

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИИ И КОСМЕТОЛОГИИ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Мончаковская Екатерина Сергеевна

Оптимизация ведения больных врожденным буллезным эпидермолизом

3.1.23 – Дерматовенерология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
кандидат медицинских наук, доцент
Карамова Арфеня Эдуардовна

Москва – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Эпидемиология врожденного буллезного эпидермолиза	15
1.2. Молекулярно-генетические характеристики врожденного буллезного эпидермолиза	17
1.3. Особенности клинической картины врожденного буллезного эпидермолиза .	22
1.4. Методы диагностики врожденного буллезного эпидермолиза.....	25
1.5. Нарушение процесса заживления при рецессивном дистрофическом буллезном эпидермолизе.....	28
1.6. Характеристика плоскоклеточного рака кожи у больных рецессивным дистрофическим буллезным эпидермолизом	31
1.7. Методы терапии врожденного буллезного эпидермолиза.....	34
1.7.1. Наружная терапия	34
1.7.2. Терапия осложнений и сопутствующих состояний.....	36
1.7.3. Этиопатогенетические методы лечения врожденного буллезного эпидермолиза	40
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ	46
2.1 Клиническое обследование больных врожденным буллезным эпидермолизом	47
2.2 Методы оценки распространенности и заболеваемости врожденного буллезного эпидермолиза	48
2.3 Иммунофлюоресцентное антигенное картирование.....	49
2.4. Методы терапии, применяемые у больных врожденным буллезным эпидермолизом.....	52
2.4.1. Применение неадгезивных атравматичных перевязочных средств.....	53
2.4.2. Внутрикожное введение суспензии аллогенных фибробластов	55
2.5. Процедура выделения дермальных фибробластов.....	58

2.5. Оценка клинической эффективности терапии	58
2.6. Оценка динамики экспрессии структурных белков эпидермиса и дермо-эпидермального соединения в биоптатах кожи больных врожденным буллезным эпидермолизом на 14 день после внутрикожного введения аллогенных фибробластов методом иммунофлюоресцентного антигенного картирования.....	59
2.7. Методы статистической обработки данных.....	60
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	61
3.1. Оценка распространенности и заболеваемости врожденного буллезного эпидермолиза в Российской Федерации в 2017-2019 гг.	61
3.2. Анализ данных по демографическим и медико-социальным характеристикам пациентов и основным характеристикам заболевания.....	67
3.3. перевязочные средства, применяемые у больных врожденным буллезным эпидермолизом, в 2017-2019 гг.	74
3.4. Клиническая характеристика больных врожденным буллезным эпидермолизом.....	83
3.4.1. Осложнения, выявленные у больных ВБЭ.....	88
3.4.2. Плоскоклеточный рак кожи, выявленный у больных тяжелым РДБЭ	89
3.4.3. Сопутствующие заболевания, выявленные у больных ВБЭ.....	95
3.5. Результаты определения экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптатах кожи больных врожденным буллезным эпидермолизом методом ИАК	96
3.5.1. Результаты определения экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптатах кожи больных с клинически установленным дистрофическим буллезным эпидермолизом методом ИАК.....	96
3.5.2. Результаты определения экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$	

интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптате кожи больной с клинически установленным пограничным буллезным эпидермолизом методом ИАК.....	101
3.5.3. Результаты определения экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптатах кожи больных с клинически установленным простым буллезным эпидермолизом методом иммунофлюоресцентного антигенного картирования.....	102
3.5.4. Результаты определения экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптатах кожи больной с клинически установленным синдромом Киндлер методом иммунофлюоресцентного антигенного картирования.....	104
3.6. Результаты наружной терапии с применением НАПС у больных ВБЭ с эрозивно-язвенными дефектами кожи с различным сроком эпителизации.....	107
3.6.1 Эффективность наружной терапии с применением НАПС у больных ВБЭ с эрозивно-язвенными дефектами кожи с длительностью существования менее 1 месяца.....	107
3.6.2. Результаты наружной терапии с применением НАПС у больных ВБЭ с длительно не заживающими эрозиями/язвами.....	111
3.7. Эффективность терапии больных РДБЭ, ПгрБЭ и синдромом Киндлер после внутрикожного введения суспензии аллогенных фибробластов в края длительно не заживающих эрозивно-язвенных дефектов кожи.....	114
3.8. Динамика экспрессии структурных белков (коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, киндлин-1) дермо-эпидермального соединения в биоптатах кожи больных врожденным буллезным эпидермолизом после внутрикожного введения аллогенных фибробластов.....	121
3.9. Мониторинг клинического состояния больных после внутрикожного введения аллогенных фибробластов.....	124

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	126
ВЫВОДЫ.....	130
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	132
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	133
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	134

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Врожденный буллезный эпидермолиз (ВБЭ) – это группа генодерматозов, обусловленных мутациями в генах структурных белков дермо-эпидермального соединения (ДЭС). Основным клиническим признаком с любым типом ВБЭ является образование пузырей и/или эрозий на коже и слизистых оболочках в ответ на незначительную механическую травму (Fine J.D., Bruckner-Tuderman L., Eady R.A. et al. 2014, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). Для ВБЭ характерна манифестация заболевания с рождения или первых дней и месяцев жизни (Fine J.D., Bruckner-Tuderman L., Eady R.A. et al. 2014, Кубанов А. А. и др., 2019). ВБЭ относится к орфанным заболеваниям (Aronson J., 2006). Распространенность заболевания (на 1 000 000 населения) в различных странах варьирует в широких пределах — от 3,8 в Дании (Vahlquist A., Tasanen K., 2010) до 49,0 в Шотландии (Horn H.M., Priestley G.C., Eady R.A., Tidman M.J., 1997). В 2014 году впервые проведена оценка распространенности ВБЭ в Российской Федерации, которая варьировала от 0 до 19,73 на 1 000 000 населения, составляя в среднем 3,64 на 1 000 000 населения (Кубанов А.А., Альбанова В.И., Карамова А.Э., Чикин В.В., Мелехина Л.Е., Богданова Е.В., 2015).

По типу наследования группа ВБЭ генетически неоднородна. Простой буллезный эпидермолиз (ПБЭ) наследуется преимущественно по аутосомно-доминантному типу. Пограничный буллезный эпидермолиз (ПгрБЭ) наследуется аутосомно-рецессивно, а дистрофический БЭ как аутосомно-доминантно, так и аутосомно-рецессивно (Fine J.D., Eady R.A., Bauer E.A. et al., 2008). Тип мутаций, приводящих к развитию различных подтипов ВБЭ, определяет разнообразие и тяжесть клинических проявлений. Тяжесть некоторых клинических подтипов настолько велика, что приводит к летальным исходам в первые дни жизни (Fine et al., 2014; Kelly-Mancuso G., Kopelan B., Azizkhan R.G., Lucky A.W., 2013).

К таким подтипам относится тяжелый рецессивный дистрофический (РДБЭ) (Fine J.D., 2010). Тяжелый РДБЭ характеризуется вовлечением всего кожного

покрова и слизистых оболочек внутренних органов, в особенности полости рта и пищевода. Множественные пузыри и эрозивно-язвенные дефекты, которые постоянно возникают не только вследствие травмы, но и спонтанно, приводят к прогрессирующему рубцеванию и образованию распространенных очагов рубцовой атрофии, псевдосиндактилий, деформаций кистей по типу «варежки», контрактур суставов (Fine J.D., 2010, Fine J.D., Johnson L.B., Suchindran C. et al., 1999, Кубанов А. А. и др., 2019).

Для диагностики ВБЭ и верификации клинического диагноза применяют методы иммунофлюоресцентного антигенного картирования (ИАК) и/или трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) (Has C., Bauer J.W., Bodemer C. et al., 2020). Эти методы позволяют определить уровень образования пузыря в коже больных ВБЭ для дифференциальной диагностики между основными типами заболевания. В настоящее время широкое распространение также получила генетическая диагностика, которая позволяет определить мутации в генах структурных белков, вовлеченных в патогенез заболевания (Has C., Bauer J.W., Bodemer C. et al., 2020).

Одним из трудно диагностируемых осложнений ВБЭ является плоскоклеточный рак кожи (ПРК) (Mellerio J.E., Robertson S.J., Bernardis C. et al., 2015). По данным Fine J.D. и соавторов (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Li K.P., Suchindran C., 2009) его развитию способствует наличие длительно (более 1 месяца) не заживающих эрозивно-язвенных дефектов кожи, характерных в большей степени для тяжелого РДБЭ (Mellerio J.E., Robertson S.J., Bernardis C. et al., 2015).

Основным методом лечения ВБЭ является проведение перевязок с применением неадгезивных атравматичных перевязочных средств совместно с коррекцией осложнений. Патогенетические и этиологические методы лечения, которым относят белковую, клеточную и генную терапию, находятся на разных этапах клинических исследований. Целью этих методов лечения является сокращение сроков эпителизации длительно не заживающих эрозий и язв и

восстановление синтеза структурных белков в зоне базальной мембраны (Petrof G., Abdul-Wahab A., McGrath J.A., 2014, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). Клеточная терапия заключается во введении клеточных культур, способных заменить функцию генетически поврежденных клеток. Например, при РДБЭ актуальным представляется внутриочаговое введение фибробластов, отвечающих за синтез коллагена VII типа. Ввиду снижения или отсутствия его продукции у больных РДБЭ применение аллогенных фибробластов от здоровых доноров представляет собой перспективный метод терапии, направленный на ускорение заживления длительно не заживающих эрозий/язв и обладающий патогенетическим механизмом действия, заключающимся в восстановлении синтеза коллагена VII типа в зоне ДЭС.

Степень разработанности проблемы

ВБЭ представляет собой группу генодерматозов, характеризующихся различными клиническими проявлениями от локализованных высыпаний до генерализованного поражения кожного покрова. ВБЭ имеет статус орфанного заболевания. В зарубежной литературе представлены данные об эпидемиологии заболевания в различных странах Европы, США и Австралии (Danescu S., Has C., Senila S. et al, 2015, Tadini G., Gualandri L., Colombi M. et al., 2005, Pohla-Gubo G., Hintner H., 2010, Horn H.M., Priestley G.C., Eady R.A., Tidman M.J., 1997, Fine J. D. 2016, Kho Y.C., Rhodes L.M., Robertson S.J. et al., 2010). В отечественных источниках литературы имеются единичные публикации об изучении распространенности ВБЭ на территории Российской Федерации (Кубанов А. А. и др., 2015, Кубанова А. А., Мурашкин Н. Н., 2011), методах лабораторного подтверждения клинического диагноза ВБЭ на территории Российской Федерации (Коталевская Ю.Ю., 2021, А. А. Пушков, И. С. Жанин, А. В. Пахомов и др., 2022, Кубанов А.А. и др., 2018). Применение ИАК для диагностики ВБЭ и значимость этого метода в отечественной литературе не описаны.

