgM, C3-компонент комплемента, но с меньшей интенсивностью реакции [10, 17, 18].

Герпетиформный дерматит Дюринга

Герпетиформный дерматит Дюринга, сопровождающийся глютенчувствительной энтеропатией, встречается редко и характеризуется наличием подэпидермальных пузырей, индуцированных отложениями мелких гранул иммунных комплексов в сосочковом слое верхних отделов дермы, иногда под самой базальной мембраной эпидермиса. При этом базальная мембрана эпидермиса не вовлечена в патологический процесс, что является одним из дифференциально-диагностических признаков при сравнении с другими аутоиммунными буллезными дерматозами дермо-эпидермального соединения (буллезный пемфигоид, приобретенный буллезный эпидермолиз и линейный IgA-зависимый буллезный дерматоз) [19].

Дифференциальная диагностика герпетиформного дерматита Дюринга важна в силу особого ведения и лечения пациента — применением безглютеновой диеты и назначением препаратов сульфонового ряда, благоприятно влияющих на состояние слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и в результате сглаживающих клинические проявления болезни [19].

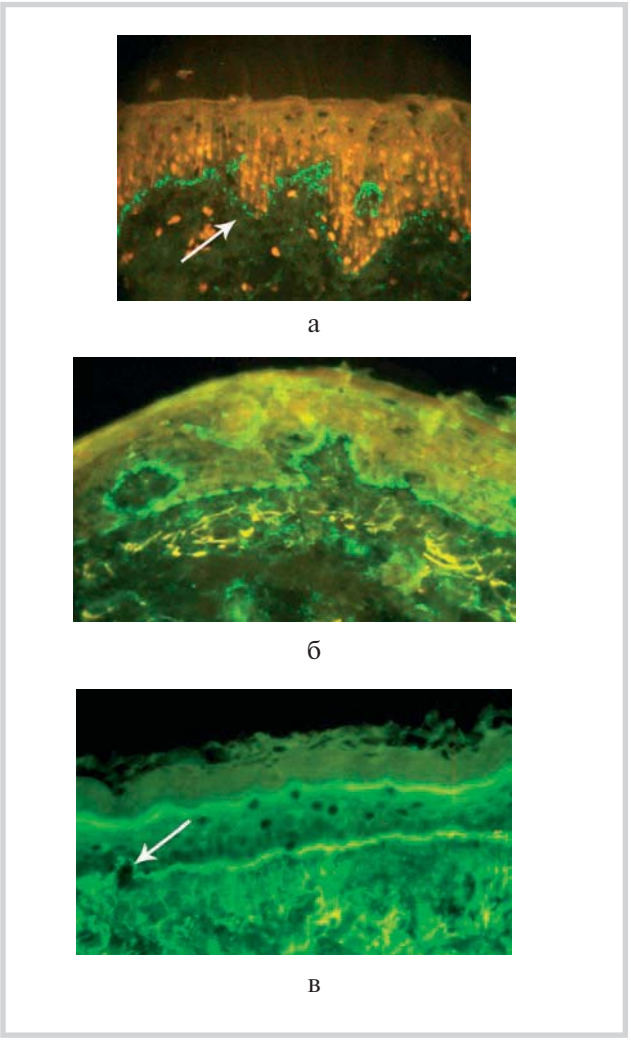


***Рис. 6.* Иммуногистохимическое исследование материала больных буллезными дерматозами (×400).**

а — криостатный срез клинически интактного участка кожи больной герпетиформным дерматитом Дюринга, обработанный меченой сывороткой против IgA. Прямой метод иммунофлюоресценции. Гранулы иммунных комплексов в сосочковом слое дермы (стрелка) под базальной мембраной эпидермиса; б, в — материалы больной линейным IgA-зависимым буллезным дерматозом: б — криостатный срез кожи здорового человека (донора), обработанный сывороткой больной. Непрямой метод иммунофлюоресценции. Реакция в зоне базальной мембраны эпидермиса; в — криостатный срез кожи больной линейным IgA-зависимым буллезным дерматозом. Прямой метод иммунофлюоресценции. Фиксация IgA строго в зоне базальной мембраны эпидермиса и на покрышке подэпидермального микропузыря (стрелка).