У больных РДБЭ одним из клинических проявлений, значительно снижающих качество жизни, и приводящих к развитию ПРК, является наличие длительно не заживающих эрозий/язв (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Li K.P., Suchindran C., 2009). Возникновение таких дефектов отчасти обусловлено дефицитом синтеза коллагена VII типа, который участвует в процессе заживления (Nyström A., Velati D., Mittapalli V.R. et al., 2013). Учитывая это, эффекта от симптоматического лечения с использованием неадгезивных перевязочных средств недостаточно для сокращения сроков заживления, в связи с чем актуальным является применение клеточных методов терапии, направленных на восстановление синтеза дефицитных структурных белков. В небольшом числе работ описаны результаты применения аллогенных фибробластов у больных тяжелым РДБЭ, продемонстрировавших улучшение заживления и восстановление экспрессии коллагена VII типа (Wong T., Gammon L., Liu L. et al., 2008; Nagy N., Almaani N., Tanaka A., 2011; Petrof G., Martinez-Queipo M., Mellerio J.E., Kemp P., McGrath J.A., 2013; Venugopal S.S., Yan W., Frew J.W., 2013).

Учитывая вышеизложенное, изучение вопросов распространенности, заболеваемости в Российской Федерации, медико-социальных характеристик больных ВБЭ, подходов к диагностике и лечению ВБЭ представляются актуальной задачей для настоящей научно-исследовательской работы.

Цель исследования

Разработать подходы к диагностике и лечению больных врожденным буллезным эпидермолизом с применением аллогенных фибробластов.

Задачи исследования

1. Оценить уровень распространенности и заболеваемости врожденным буллезным эпидермолизом среди населения, представить медико-социальную характеристику и обеспеченность больных перевязочными средствами в Российской Федерации.

2. Охарактеризовать диагностическую значимость метода иммунофлюоресцентного антигенного картирования в установлении типа врожденного буллезного эпидермолиза.
3. Оценить эффективность терапии с использованием неадгезивных атравматических перевязочных средств у больных врожденным буллезным эпидермолизом с эрозиями и язвами различных сроков существования.
4. Оценить клиническую эффективность внутрикожного введения суспензии аллогенных фибробластов больным врожденным буллезным эпидермолизом с эрозивно-язвенными дефектами кожи с длительностью существования более 1 месяца.
5. Охарактеризовать динамику экспрессии белков в зоне дермо-эпидермального соединения методом иммунофлюоресцентного антигенного картирования после внутрикожного введения аллогенных фибробластов.

Научная новизна

Впервые проведена оценка распространенности врожденного буллезного эпидермолиза в Российской Федерации и структуры распределения больных ВБЭ по типам заболевания.

Впервые разработан метод патогенетической терапии с применением аллогенных фибробластов для лечения длительно не заживающих эрозий и язв у больных врожденным буллезным эпидермолизом.

Теоретическая и практическая значимость

Практическая значимость работы заключается в применении метода иммунофлюоресцентного антигенного картирования, позволяющего путем определения дефицита или отсутствия синтеза конкретного структурного белка дермо-эпидермального соединения, установить клинический тип врожденного буллезного эпидермолиза.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что результаты проведенных исследований позволят использовать их в лечении больных врожденным буллезным эпидермолизом и в дальнейшей разработке и усовершенствовании методов терапии и диагностики заболевания.

Методология и методы исследования

В работе применялись методы научного исследования, соответствующие разработанному дизайну исследования и поставленным задачам, включающие клинико-лабораторные методы исследования (клиническое обследование, иммунофлюоресцентное антигенное картирование, динамическое наблюдение), в том числе динамическое наблюдение, описание, сопоставление, эксперимент, анализ полученных результатов и формулирование выводов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Показатели распространенности и заболеваемости врожденного буллезного эпидермолиза в Российской Федерации соответствуют критериям орфанного заболевания, существенно различаются показатели в разных субъектах Российской Федерации, что позволяет выделить регионы с наибольшей распространенностью определенных типов ВБЭ.
2. Метод иммунофлюоресцентного антигенного картирования повышает точность диагностики по сравнению с диагностикой, основанной на оценке клинических проявлений болезни.
3. Использование неадгезивных перевязочных средств у больных врожденным буллезным эпидермолизом с эрозиями и язвами без нарушения сроков эпителизации приводит к своевременному заживлению.
4. Внутрикожное введение суспензии аллогенных фибробластов является эффективным методом терапии больных врожденным буллезным эпидермолизом с длительно не заживающими эрозиями и язвами.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.1.23 – Дерматовенерология. Результаты проведенной научной работы соответствуют области исследования данной специальности.

Внедрение результатов исследования в практику

Основные результаты диссертационного исследования внедрены и используются в практическую деятельность ГБУ Республики Дагестан «Республиканский кожно-венерологический диспансер» и ГУЗ «Тульский областной клинический кожно-венерологический диспансер». Результаты исследования внедрены в программу обучения студентов и ординаторов, обучающихся по специальности «дерматовенерология» на кафедре кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедре дерматовенерологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» и на кафедре кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность данных, полученных в ходе исследования, обоснованность выводов базируется на достаточном количестве наблюдений и использовании современных методов статистического анализа полученного материала с помощью программного пакета STATISTICA 13.0 (StatSoftInc., США). Материалы диссертации доложены на XVI Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов», Москва, 14–17 июня, 2016 г.; III национальном конгрессе по регенеративной медицине, Москва, 15–18 ноября 2017 г.; Общероссийском хирургическом форуме, Москва, 3–6 апреля 2018 г.; 25th European Academy of Dermatology and Venereology (EADV) Congress, Вена, Австрия. 23–27 сентября,

2016; 14th EADV Spring Symposium», Брюссель, Бельгия, 25–28 мая, 2017 г.; 15th EADV Spring Symposium, Будва, Черногория, 3–6 мая 2018 г.; 27th European Academy of Dermatology and Venereology (EADV) Congress, Париж, Франция, 11–16 сентября 2018 г.; 1112-м заседании Московского общества дерматовенерологов и косметологов им. А.И. Пospelova, Москва, 21 февраля 2017 г.; XVII Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов, Москва, 20–23 июня 2017 г.; XXXV Научно-практической конференции с международным участием «Рахмановские чтения: Перспективные направления диагностики и терапии в дерматовенерологии и косметологии», Москва, 26 января 2018 г.; XVIII Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов», Москва, 15–18 мая 2018 г.; XIX Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов», Москва, 18–21 июня 2019 г.; XXXVII Научно-практическая конференции с международным участием «Рахмановские чтения. Современная дерматовенерология и междисциплинарные связи». Москва, 30–31 января 2020 г.; Юбилейной научно-практической конференции дерматовенерологов и косметологов, посвященной 135-летию основания РОДВК. Москва, 24–25 сентября 2020 г.; XXI Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов, Москва, 7–10 сентября 2021 г.; XXII Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов, Москва, 20–23 сентября 2022 г.

Апробация диссертации проведена 29 июля 2022 года на научно-практической конференции №5 Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Личный вклад автора

Соискателем сформулирована цель и определены основные задачи диссертационной работы, определены необходимые методы исследований. Соискателем самостоятельно проведен анализ российских и зарубежных источников литературы по теме исследования, по результатам которого

подготовлен аналитический обзор. Соискателем разработана карта, позволяющая обобщить данные о числе больных с диагнозом ВБЭ в Российской Федерации, проведено обследование и лечение всех включенных в исследование пациентов с ВБЭ, выполнена обработка данных иммунофлюоресцентного антигенного картирования, проанализированы и систематизированы результаты терапии эрозивно-язвенных дефектов у больных врожденным буллезным эпидермолизом, сформулированы положения, выносимые на защиту, выводы, а также написан текст диссертации.

Публикации

Результаты диссертационной работы отражены в 13 печатных работах, опубликованных в научных журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве образования и науки Российской Федерации. 4 из 13 статей опубликованы в рецензируемых журналах, входящих в международную систему научного цитирования Scopus. Получен патент на изобретение №2779997 от 16.10.2022: «Способ лечения больных врожденным буллезным эпидермолизом путем комбинированного применения аллогенных фибробластов человека и живого эквивалента кожи».

Объем и структура диссертации

Работа изложена на 157 страницах машинописного текста и состоит из введения и 3 глав, представляющих обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, выводы, практические рекомендации и список литературы, включающий 34 российских и 169 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 18 таблицами и 50 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология врожденного буллезного эпидермолиза

ВБЭ – группа наследственных заболеваний кожи, обусловленных мутациями в генах структурных белков дермо-эпидермального соединения. Основным клиническим признаком ВБЭ является образование пузырей и/или эрозий на коже и слизистых оболочках. Нарушение целостности кожи у больных ВБЭ возникает в ответ на незначительную механическую травму, что характерно для любого типа ВБЭ (Fine J.D., Bruckner-Tuderman L., Eady R.A. et al. 2014, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020).

Европейской организацией по редким заболеваниям (EURORDIS — The European Organisation for Rare Diseases) ВБЭ отнесен к орфанным заболеваниям (Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). В странах Европейского союза орфанным считается заболевание, поражающее менее 1 человека на миллион населения (Nguengang Wakap S., Lambert D.M., Olry A. et al., 2020). Согласно закону о лекарственных препаратах для лечения орфанных заболеваний, в США к орфанным заболеваниям относятся те, которые поражают менее 200 тысяч человек (<https://rarediseases.info.nih.gov/about>).

В соответствии со статьей 44 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», принятом в 2011 году, впервые введено понятие редких (орфанных) болезней, согласно которому орфанными являются заболевания, которые имеют распространенность не более 10 случаев заболевания на 100 000 населения. Согласно первым полученным данным по распространенности ВБЭ на территории Российской Федерации (Кубанов А. А. и др., 2015) ВБЭ соответствует определению орфанного заболевания. Однако он не был внесен в Перечень жизнеугрожающих и хронических прогрессирующих редких (орфанных) заболеваний, приводящих к уменьшению продолжительности жизни граждан или их инвалидности, утвержденный постановлением Правительства Российской Федерации от 26 апреля 2012 г. № 403.

Для изучения заболеваемости и распространенности ВБЭ и упрощения сбора информации, во многих странах были созданы регистры больных, страдающих ВБЭ. Впервые Национальный регистр ВБЭ был создан в США в 1986 году (Fine J.D., Johnson L.B., Suchindran C.M., 1994). Согласно данным этого регистра, полученным в течение первых 5 лет с момента его ведения, заболеваемость и распространенность ВБЭ в США составляли 19,6 на миллион населения и 8,22 на 100 000 новорожденных соответственно. При повторной переоценке через 16 лет показатель распространенности повысился до 11,07 в то время, как показатель заболеваемости остался равен 19,57 на миллион населения (Fine J.D., 2016).

В 2002 году показатели распространенности локализованного подтипа простого буллезного эпидермолиза и остальных подтипов ПБЭ возросли на 25,5% и 30,4% соответственно, а показатели среднетяжелого ПгрБЭ снизились на 76,7% в результате обновления классификации ВБЭ, заключающейся в переименовании части подтипов и появления новых (Fine J.D., 2016).

Распространенность ВБЭ (на миллион населения) в различных странах варьирует в широких пределах — от 3,8 в Дании (Vahlquist A., Tasanen K., 2010) до 49,0 в Шотландии (Horn H.M., Priestley G.C., Eady R.A., Tidman M.J., 1997).

При анализе полученной информации было установлено, что в ряде стран (США, Шотландия, Австралия) обнаружено преобладание больных ПБЭ, хотя в некоторых (Италия, Румыния) преобладают больные дистрофическим БЭ (Fine J.D., Johnson L.B., Suchindran C.M., 1994, Dănescu S., 2014; Horn H., 1997; Castiglia D., 2010, Kho Y., 2010). Швеция отличается преобладанием больных с ПгрБЭ (Vahlquist A., Tasanen K., 2010).

Реже всего устанавливается диагноз синдрома Киндлер, в ряде случаев клинический подтип заболевания установить не удастся (Fine J.D., 2016; Kho Y., 2010; Dănescu S., 2014; Horn H., 1997; Castiglia D., 2010).

В Российской Федерации оценка распространенности ВБЭ впервые была проведена в 2014 году (А.А. Кубанов, В.И. Альбанова, А.Э. Карамова, В.В.

Чикин, Л.Е. Мелехина, Е.В. Богданова, 2015), согласно которой в 70 субъектах Российской Федерации под наблюдением состояли 439 больных ВБЭ. В 2014 г. среди больных ВБЭ, находившихся под наблюдением, у 19,6% был диагностирован простой, у 11,6% — дистрофический, у 1,4% — другой ВБЭ, у 0,7% — пограничный, у 0,7% — неуточненный ВБЭ. У большинства (66,0%) больных ВБЭ тип заболевания не был установлен. В 2014 году распространенность ВБЭ варьировала от 0 до 19,82 на 1 млн населения, составляя в среднем в 70 субъектах 3,6 на 1 млн. Максимальные показатели распространенности ВБЭ, в 4–5 раз превышающие средний по 70 субъектам показатель, были отмечены в республиках Дагестан (19,82), Чеченской (14,72), Мордовской (13,57) и Томской области (17,72).

В 2018 году Российским обществом дерматовенерологов и косметологов создан регистр пациентов с хроническими заболеваниями кожи и подкожной клетчатки, включающий сбор данных о больных псориазом, хронической крапивницей, атопическим дерматитом, пузырчаткой и ВБЭ (Кубанов А.А., Карамова А.Э., Богданова Е.В., Чикин В.В., 2021, Кубанов А.А., Богданова Е.В., 2021).

Отдельные эпидемиологические данные опубликованы по республике Дагестан (Гаджимурадова К.М. и др., 2022). В 2020 г. в республике Дагестан были обследованы 127 пациентов с ВБЭ, из которых преобладали пациенты с локализованным ПБЭ и тяжелым РДБЭ. Из 127 больных лишь 12 проведено лабораторное подтверждение клинического диагноза.

1.2. Молекулярно-генетические характеристики врожденного буллезного эпидермолиза

Согласно классификации ВБЭ от 2020 года, утвержденной на Согласительном совещании по пересмотру классификации ВБЭ и заболеваний кожи, сопровождающихся нарушением прочности эпидермиса и дермы, в настоящее время выделяют 4 основных типа заболевания, включающих простой,

пограничный, дистрофический буллезный эпидермолиз и синдром Киндлер, и более 30 клинических подтипов (Has C., Bauer J.W., Bodemer C. et al., 2020).

Типы ВБЭ различаются не только фенотипически, генотипически, но и по уровню образования пузыря и ультраструктурным изменениям в области ДЭС. Интрадермальное образование пузыря – типичный признак ПБЭ. ПБЭ классифицируется на 2 основных подтипа: базальный ПБЭ и супрабазальный ПБЭ. При ПгрБЭ процесс локализуется в светлой пластинке базальной мембраны. ПгрБЭ классифицируется на 2 основных подтипа: генерализованный и локализованный. При дистрофическом буллезном эпидермолизе (ДБЭ) формирование пузырей происходит на уровне плотной пластинки базальной мембраны. В зависимости от типа наследования выделяют 2 основных подтипа ДБЭ: доминантный и рецессивный. При синдроме Киндлер образование пузыря может происходить на разных уровнях (Fine J.D., Eady R.A., Bauer E.A. et al., 2008).

По типу наследования группа ВБЭ генетически неоднородна. ПБЭ наследуется преимущественно по аутосомно-доминантному типу, а ПгрБЭ — аутосомно-рецессивно. ДБЭ наследуется как аутосомно-доминантно, так и аутосомно-рецессивно (Has C., Bauer J.W., Bodemer C. et al., 2020).

Причиной развития ВБЭ являются мутации генов, кодирующих структурные белки кожи, ответственные за устойчивость связи между эпидермисом и подлежащей дермой (Has C., Bauer J.W., Bodemer C. et al., 2020). К настоящему времени развитие ВБЭ связывается с мутациями более, чем в 20 генах (Uitto J., Bruckner-Tuderman L., Christiano A.M. et al., 2016; Uitto J., Has C., Vahidnezhad H. et al., 2017). С развитием ВБЭ ассоциировано более 1000 мутаций в этих генах (Has C., 2011; Bruckner-Tuderman L., Has C., 2012; Knaup J., Verwanger T., Gruber C. et al., 2012).

Частота встречаемости мутаций, приводящих к развитию ВБЭ, различна. Известны мутации, описанные у многих больных в различных популяциях. Предполагается, что они возникают в чувствительных к возникновению мутаций

участках гена, которые называют «горячими точками». Имеются мутации, распространенные только в отдельных популяциях (Uitto J., Has C., Vahidnezhad H., Youssefian L., Bruckner-Tuderman L., 2017). Это может быть связано с эффектом основателя, когда мутация, возникшая несколько поколений назад, со временем передается потомкам. Отмечена большая распространенность рецессивно наследуемых подтипов ВБЭ, например, дистрофического БЭ и синдрома Киндлер, в популяциях, в которых часто встречаются близкородственные браки (Vahidnezhad H., Youssefian L., Zeinali S. et al., 2017; Youssefian L., Vahidnezhad H., Barzegar M. et al., 2015).

ПБЭ в 70–80% случаев вызывается мутациями в генах *KRT5* и *KRT14* (Bolling M.C., Lemmink H.H., Jansen G.H., Jonkman M.F., 2011; Rugg E.L., Horn H.M., Smith F.J. et al., 2007; Wertheim-Tysarowska K., Oldak M., Giza A. et al., 2016). Проявления ПБЭ могут быть вызваны мутациями еще в 9 генах (Fine J.D., Bruckner-Tuderman L., Eady R.A. et al., 2014). Гены *KRT5* и *KRT14* кодируют белки кератины 5 и 14 типа соответственно. Эти белки экспрессируются в базальных кератиноцитах и имеют схожее строение.

Известны наиболее часто встречающиеся мутации генов *KRT5* и *KRT14*. Предполагается, что мутации p.Glu170Lys в гене *KRT5* и p.Met272Thr в гене *KRT14*, наиболее часто обнаруживающиеся у больных простым ВБЭ из центральной Европы, могут иметь общее происхождение, а семьи, в которых зарегистрирован простой ВБЭ, обусловленный этими мутациями, могут иметь общего предка. Горячей точкой является кодон 125 гена *KRT14*, в котором обнаружены 6 различных замен аминокислот, описанных у 67 больных по всему миру (Eriksson J.E., Dechat T., Grin B. et al., 2009; Jankowski M., Wertheim-Tysarowska K., Jakubowski R. et al., 2014).

Пограничный БЭ в большинстве случаев вызывают мутации генов *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2*, кодирующих $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, или гена *COL17A*, кодирующего коллаген XVII типа (Uitto J., Bruckner-Tuderman L., Christiano A.M. et al., 2016; Hammersen J., Has C., Naumann-Bartsch N. et al., 2016, Кубанов А.А.,

Чикин В.В., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2022). Мутации в генах *LAMA3*, *LAMB3* и *LAMC2* ассоциированы как с тяжелым пограничным ВБЭ, так и с пограничным ВБЭ средней тяжести, мутации гена *COL17A1* вызывают пограничный ВБЭ средней тяжести (Kiritsi D., Kern J.S., Schumann H. et al., 2011).

Поскольку данные белки экспрессируются в базальных мембранах различных органов, от гена, который содержит патогенную мутацию, зависит, какие органы помимо кожи будут поражены у пациента. Абсолютный или функциональный дефицит ламинина-332 и коллагена XVII типа приводит к поражению слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, конъюнктивы и роговицы глаз. Участие данных белков в развитии придатков кожи и формировании зубов определяет возникновение ониходистрофии и алопеции, гипоплазии эмали и кариеса (Has C, Kern JS., 2010, Kiritsi D, Has C, Bruckner-Tuderman L., 2013, Кубанов А.А., Чикин В.В., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2022).