Таким образом, при обработке срезов кожи больных герпетиформным дерматитом Дюринга меченой сывороткой против основных классов Ig отмечается типичная иммуноморфологическая картина гранулярных отложений, содержащих иммуноглобулин

класса А, в верхних отделах дермы, иногда тесно прилегающих к эпидермису. Они либо заполняют территорию сосочков дермы или располагаются под базальной мембраной эпидермиса **(рис. 6, а)** [6, 10, 19].

Линейный IgA-зависимый буллезный дерматоз

Линейный IgA-зависимый буллезный дерматоз является гетерогенной группой везикуло-буллезных заболеваний кожи и слизистых оболочек. Данный диагноз в настоящее время устанавливается только на основании данных иммунологических и иммуноморфологических исследований [20].

Основной патогенетический фактор, способствующий развитию линейного IgA-зависимого буллезного дерматоза, являются аутоантитела, которые направлены к компонентам базальной мембраны эпидермиса (коллаген VII и XVII типов) и относятся к IgA **(см. рис. 6, б)**. Титр антител в сыворотке крови составляет 1:20–1:80 [21, 22].

При иммуногистохимическом исследовании кожи с ее интактных участков выявляют фиксацию IgA в виде линейных отложений строго в зоне базальной мембраны, а в месте формирования подэпидермального пузыря — на его покрышке и/или дне **(см. рис. 6, в)**. В той же локализации одновременно у некоторых больных могут быть обнаружены IgG, IgM и C3-компонент комплемента, но при меньшей степени выраженности иммуногистохимической реакции [22].

Необходимо отличать линейную фиксацию IgA в зоне базальной мембраны при этом заболевании от гранулярных отложений IgA у больных герпетиформным дерматитом Дюринга **(см. рис. 6, в)**. Это два разных явления. Линейный IgA-зависимый буллезный дерматоз наблюдают, как правило, у больных при отсутствии глютенчувствительной энтеропатии, характерной для больных герпетиформным дерматитом Дюринга. Кроме того, при линейном IgA-зависимом буллезном дерматозе фиксация антител происходит строго в зоне базальной мембраны эпидермиса.

Заключение

Таким образом, включение метода с использованием меченых антител (в частности иммунофлюоресцентного), в практику врача-дерматовенеролога позволяет с учетом данных клинических и иммунологических исследований поставить точный диагноз аутоиммунного буллезного дерматоза. Данный метод также предоставляет возможность провести дифференциальную диагностику среди отдельных форм определенного заболевания или группы заболеваний. Не менее важным являются обнаружение и учет «дополнительных» антител или иммунных комплексов, участие которых в роли патогенетических факторов может изменить и усложнить картину течения болезни, как, например, при паранеопластической пузырчатке. Правильно и своевременно установленный диагноз способствует назначению адекватных схем лечения и уменьшению риска развития осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Bickle K., Roark T.R., Hsu S.* Autoimmune bullous dermatoses: a review. Am Fam Physician 2002; 65: 1861–1870.
2. *Самцов А.В., Белоусова И.Э.* Буллезные дерматозы. СПб: ООО «Издательско-полиграфическая компания «КОСТА» 2012; 144.
3. *Sitaru C., Zillikens D.* Mechanisms of blister induction by autoantibodies. Exp Dermatol 2005; 12: 14: 861–875.
4. *Sano S.M., Quarracino M.C., Aguas S.C., Gonzales E.J., Harada L., Krupitzki H., Mordoh A.* Sensitivity of direct immunofluorescence in oral diseases. Study of 125 cases. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2008; 13: E287–E291.
5. *Hertl M., Schuler G.* Bullous autoimmune dermatoses. 3: Diagnosis and therapy. Hautarzt 2002; 53: 352–366.
6. *Белецкая Л.В., Махнева Н.В.* Меченые антитела в нормальной и патологической морфологии (атлас). М: МНИПИ 2000; 109.
7. *Gammon W.R.* Immunohistology of cutaneous diseases Immunohistology in Diagnostic Pathology. Ed. J. Ch. Jemmette. Boca Raton (Florida) 2000; 85–117.
8. *Бутов Ю.С., Самсонов В.А.* Буллезные дерматозы. В кн.: Клиническая дерматовенерология: руководство. В 2 т. Под ред. Ю.К. Скрипкина, Ю.С. Бутова. М: ГЭОТАР-Медиа 2009; 2: 277–329.
9. *Bystryn J.-C., Rudolph J.I.* Pemphigus. Lancent 2005; 366: 61–73.
10. *Махнева Н.В., Белецкая Л.В.* Иммунофлюоресценция в клинике аутоиммунных буллезных дерматозов. Пособие для врачей. М: Академия Естествознания 2010; 45.
11. *Billet S.E., Grando S.A., Pittelkow M.R.* Paraneoplastic autoimmune multiorgan syndrome: Review of the literature and support for a cytotoxic role in pathogenesis. Autoimmunity 2006; 39: 617–630.
12. *De Quatrebarbes J., Joly P.* Bullous pemphigoid. Rev Prat 2005; 55: 1165–1168.
13. *Kasperkiewicz M., Zillikens D.* The pathophysiology of bullous pemphigoid. Clin Rev Allergy Immunol 2007; 33: 67–77.
14. *Machado P., Michalaki H., Roche P., Gaucherand M., Thivolet J., Nicolas J.F.* Serological diagnosis of bullous pemphigoid (BP): comparision of the sensitivity of inderect immunofluorescence on salt-splin skin to immunoblotting. Br J Dermatol 1992; 126: 236–241.
15. *Marinkovich P.* PL2 Subepithelial bullous diseases – dermatoimmunological and molecular basis. Oral Dis 2006; 12: Suppl 1: 1.
16. *Chen M., Hallel-Halevy D., Nadelman C., Woodley D.T.* Epidermolysis bullosa acquisita. In: Autoimmune diseases of the skin. Ed. M. Hertl. Springer–Wien–New York 2005; 109–132.
17. *Jonkman M.F., Schuur J., Dijk F., Heeres K., de Jong M.C., van der Meer J.B., Yancey K.B., Pas H.H.* Inflammatory variant of epidermolysis bullosa asquisita with IgG autoantibodies against type VII collagen and laminin alpha3. Arch Dermatol 2000; 136: 2: 227–231.
18. *Dominguez C.M., Fernandez S.R., Ochaita L.P.* Diagnostic methods in autoimmune subepidermal bullous diseases. Actas Dermosifiliogr 2006; 97: 485–502.
19. *Rose C., Zillikens D.* Dermatitis herpetiformis Duhring. In: Autoimmune diseases of the skin. Ed. M. Hertl. Springer–Wien–New-York 2005; 95–108.
20. *Colombo M., Volpini S., Orini S., Fazi M.C., Vettore E., Tedoldi S., Cappellaro E.* Linear IgA bullous dermatosis: the importance of a correct differential diagnosis. Minerva Pediatr 2008; 60: 351–353.
21. *Allen J., Phan T.T., Hughes M.A., Cherry G.W., Wojnarowska F.*The cellular origins of the linear IgA disease target antigens: an indirect immunofluorescence study using cultured human keratinocytes and fibroblasts. Br J Dermatol 2003; 148: 5: 945–953.
22. *Guide S.V., Marinkovich M.P.* Linear IgA bullous dermatosis. Clin Dermatol 2001; 19: 719–727.