Тяжесть проявлений ПгрБЭ значительно варьирует от ограниченных проявлений на коже до распространенных поражений, приводящих к летальному исходу в младенческом или раннем детском возрасте. Тяжесть поражения часто обусловлена не столько поражением кожи, сколько вовлечением в патологический процесс слизистых оболочек внутренних органов (Fine J.D., Bruckner-Tuderman L., Eady R.A. et al., 2014, Lee M, Chen Q, Wang H, Zhang J, Lin Z, Yang Y., 2015).

Наиболее тяжелое течение заболевания с летальным исходом в младенческом или раннем детском возрасте ассоциируется с носительством мутаций, приводящих к образованию преждевременных стоп-кодона на обоих в генах *LAMA3*, *LAMB3*, *LAMC2*, *ITGA6* и *ITGB4* (McGrath JA, Ashton GH, Mellerio JE, Salas-Alanis JC, Swensson O, McMillan JR, Eady RA., 1999).

При ламинин-332-дефицитном ПгрБЭ примерно в 70% случаев поражен ген *LAMB3*, поэтому в процессе генетического обследования рекомендуется изучить именно этот ген (Uitto J., Bruckner-Tuderman L., Christiano A.M. et al., 2016).

ДБЭ обусловлен мутациями в гене COL7A1, отвечающего за синтез коллагена VII типа. Коллаген VII типа продуцируется фибробластами и является основным, если не единственным компонентом якорных фибрилл, обеспечивая прикрепление базальной мембраны к подлежащей дерме (Sakai L.Y., Keene D.R., Morris N.P. et al., 1986, Parente M.G., Chung L.C., Ryynanen J. et al., 1991; Christiano A.M., Greenspan D.S., Lee S., Uitto J., 1994; Uitto J., Bauer E.A., Moshell A.N., 1992; Hovnanian A., Duquesnoy P., Blanchet-Bardon C. et al., 1992).

Мутации приводят либо к отсутствию белка, либо к снижению его экспрессии, либо к продукции структурно измененного белка (Kern JS, Kohlhase J, Bruckner-Tuderman L, Has C., 2006).

Мутации в гене COL7A1 ассоциированы с широким спектром клинических фенотипов от локальных поражений кожи до генерализованного образования пузырей на коже и слизистых оболочках и рубцевания с высоким риском развития агрессивных опухолей кожи (Kern J.S., Kohlhase J., Bruckner-Tuderman L., Has C., 2006; van den Akker P.C., Jonkman M.F., Rengaw T. et al., 2011). Исследования корреляции генотип-фенотип при РДБЭ показали, что нулевые мутации и полное отсутствие синтеза коллагена VII типа ассоциированы с тяжелым РДБЭ, тогда как гипоморфные мутации вызывают клинически менее выраженные формы РДБЭ (Hammami-Hauasli N., Schumann H., Raghunath M. et al., 1998). Существуют значительные индивидуальные различия у пациентов с идентичными мутациями COL7A1 (Kern J.S., Gruninger G., Imsak R. et al., 2009).

Фенотипическая вариабельность ДБЭ зависит от типа мутации в аллелях и их позиции внутри гена (Varki R., Sadowski S., Uitto J., Pfendner E., 2007, Woodley D.T. Hou Y., Martin S. et al., 2008). Идентификация все большего количества мутаций позволила выявить некоторые общие корреляции генотип-фенотип (Jarvikallio A., Pulkkinen L., Uitto J., 1997; Pulkkinen L., Uitto J., 1999). Доминантный ДБЭ является главным образом результатом мутаций с заменой глицина внутри коллагенового домена одного аллеля COL7A1. РДБЭ является результатом комбинации таких мутаций в обоих аллелях как преждевременный

стоп-кодон, миссенс-мутации и мутации в участке сплайсинга (Christiano A.M., Anhalt G., Gibbons S. et al., 1994).

Данные исследований показывают, что коллаген VII типа может способствовать миграции кератиноцитов, что является одним из звеньев заживления ран, обеспечивающей реэпителизацию (Woodley D.T. Hou Y., Martin S. et al., 2008). Показано, что рекомбинантный коллаген VII типа является матриксом, способствующим подвижности для миграции кератиноцитов человека. Способствующая подвижности активность коллагена VII типа локализована в тройном спиральном домене. Интересно, что вследствие мутаций G2049E и R2063W происходит снижение синтеза мутантного белка со значительно сниженной способностью способствовать миграции кератиноцитов. Эти же мутации не только снижали стабильность самого белка от переваривания протеазами, но и снижали способность коллагена VII типа поддерживать адгезию фибробластов матрикса (Woodley D.T. Hou Y., Martin S. et al., 2008).

1.3. Особенности клинической картины врожденного буллезного эпидермолиза

Клиническим проявлением, характерным для всех типов ВБЭ, является образование пузырей и/или эрозий на коже и слизистых оболочках вследствие незначительного механического воздействия.

Для ВБЭ характерна манифестация заболевания с рождения или первых дней, иногда и месяцев, жизни. При тяжело протекающих подтипах заболевания развивается мультиорганное поражение и осложнения в виде стенозирующих процессов желудочно-кишечного и мочеполового трактов, приводящих к инвалидизации больных и уменьшению продолжительности жизни.

Тяжесть некоторых клинических подтипов настолько велика, что приводит к летальным исходам даже в первые дни жизни (Fine et al., 2014; Kelly-Mancuso G., Kopelan B., Azizkhan R.G., Lucky A.W., 2013).

Клиническая картина ВБЭ отличается разнообразием и зависит от

клинического подтипа. Локализация высыпаний может быть ограничена лишь кожей ладоней и подошв, в то время, как при других подтипах поражение кожи носит генерализованный характер с вовлечением слизистых оболочек внутренних органов.

При простом БЭ не наблюдается рубцовой атрофии, образования милиумов и дистрофии ногтевых пластин, как при дистрофическом и пограничном типах БЭ (Fine J.D., Johnson L.B., Suchindran C. et al, 1999; Fine J.D., 2010).

Локализованный подтип ПБЭ, наиболее распространенный клинический подтип из всей группы ВБЭ, характеризуется преимущественным поражением кожи ладоней и подошв, хотя пузыри и эрозии могут возникать и на любых других участках кожного покрова при выраженном механическом воздействии.

При генерализованных подтипах ПБЭ высыпания распространенные, включают гиперкератоз в области кожи ладоней и подошв. Вышеупомянутые милиумы, очаги рубцовой атрофии и дистрофия ногтевых пластин нередко развиваются при данных подтипах (Fine J.D., 2010).

Отличительной чертой всех клинических подтипов пограничного БЭ является наличие гипоплазии эмали (Wright J.T., Johnson L.B., Fine J.D., 1993; Fine J.D., 2010).

В пограничном БЭ выделяют локализованные и генерализованные подтипы. Группа генерализованного пограничного БЭ возникает с рождения или с первых дней жизни с вовлечением всего кожного покрова и слизистых оболочек внутренних органов (Fine J.D., Johnson L.B., Suchindran C., Moshell A., Gedde-Dahl T., 1999). Избыточное образование грануляционной ткани – патогномоничный признак данной группы (Wright JT, Fine JD, Johnson LB, 1991). Течение заболевания тяжелое с развитием осложнений в виде отставания в психическом и физическом развитии, мультифакторной анемии, стенозирующих процессов верхних дыхательных путей и других органов и систем (Fine J.D., Mellerio J., 2009; Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Suchindran C., 2007; Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Suchindran C., 2008; Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M. et al., 2004).

Данная группа больных подвержена высокому риску смертности среди новорожденных, в младенчестве и раннем детском возрасте вследствие развития сепсиса, отсутствия прибавки в весе и ларинготрахеального стеноза (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Suchindran C., 2007).

Течение локализованных подтипов пограничного БЭ менее тяжелое, высыпания ограничены, значительно ниже частота и риск развития смертельных осложнений (Yancey K.B., Hintner H., 2010).

Дистрофический БЭ подразделяется на 2 основных подтипа: рецессивный и доминантный (ДДБЭ). Клинические подтипы доминантного ДБЭ, как и локализованные подтипы пограничного БЭ, протекают относительно доброкачественно. У таких больных в клинической картине преобладают многочисленные пузыри и эрозии, очаги рубцовой атрофии и дистрофические изменения ногтевых пластин (Shinkuma S., 2015).

Среди больных к частым явлениям относится поражение слизистой оболочки пищевода с дальнейшим развитием его стриктур (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Suchindran C., 2008). В отличие от тяжелого генерализованного подтипа РДБЭ при доминантных подтипах крайне редко встречаются отставание в росте и развитии, анемия, недостаточность питания, плоскоклеточный рак кожи и младенческая смертность (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Li K.P., Suchindran C., 2009).

В группе РДБЭ следует выделить тяжелый генерализованный подтип, который считается наиболее тяжелым по клиническому течению. У детей, страдающих данным подтипом, при рождении может отсутствовать кожа на подошвенной поверхности стоп или других участках кожного покрова (Fine J.D., 2010).

Тяжелый генерализованный РДБЭ характеризуется вовлечением всего кожного покрова и слизистых оболочек внутренних органов, в особенности полости рта и пищевода. Множественные пузыри и эрозивно-язвенные дефекты, которые постоянно возникают не только вследствие травмы, но и спонтанно,

приводят к прогрессирующему рубцеванию и образованию распространенных очагов рубцовой атрофии, псевдосиндактий, деформации кистей по типу «варежки», контрактур суставов. Согласно данным Национального регистра больных врожденным буллезным эпидермолизом, у 30% больных тяжелым генерализованным РДБЭ псевдосиндактилии развиваются к 2-летнему возрасту, а к 20 годам псевдосиндактилии наблюдаются у 100% больных (Fine J.D., Johnson L.B., Suchindran C. et al., 1999).

Поскольку в процесс вовлекаются слизистые оболочки, возникают осложнения в виде микростомии, анкилоглоссии, заращения вестибулярных складок, стриктур пищевода (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Suchindran C., 2007).

Вследствие поражения слизистой оболочки полости рта и пищевода у больных возникает недостаточность питания, и как следствие повышается риск хронического воспаления и инфекции. У пациентов развивается анемия, задержка физического и психического развития, остеопороз (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Suchindran C., 2007, Кубанов А. А. и др., 2014).

Отличительной особенностью при тяжелом генерализованном РДБЭ являются длительно (более 1 месяца) не заживающие эрозивно-язвенные дефекты кожи, которые могут сохраняться на коже до нескольких лет даже при рациональной наружной терапии (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Li K.P., Suchindran C., 2009, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Альбанова В.И., Чикин В.В., Мончаковская Е.С., 2017).

1.4. Методы диагностики врожденного буллезного эпидермолиза

Диагностика ВБЭ основывается на данных анамнеза и клинической картины. Клинический диагноз подтверждают методом ИАК и/или (ТЭМ). Методы ТЭМ и ИАК позволяют определить уровень образования пузыря в коже больных ВБЭ для дифференциальной диагностики между основными типами ВБЭ. Для определения клинического подтипа применяется генетическая

диагностика ВБЭ, которая позволяет определить мутации в генах структурных белков, вовлеченных в патогенез данного заболевания (Fine J.D., Bruckner-Tuderman L., Eady R.A. et al. 2014).

ТЭМ позволяет визуализировать специфические структуры (кератиновые филаменты, десмосомы, полудесмосомы, супрабазальные плотные пластинки, якорные фибриллы и филаменты) и дать их количественную характеристику, соответствующую определенным клиническим подтипам ВБЭ (Eady R.A.J., Dopping-Hepenstal P.J.C., 2010). Однако ТЭМ представляет собой трудоемкий метод, требующий наличия дорогостоящего оборудования и специально обученного персонала с большим опытом проведения исследования именно на биоптатах больных ВБЭ (Fine J.D., Eady R.A., Bauer E.A. et al., 2008; Eady R.A.J., Dopping-Hepenstal P.J.C., 2010, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020).

Наряду с трансмиссионной электронной микроскопией применяются ИАК, которое было впервые описано в 1981 году (Hintner H., 1981). Данный метод позволяет определить не только уровень формирования пузыря, но и дефицит структурных белки эпидермиса и дермо-эпидермального соединения (Кубанов А. А. и др., 2014). ИАК определяет экспрессию структурных белков, то есть их присутствие, снижение или отсутствие.

Принцип данного метода основывается на способности специфических антител к фиксации на корпускулярном антигене. В случае врожденного буллезного эпидермолиза корпускулярным антигеном являются структурные белки дермо-эпидермального соединения (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1), образуя комплексы, которые в ходе реакции светятся в ультрафиолетовых лучах (Rao R., Mellerio J., Groves R. and Bhogal B., 2012, Кубанов А. А. и др., 2014).

Полученная информация о нарушениях экспрессии белков кожи позволяет ограничить количество генов, которые необходимо изучить в ходе последующего

молекулярно-генетического исследования (Rao R., Mellerio J., Groves R. and Bhogal B., 2012).

Идентификация гена-кандидата облегчает анализ мутаций, который необходим для точного диагноза, прогнозирования течения болезни и пренатальной диагностики (McMillan J.R. et al, 1997, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020).

Выявление мутаций в определенном гене проводится методом секвенирования следующего поколения или полноэкзомного секвенирования (Vahidnezhad H., Youssefian L., Zeinali S. et al. 2017; South A.P., Li Q., Uitto J., 2015; Takeichi T., Nanda A., Liu L. et al., 2013).

Н. Vahidnezhad и соавт. (2017) при необходимости выявления мутаций в определенном гене отдают предпочтение методу секвенирования следующего поколения, поскольку по сравнению с полноэкзомным секвенированием он менее дорогостоящ, а необходимый при полноэкзомном секвенировании биоинформационный анализ сложен и требует больших затрат времени, чем исследование одного гена (Vahidnezhad H., Youssefian L., Zeinali S. et al., 2017). При выявлении мутаций ее наличие подтверждается исследованием методом секвенирования по Сэнгеру.

Генетическое исследование в первую очередь необходимо семьям, планирующим беременность, у которых имеется родственник, страдающий ВБЭ, или установленные носители гена ВБЭ. Выявление мутаций имеет ценное значение для накопления научных знаний о заболевании, поскольку в последнее время возросло число новых ранее не описанных клинических фенотипов (He Y. et al., 2016; Lin Z. et al., 2016; Lee J.Y.W. et al., 2017; Has C., Fischer J., 2018, Кубанов А. А. и др., 2014). Существуют базы данных мутаций OMIM (<http://www.omim.org/>), Human Gene Mutation Database (Stenson PD, Mort M, Ball EV, Evans K, Hayden M, Heywood S, Hussain M, Phillips AD, Cooper DN, 2017), международная база мутаций COL7A1, обнаруженных у больных ДБЭ (van den Akker P.C., Jonkman M.F., Rengaw T. et al., 2011), 1000 Genomes (Auton A, Brooks LD, Durbin RM,

Garrison EP, Kang HM, Korbel JO, Marchini JL, McCarthy S, McVean GA, Abecasis GR, 2015), dbSNP (Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, Sirotkin K., 2001), gnomAD (Gudmundsson S, Singer-Berk M, Watts NA, Phu W, Goodrich JK, Solomonson M; Genome Aggregation Database Consortium, Rehm HL, MacArthur DG, O'Donnell-Luria A, 2022), ClinVar (Landrum MJ, Chitipiralla S, Brown GR, Chen C, Gu B et al., 2020) и Exome Aggregation Consortium (ExAC) (<https://gnomad.broadinstitute.org/>), в том числе, российская открытая база данных генетических вариантов (полиморфизмов, мутаций) и их встречаемости в российской популяции (<http://ruseq.ru/#/>), которые позволяют накапливать данные об имеющихся мутациях, вызывающих развитие ВБЭ. Точные знания о характере и локализации мутации также необходимы для создания клеточных культур, используемых в исследованиях, и для разработки методов генной терапии.

1.5. Нарушение процесса заживления при рецессивном дистрофическом буллезном эпидермолизе

Возникновение длительно не заживающих эрозивно-язвенных дефектов кожи у больных тяжелым генерализованным подтипом РДБЭ связывают с рядом патогенетических факторов, препятствующих нормальному заживлению (Cianfarani F., Zambruno G., Castiglia D., Odorisio T., 2017, Кубанов А. А. и др., 2019).

Процесс заживления включает 3 фазы: воспаления, пролиферации и ремоделирования. Заживление занимает от 3-4 недель до нескольких лет (Singer A.J., Clark R., 1999). Длительность заживления зависит от возраста больного, причины возникновения раны, размеров и глубины раневого дефекта, наличия сопутствующей патологии (Flanagan M., 2000).

Фаза воспаления состоит из 2 главных компонентов: сосудистой реакции (гемостаза) и миграции лейкоцитов в ответ на специфические хемотаксические факторы, генерируемые в области повреждения (Harding K., Williamson D., 2004).

Сосудистый ответ характеризуется сменяющимися друг друга стадиями вазоконстрикции и вазодилатации, сопровождающейся возрастанием капиллярной проницаемости. С увеличением сосудистой проницаемости под влиянием трансформирующего фактора роста β (TGF- β) и моноцитарного хемоаттрактанта белка-1, вырабатываемых поврежденными клетками и тромбоцитами, в рану поступают различные клеточные популяции, включая полиморфонуклеарные и мононуклеарные лейкоциты и макрофаги, выполняющие функции фагоцитоза и удаления инфекционных агентов. В эту фазу вырабатываются про- и противовоспалительные цитокины и ряд факторов роста (Eming S.A., Hammerschmidt M., Krieg T., Roers A., 2009, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Альбанова В.И., Чикин В.В., Мончаковская Е.С., 2017).

При тяжелом РДБЭ фаза воспаления приобретает затяжное течение. У больных с таким подтипом на коже постоянно имеются эрозивно-язвенные дефекты, что приводит к массивному обсеменению бактериальной флорой. Бактериальная колонизация усиливает воспалительную реакцию (Van der Kooi-Pol M.M., Duipmans J.C., Jonkman M.F., van Dijk J.M., 2014, Levin L. E. et al., 2021). Бактерии образуют пленки, которые препятствуют действию антибактериальной препаратов.

Среди бактерий, обнаруженных на поверхности дефектов кожи у больных ВБЭ, наибольшей численностью обладают род *Staphylococcus* и *Streptococcus* (Brandling-Bennett H.A., Morel K.D., 2010). Van der Kooi-Pol ММ и соавт. (2013) доказали, что риск развития хронических дефектов кожи выше у больных ВБЭ, у которых на поверхности дефектов кожи имеется несколько видов *Staphylococcus* (van der Kooi-Pol M.M., de Vogel C.P., Westerhout-Pluister G.N. et al., 2013).

Рядом авторов проведены исследования, подтверждающие повышенную экспрессию провоспалительных цитокинов (IL-6, CXCL13, MCP-1, HMGB-1 и др.), способствующих поддержанию воспаления в ране (Breitenbach J.S., Rinnerthaler M., Trost A. et al., 2015; Odorisio T., Di Salvio M., Orecchia A. et al.,

2014; Petrof G., Abdul-Wahab A., Proudfoot L., Pramanik R., Mellerio J.E., McGrath J.A., 2013).

В фазу пролиферации ключевыми моментами являются ангиогенез и образование грануляционной ткани (Harding K., Williamson D., 2004). Процесс ангиогенеза нарушается вследствие отсутствия регионарных стволовых клеток, которые продуцируют проангиогенные факторы (VEGF, HGF, bFGF, EGF, TGF- β). Источником регионарных стволовых клеток являются сально-волосные фолликулы. При тяжелом генерализованном РДБЭ имеются обширные очаги рубцовой атрофии, в которых отсутствуют придатки кожи. Этим явлением и обусловлен дефицит регионарных стволовых клеток (Sorg H., Tilkorn D.J., Hager S., Hauser J., Mirastschijski U, 2017).

Дефицит коллагена VII типа, который непосредственно участвует в патогенезе РДБЭ, отрицательно влияет на пространственное расположение комплекса белков ламинина-332 и интегрин $\alpha\beta 4$. Как следствие не происходит активации ламинин-332/интегрин $\alpha\beta 4$ сигнальных путей, которые принимают участие в процессе миграции кератиноцитов с краев раны (Nyström A., Velati D., Mittapalli V.R. et al., 2013; Hartwig B., Borm B., Schneider H., Arin M. J., Kirfel G., Herzog V., 2007). Со стороны дермы недостаток коллагена VII типа подавляет миграцию фибробластов и созревание грануляционной ткани (Nyström A., Velati D., Mittapalli V.R. et al., 2013).

Фаза ремоделирования заключается в разрушении избыточного временного внеклеточного матрикса и кровеносных сосудов, продуцированных в фазу пролиферации, уменьшении выраженности воспаления и элиминации миофибробластов (Harding K., Williamson D., 2004). В фазу пролиферации миофибробласты отвечают за контракцию краев раны, экспрессируя гладкомышечный актин- α , который обеспечивает прочную фиксацию миофибробластов между собой и с компонентами внеклеточного матрикса, и продукцию компонентов внеклеточного матрикса (Micallef L., Vedrenne N., Billet F. et al., 2012, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Альбанова В.И., Чикин В.В.,

Мончаковская Е.С., 2017). В конце фазы ремоделирования грануляционная ткань должна заместиться рубцовой (Harding K., Williamson D., 2004, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Альбанова В.И., Чикин В.В., Мончаковская Е.С., 2017).

Barrientos S. и соавт. (2008) установили, что к длительному заживлению приводит повышенная экспрессия изоформы 1 трансформирующего фактора роста β (TGF- β 1). TGF- β 1, продуцируемый различными клетками, участвует во всех фаза заживления (Barrientos S., Stojadinovic O., Golinko M.S., Brem H., Tomic-Canic M., 2008). При его повышенной экспрессии происходит стимуляция трансформации фибробластов в миофибробласты, которые продолжают неконтролируемый синтез компонентов внеклеточного матрикса.

Анализ уровня экспрессии генов в биоптатах рубцов больных РДБЭ и рубцов больных, не страдающих РДБЭ, биоптатов кожи больных РДБЭ и биоптатов здоровых добровольцев, выявил, что в биоптатах рубцов больных РДБЭ повышен уровень экспрессии IL-1 β , IL-6 и тенасцина-С, которые свидетельствуют о персистирующем воспалении (Breitenbach J., Gruber C., Klaussegger A. et al., 2015). Избыточная экспрессия тенасцина-С при связывании с Toll-like рецептором 4 (TLR-4) усиливает образование рубцовой ткани (Bhattacharyya S., Wang W., Morales-Nebreda L. et al., 2016).

1.6. Характеристика плоскоклеточного рака кожи у больных рецессивным дистрофическим буллезным эпидермолизом

Плоскоклеточный рак кожи (ПРК) является наиболее грозным осложнением ВБЭ. По данным Национального регистра больных ВБЭ в США Fine J.D. и соавторы выявили зависимость развития ПРК от определенного клинического подтипа ВБЭ. Наименьшему риску развития ПРК подвержены больные простым БЭ (0,1%-1%). Повышенный риск зарегистрирован у больных тяжелым пограничным БЭ (4,5%), среднетяжелым РДБЭ (9,9%) и инверсным РДБЭ (17,7%). Максимальный риск зафиксирован у больных тяжелым РДБЭ (23%) (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Li K.P., Suchindran C., 2009).

Риск возникновения ПРК увеличивается с возрастом. Кумулятивный риск развития ПРК у больных тяжелым РДБЭ составляет: 7,5% в возрасте 20 лет, 26,7% в возрасте 25 лет, 51,7% в возрасте 30 лет, 90,1% в возрасте 55 лет (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Li K.P., Suchindran C., 2009, Кубанов А. А. и др., 2014). Согласно данным Kawasaki et al. самый ранний случай плоскоклеточного рака кожи был описан у 6-летнего больного тяжелым РДБЭ (Kawasaki H., Sawamura D., Iwao F., Kikuchi T., 2003).

Предрасполагающими факторами развития ПРК являются длительно (более 1 месяца) не заживающие эрозивно-язвенные дефекты кожи и очаги рубцовой атрофии (Mellerio J.E., Robertson S.J., Bernardis C. et al, 2015). В отличие от ПРК в общей популяции к образованию драйверных мутаций приводит не ультрафиолетовое излучение, а повышенный уровень активности белков семейства АРОВЕС обнаруживаемых более, чем в 50% раковых опухолей различного генеза (Alexandrov L. V. et al., 2013). Их содержание также повышено в области хронических дефектов кожи, чем, вероятно, обусловлено возникновение ПРК данной локализации у больных РДБЭ (Cho R.J., Alexandrov L.B., den Breems N.Y. et al., 2018). Очаги ПРК также часто возникают в области костных выступов. При изучении особенностей локализации ПРК было обнаружено, что новообразования располагались в пределах длительно не заживающих эрозий и язв у 63,2% больных среднетяжелым подтипом, у 86,7% тяжелым и 100% больных инверсным подтипом РДБЭ (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Li K.P., Suchindran C., 2009).

Патогенез ПРК связан со множеством факторов. Предполагается, что его развитие может быть обусловлено нарушением процесса заживления, микроокружением опухоли, склонностью к рубцеванию, обусловленной отчасти активностью трансформирующего фактора роста фибробластов β (TGF- β), сниженной экспрессией коллагена VII типа, повышенной экспрессией матриксных металлопротеиназ (MMP-7 and MMP-13), ИЛ-6, избыточным

обсеменением микрофлорой, что приводит к «затяжному» воспалению (Condorelli A. G. et al., 2019, Bonamonte D. et al., 2022).

Клинически заподозрить у пациента ПРК можно по следующим признакам: наличие длительно не заживающих эрозивно-язвенных дефектов кожи с длительностью существования более 4 недель, быстрый рост эрозии/язвы, наличие приподнятого дна и/или подрывных краев эрозии/язвы, глубокой «штампованной» язвы, избыточного разрастания грануляционной ткани, очагов гиперкератоза с приподнятым валиком окружающей ткани по периферии. Субъективные ощущения в виде выраженной болезненности, парестезий и необычных ощущений в области эрозии/язвы характерны для ПРК (Mellerio J.E., Robertson S.J., Bernardis C. et al, 2015).

При ВБЭ, как правило, обнаруживается высокодифференцированный ПРК, характеризующийся быстрым, агрессивным и инвазивным ростом опухоли. Для этого ПРК типично быстрое метастазирование и возникновение множественных очагов первичной опухоли (McGrath J.A., Schofield O.M., Mayou B.J. et al., 1992, Mellerio J.E., Robertson S.J., Bernardis C. et al, 2015).

ПРК является ведущей причиной смертности среди больных РДБЭ. 5-летняя выживаемость среди больных с РДБЭ-ассоциированным ПРК равна практически 0% (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Li K.P., Suchindran C., 2009; Mellerio J.E., Robertson S.J., Bernardis C. et al, 2015).

В терапии ПРК применяются хирургические и нехирургические методы лечения (лучевая терапия, химиотерапия, генно-инженерные биологические препараты, оральные ингибиторы тирозинкиназы, фотодинамическая терапия, 5-фторурацил, CO₂-лазер. Однако, предпочтительным остается широкое хирургическое иссечение первичного очага или множественных очагов опухоли. При поздней диагностике и обширных очагах опухоли возможно проведение ампутации (Mellerio J.E., Robertson S.J., Bernardis C. et al, 2015).

1.7. Методы терапии врожденного буллезного эпидермолиза

1.7.1. Наружная терапия

Несмотря на то, что в настоящее время этиологическое и патогенетическое лечение ВБЭ находится на разных этапах клинических исследований, основным методом лечения, применяемым в клинической практике и обладающим симптоматическим действием, является проведение регулярных перевязок с применением неадгезивных атравматичных перевязочных средств (Pope E., Lara-Corrales I., Mellerio J. et al., 2012; El Hachem M., Zambruno G., Bourdon-Lanoy E. et al., 2014, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). Наружная терапия, коррекция осложнений и сопутствующей патологии направлены на ускорение заживления эрозивно-язвенных дефектов кожи и слизистых оболочек. В первую очередь для предотвращения инфицирования во время каждой перевязки перед наложением неадгезивных перевязочных средств проводится обработка всех пузырей перед и после вскрытия, а также всех эрозий/язв не спиртосодержащими антисептиками и дезинфицирующими средствами. Вскрытие пузырей проводится во избежание увеличения их площади. Рекомендуются создать 2 отверстия для удаления содержимого. После вскрытия крышка пузыря не удаляется для более активного заживления (Denyer J., Pillay E., Clapham J., 2017). После вскрытия пузырей, опорожнения их полости проводится наложение перевязочных неадгезивных средств. На все имеющиеся у больных эрозии/язвы обязательно проводить наложение неадгезивных атравматичных повязок. Атравматичность – основное требование при выборе перевязочного средства при ВБЭ. Адгезивные повязки не применяются в виду дополнительной травматизации кожи и потенциального отслоения эпидермиса при удалении повязки после использования (Мурашкин Н.Н., Намазова-Баранова Л.С., 2019, Denyer J., Pillay E., Clapham J., 2017). Наложение повязок должно производиться в соответствии с размером эрозивно-язвенных дефектов и с захватом 1-2 см окружающей ткани (Мурашкин Н.Н., Намазова-Баранова Л.С., 2019).

В соответствии с рекомендациями по уходу за эрозивно-язвенными поражениями кожи у больных ВБЭ выбор перевязочных средств зависит от локализации дефекта кожи, объема и характера экссудата, наличия субъективных ощущений и от клинического типа заболевания (Pope E., Lara-Corrales I., Mellerio J. et al., 2012, El Hachem M., Zambruno G., Bourdon-Lanoy E. et al., 2014, Denyer J., Pillay E., Clapham J., 2017). Перевязки могут проводиться ежедневно или 1 раз в 2-3 суток. Частота проведения перевязок определяется скоростью и степенью пропитывания повязок экссудатом и инструкцией к применению конкретного медицинского изделия. Следует отметить, что частые перевязки не рекомендуются больным ВБЭ ввиду дополнительной механической травматизации при смене повязок (Denyer J., Pillay E., Clapham J., 2017).

Для предотвращения развития хронических ран различного генеза и назначения рациональной терапии были разработаны различные алгоритмы. Schultz et al. в 2003 году был предложен алгоритм TIME (Schultz et al., 2003). Каждая из 4-х букв отражает характеристики раневого дефекта: T (tissue) – характеристика дна раны, I (infection/inflammation) – наличие инфицирования/воспаления, M (moisture imbalance) – степень экссудации, E (edge) – характеристика краев раны. В 2004 году Keast D.H. et al. предложили альтернативный алгоритм MEASURE, включающий 7 параметров раны, которые следует обязательно мониторировать в процессе лечения: M (measure) - измерение исходной площади эрозии/язвы; E (exudate) - характер и количество экссудата; A (appearance) - описание раневой поверхности; S (suffering) - наличие субъективных ощущений в области дефекта; U (undermining) – наличие признаков деструкция тканей в области дефекта; R (reevaluate) - повторное регулярное измерение площади дефекта; E (edge) - описание краев и ткани, окружающей рану (Keast D.H. et al., 2004, Кубанов А. А. и др., 2019). Данный алгоритм предложено применять и у больных ВБЭ для объективной оценки процесса заживления и назначения рациональной терапии (Pope E., Lara-Corrales I., Mellerio J. et al., 2012).

1.7.2. Терапия осложнений и сопутствующих состояний

Вторичное инфицирование часто сопровождает ВБЭ и замедляет процесс заживления (Cianfarani F., Zambruno G., Castiglia D., Odorisio T., 2017) повышает риск развития сепсиса, который является одной из причин смерти больных ВБЭ (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M. et al., 2008), в связи с чем обязательно проведение антибактериальной и противомикробной терапии. Проводится наружная терапия с применением повязок, содержащих противомикробные и антисептические средства, например, серебро и йод (Denyer J., Pillay E., Clapham J., 2017, Альбанова В.И., 2010). Рекомендуется назначение таких антибактериальных и противомикробных лекарственных препаратов для наружного применения (Denyer J., Pillay E., 2012; El Hachem M., Zambruno G., Bourdon-Lanoy E., Ciasulli A., Buisson C. et al., 2014; Pope E., Lara-Corrales I., Mellerio J. et al., 2012, Мурашкин Н.Н., Намазова-Баранова Л.С., 2019), как мупироцин (Альбанова В.И., 2010, El Hachem M., Zambruno G., Bourdon-Lanoy E. et al., 2014, Кубанов А.А., Альбанова В.И., Чикин В.В., Епишев Р.В., 2014, Шурова Л.В., Старостин О.И., Корсунский А.А., Плотников Н.А., 2016, Pope E., Lara-Corrales I., Mellerio J. et al., 2012, Сердюкова Е.А., Попов В.В., 2016), гентамицин, фузидовая кислота (Альбанова В.И., 2010, Кубанов А.А., Альбанова В.И., Чикин В.В., Епишев Р.В., 2014), линкомицин (Альбанова В.И., 2010, Кубанов А.А., Альбанова В.И., Чикин В.В., Епишев Р.В., 2014), бацитрацин+неомицин (Альбанова В.И., 2010, Кубанов А.А., Альбанова В.И., Чикин В.В., Епишев Р.В., 2014, Сердюкова Е.А., Попов В.В., 2016, Гаджимурадов М.Н., Гаджимурадова К.М., Алиева М.Г., Мамашева Г.Д., 2020), сульфатиазол серебра (Альбанова В.И., 2010, Кубанов А.А., Альбанова В.И., Чикин В.В., Епишев Р.В., 2014. Возможно назначение комбинированных лекарственных препаратов, обладающих антибактериальным действием и стимулирующих заживление, например, диоксометилтетрагидропиримидин+хлорамфеникол или диоксометилтетрагидропиримидин + сульфадиметоксин + тримекаин + хлорамфеникол (Альбанова В.И., 2010, Афонин А.А., Лебеденко А.А., Шокарев

А.В. и др., 2016), диоксометилтетрагидропиримидин + Облепиховое масло + Сульфазтидол (Гипозоль) (Альбанова В.И., 2010, Самцов А.В., Белоусова И.Э., 2012).

При распространенном процессе и множественных инфицированных эрозиях/язвах назначается системная антибактериальная терапия (Mellerio J. E., 2010, Мурашкин Н.Н., Намазова-Баранова Л.С., 2019). Препараты могут назначаться перорально и парентерально на длительные сроки в случае необходимости (Mellerio J. E., 2010).

Болезненные ощущения нередко сопровождают течение ВБЭ. Наиболее часто они регистрируются у больных РДБЭ (Fine J.D., Johnson L. B., Weiner M. и др., 2004). Показано, что боль различной интенсивности – от умеренно выраженной до сильной – ежедневно испытывают более 90% пациентов с ВБЭ (Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Suchindran C., 2004). По данным Woo и соавт. (2012) описано несколько механизмов, посредством которых боль может замедлять заживление ран (Woo K., 2008, Woo K., 2012). В ответ на болевое раздражение волокно С стимулирует выработку нейропептидов (субстанции Р и нейрокинина А), которые активируют лейкоциты и другие иммуноактивные клетки, выделяющие провоспалительные цитокины, которые свою очередь, усиливают передачу болевых сигналов и реакцию на стресс (Glaser R., Kiecolt-Glaser J.K., 2005). В ответ на стресс в надпочечниках вырабатываются кортикостероидные гормоны (преимущественно кортизол). Согласно данным Kiecolt-Glaser и соавт. (1995), избыточная продукция кортизола и катехоламинов отрицательно влияет на процесс заживления ран посредством воздействия на работу иммунной системы (подавление пролиферации и дифференцировки клеток) и усиления гипоксии тканей (Kiecolt-Glaser J., Marucha P., Malarkey W., Mercado A., Glaser R., 1995, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Альбанова В.И., Чикин В.В., Мончаковская Е.С., 2017).

Для купирования боли пациентам назначаются как системные, так и топические лекарственные препараты. Наружно возможно использовать аэрозоль

для местного применения Бензокаин + Борная кислота + Облепихи масло + Хлорамфеникол (Олазол) (Альбанова В.И., 2010, Сердюкова Е.А., Попов В.В., 2016, Самцов А.В., Белоусова И.Э., 2012, Альбанова В.И., Смольяникова В.А., Гольченко В.А., 2015), повязки, обладающие анестезирующим действием (Denyer J., Pillay E., Clapham J., 2017). При незначительной и умеренной боли назначаются препараты из группы нестероидных противовоспалительных препаратов. При выраженной боли возможно назначение наркотических анальгетиков, анксиолитиков, антидепрессантов, противосудорожных препаратов, обладающих обезболивающим эффектом (Goldschneider K. R. et al., 2014, Denyer J., Pillay E., Clapham J., 2017). Для купирования боли также существуют альтернативные немедикаментозные методы лечения, включающие различные направления психотерапии и физиотерапию (Goldschneider K. R. et al., 2014).

Больные ВБЭ с любым клиническим подтипом, но чаще с пруригинозным ДБЭ, предъявляют жалобы на зуд (Snauwaert J.J., Yuen W.Y., Jonkman M.F. et al., 2014, Danial C., Adeduntan R., Gorell E.S. et al., 2015). Зуд часто возникает в области заживающих эрозий/язв (Henderson J, Ferguson MW, Terenghi G., 2012, Danial C., Adeduntan R., Gorell E.S. et al., 2015), но пациенты также отмечают его появление и в очагах непораженной кожи (Papanikolaou M., Onoufriadis A., Mellerio J.E. et al., 2021). Зуд приводит к снижению качества жизни пациентов, к механическому повреждению кожи вследствие расчесывания, что приводит к повышению риска развития инфицирования и замедлению заживления (van Scheppingen C., Lettinga A.T., Duipmans J.C. и др., 2008, Goldschneider K.R., Lucky A.W., 2014, Snauwaert J.J., Yuen W.Y., Jonkman M.F. et al., 2014). При локальном зуде рекомендуются антигистаминные препараты для наружного применения (дифенгидрамин), ингибиторы кальциневрина (такролимус и пимекролимус) (Danial C., Adeduntan R., Gorell E.S. et al., 2015, Banky J.P., Sheridan A.T., Storer E.L. et al., 2004, Мурашкин Н.Н., Намазова-Баранова Л.С., 2019), топические глюкокортикоиды (Мурашкин Н.Н., Намазова-Баранова Л.С., 2019). Для купирования зуда возможно назначение камфоры и средств, содержащих ментол в

концентрации до 2% (Мурашкин Н.Н., Намазова-Баранова Л.С., 2019). При выраженном зуде назначаются антигистаминные препараты перорально. Генерализованный зуд, который не купируется приемом антигистаминных препаратов, может потребовать назначения нейролептиков, трициклических антидепрессантов, селективных ингибиторов обратного захвата серотонина, опиоидных ненаркотических анальгетиков и противоэпилептических средств по согласованию с врачом-неврологом или врачом-психиатром (Goldschneider K. R. et al., 2014).

При наличии железодефицитной анемии, которая часто встречается при тяжело протекающих клинических подтипах пограничного и дистрофического буллезного эпидермолиза (Giardina P.J., Lin A.N., 1992; Fine J.D., Mellerio J., 2009), показано назначение препаратов железа (Pope E., Lara-Corrales I., Mellerio J. et al., 2012; Denyer J., Pillay E., Clapham J., 2017, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). Развитие железодефицитной анемии связано с наличием генерализованных и множественных эрозивно-язвенных дефектов кожи, поражением слизистой оболочки полости рта, болезненности при приеме пищи, наличием микростомии, адентии, стеноза пищевода и как следствие дисфагии (Fine J.D., Mellerio J., 2009). Вышеперечисленные факторы в значительной степени препятствуют абсорбции железа и других питательных веществ (Van den Akker P.C., van Essen A.J., Kraak M.M. et al., 2009). Дополнительным фактором, участвующим в механизме развития железодефицитной анемии, является хроническое воспаление, возникающее вследствие постоянного наличия на коже эрозий и язв. Хронические эрозивно-язвенные дефекты кожи приводят к рекуррентным инфекциям, в результате чего возникает неадекватный и замедленный ответ костного мозга на повышенный уровень эритропоэтина (Clark S., 2009; Tefferi A., 2003; Fine J.D., Hintner H., 2009). В работе Keast H., Fraser C. (2004) установлено, что при уровне гемоглобина ниже 100 г/л заживление ран ухудшается в результате уменьшения оксигенации кожи (Keast H., Fraser C., 2004, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Альбанова В.И., Чикин

В.В., Мончаковская Е.С., 2017). Для коррекции анемии назначают препараты железа внутрь или внутривенно. При снижении гемоглобина менее 80 г/л возможно назначение эритропоэтина или эритроцитарной массы (Simpson B., Tarango C., Lucky A.W., 2018).

У больных ВБЭ также нередко наблюдается недостаточность питания (Haynes L., 2007). Поступившая пища подвергается недостаточной ферментативной обработке. Следствием недостаточного питания является уменьшение поступления калорий и дефицит энергии для заживления. Наиболее выраженное нарушение нутритивного статуса регистрируется у больных ДБЭ (Мурашкин Н. Н. и др., 2018, Fine J. D., McGuire J., 199). При уровне альбумина менее 20–30 г/л (норма 35–54 г/л), повышается риск возникновения длительно существующих эрозий и язв (Posthauer M.E., 2012, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Альбанова В.И., Чикин В.В., Мончаковская Е.С., 2017), поэтому данной категории больных назначается нутритивная поддержка с назначением высокобелковых и высокоэнергетических смесей (Zidorio A.P., Dutra E.S., Leão D.O., Costa I.M., 2015, Макарова С.Г. и др., 2016, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020).

1.7.3. Этиопатогенетические методы лечения врожденного буллезного эпидермолиза

Среди перспективных этиопатогенетических методов лечения ВБЭ выделяют белковую, клеточную и генную терапию. Белковая терапия заключается во внутривенном или внутриочаговом введении в отдельные участки кожи белка, который у пациента либо отсутствует, либо является дефектным (Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). При ДБЭ таким белком является коллаген VII типа. D. Woodley и соавт. показали, что рекомбинантный коллаген VII типа, инъекции которого были произведены мышам в эксперименте, стал определяться и функционировать не только в местах инъекций, но и в других участках пораженной кожи (Woodley D.T., Keene D.R., Atha T. et al., 2004).

Недостатками данной терапии являются травматичность инъекций протеина, а также возможность развития аутоиммунной реакции в ответ на вводимый белок. Кроме того, чтобы введенный белок начал полноценно функционировать, ему необходимо претерпеть ряд конформационных изменений до того, как произойдет адгезия молекул белка к определенным субстратам (Woodley D.T., Keene D.R., Atha T. et al., 2004; Igoucheva O., Kelly A., Uitto J., Alexeev V., 2008).

Клеточная терапия заключается во введении в организм человека аутологичных или аллогенных клеточных культур, способных продуцировать функционально активные структурные белки эпидермиса и дермо-эпидермального соединения (Petrof G., Abdul-Wahab A., McGrath J.A., 2014, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). В исследованиях для клеточной терапии применялись гемопоэтические стволовые клетки, мезенхимальные стволовые клетки, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки и аллогенные фибробласты и кератиноциты, результаты которых продемонстрировали различную клиническую эффективность (Wong T., Gammon L., Liu L. et al., 2008; Nagy N., Almaani N., Tanaka A., 2011; Petrof G., Martinez-Queipo M., Mellerio J.E., Kemp P., McGrath J.A., 2013; Venugopal S.S., Yan W., Frew J.W., 2013; Tolar J., Ishida-Yamamoto A., Riddle M., et al., 2009; Wagner J.E., Ishida-Yamamoto A., McGrath J.A. et al., 2010; Petrof G., Lwin S.M., Martinez-Queipo M. et al., 2015; Lee S. E. et al., 2021; Takahashi K., Yamanaka S., 2006; Yu J., Vodyanik M.A., Smuga-Otto K. et al., 2007; Sebastiano V., Zhen H.H., Haddad B. et al., 2014; Shinkuma S., Guo Z., Christiano A. M., 2016). Преимущественно в исследованиях принимали участие пациенты с РДБЭ ввиду тяжести клинических проявлений и раннего развития осложнений при этом подтипе.

Использование гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) впервые описано в рамках экспериментальной работы Tolar J. и соавт. в 2009 году (Tolar J., Ishida-Yamamoto A., Riddle M., et al., 2009, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). Трансплантация костного мозга лабораторным мышам с РДБЭ

привела к увеличению экспрессии коллагена VII типа и возникновению рудиментарных якорных фибрилл в зоне базальной мембраны.

В 2010 году Wagner J. И соавт. впервые провели трансплантацию аллогенного костного мозга 6 больным РДБЭ (Wagner J.E., Ishida-Yamamoto A., McGrath J.A. et al., 2010, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). У 5 больных после проведенного лечения наблюдалось уменьшение образования новых пузырей, улучшение заживления и повышение экспрессии коллагена VII типа. Однако, несмотря на хороший терапевтический эффект, тяжелая переносимость больными полной миелоабляции перед трансплантацией костного мозга является значительным ограничением для применения этого метода у большого числа пациентов (Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020).

Наряду с ГСК в экспериментальных работах показано стимулирующее действие мезенхимальных стволовых клеток (МСК) на процессы заживления (Sasaki M., Abe R., Fujita Y., Ando S., Inokuma D., Shimizu H., 2008, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020), что объясняется мультипотентностью МСК (Ogawa M., LaRue A.C., Drake C.J., 2006; Калинина Н.И., Сысоева В.Ю., Рубина К.А. и др., 2011).

В 2015 году группа ученых под руководством Petrof G. (2015) провела исследование с внутривенным введением аллогенных МСК 10 детям с тяжелым РДБЭ. Результаты исследования показали клиническое улучшение в виде ускорения заживления, уменьшения числа свежих пузырей и ран у 9 пациентов. У 1 больного положительной динамики не наблюдалось. Однако на фоне хорошего клинического эффекта по результатам проведенного ИАК повышение экспрессии коллагена VII типа и образование новых якорных фибрилл в области дермо-эпидермального соединения не зафиксировано (Petrof G., Lwin S.M., Martinez-Queiro M. et al., 2015, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). Несмотря на успешное применение МСК и ГСК, наибольший интерес для изучения в лечении ВБЭ представляют фибробласты (Tracy L.E., Minasian R.A.,

Caterson E.J., 2016, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). Они являются основным источником коллагена VII типа в коже (Nyström A., Velati D., Mittapalli V.R. et al., 2013). В отличие от своих клеток-предшественников аллогенные фибробласты (АФ) обладают рядом преимуществ. Они сохраняют в культуре диплоидный кариотип, имеют низкую экспрессию антигенов гистосовместимости после пассирования и характеризуются отсутствием онкогенного потенциала, что позволяет использовать культивируемые *in vitro* фибробласты человека в терапевтических целях (Chen M., Woodley D. T., 2006; Зорин В.Л., Зорина А.И., Черкасов В.Р., 2010). Низкая иммуногенность позволяет использовать для пересадки АФ, полученные от неродственного пациенту донора. В отношении аллогенных фибробластов существует возможность быстрой наработки большого количества относительно недорогого клеточного материала, его криоконсервации и хранения больших запасов клеток для их срочного применения (Зорин В.Л., Зорина А.И., Черкасов В.Р., 2010).

Оценка эффективности и безопасности применения аллогенных фибробластов в виде внутрикожных инъекций в края длительно не заживающих эрозивно-язвенных дефектов кожи проводилась у больных РДБЭ и представлена в результатах 4-х исследований, в которых обнаружено, что введенные фибробласты приводят к повышению экспрессии коллагена VII типа, увеличению количества якорных фибрилл в зоне дермо-эпидермального соединения и ускорению заживлению эрозий и язв. Серьезных нежелательных явлений во время проведения исследований у больных зарегистрировано не было (Wong T., Gammon L., Liu L. et al., 2008; Nagy N., Almaani N., Tanaka A., 2011; Petrof G., Martinez-Queipo M., Mellerio J.E., Kemp P., McGrath J.A., 2013; Venugopal S.S., Yan W., Frew J.W., 2013, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020).

Проводятся исследования в направлении генных и генно-клеточных методов терапии (Titeux M., Pendaries V., Zanta-Boussif M.A. et al., 2010, Petrof G., Abdul-Wahab A., McGrath J.A., 2014, Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). Среди методов генной терапии выделяют редактирование генома с использование

систем CRISPR/Cas9, TALEN и ZFN, РНК-терапию, (Sait H., Srivastava S., Saxena D., 2022), генную заместительную терапию, сайленсинг генов (подавление экспрессии генов) и «естественную» генную терапию (Prodinger C, Reichelt J, Bauer JW, Laimer M., 2019).

В рамках генно-клеточной терапии имеется опыт применения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК) (Takahashi K., Yamanaka S., 2006; Yu J., Vodyanik M.A., Smuga-Otto K. et al., 2007). Аутологичные иПСК получают из биоптатов больных ВБЭ. Для коррекции мутаций в кератиноцитах и фибробластах, полученных из биоптатов больных РДБЭ, и преобразования их в дальнейшем в линии иПСК, используют различные вирусные векторы (Sebastiano V., Zhen H.H., Haddad B. et al., 2014, Titeux M., Pendaries V., Zanta-Boussif M.A. et al., 2010; Georgiadis C., Syed F., Petrova A. et al., 2016, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020).

В результате аутологичной трансплантации иПСК дифференцировались в кератиноциты, способные продуцировать нормальный коллаген VII типа, якорные фибриллы и образовывать все слои эпидермиса (Sebastiano V., Zhen H.H., Haddad B. et al., 2014, Titeux M., Pendaries V., Zanta-Boussif M.A. et al., 2010; Georgiadis C., Syed F., Petrova A. et al., 2016, Кубанов А.А., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С., 2020). Несмотря на положительную динамику после трансплантации, недостатком применения иПСК является трудоемкость и длительность проведения процедур, а также необходимость взятия биопсии кожи у пациентов с ВБЭ.

Таким образом, учитывая тяжесть клинических проявлений ВБЭ, в частности тяжелого подтипа РДБЭ, приводящих к выраженному снижению качества жизни, снижению сроков трудоспособности, раннему развитию ПРК и ранней смертности среди больных, необходима разработка патогенетических и этиологических методов лечения. Наибольший интерес представляют АФ, позволяющие синтезировать нормальный коллаген VII типа, тем самым, способствуя ускорению заживления длительно не заживающих эрозивно-язвенных дефектов кожи. В тоже время, для предотвращения увеличения сроков

заживления эрозий и язв и развития осложнений требуется обязательное применение неадгезивных атравматических перевязочных средств, подобранных с учетом определенных характеристик эрозий/язв кожи.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась в ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России в период с 2015 г. по 2022 г. Под наблюдением находились 34 больных врожденным буллезным эпидермолизом, получавших лечение в условиях круглосуточного стационара и консультативно-диагностического центра.

Все лица, включенные исследование, предоставили письменное информированное согласие на участие в исследовании, подписанное участником исследования или, если участник исследования был несовершеннолетним, – их родителями. Исследование выполнено в соответствии с этическими правилами Хельсинской Декларации 1975 г. (<https://www.wma.net/what-we-do/medical-ethics/declaration-of-helsinki/>) с дополнениями 2013 г. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России (протокол №6 от 30.06.2016 г.), согласно которому оно соответствует стандартам добросовестной клинической практики и доказательной медицины. Суспензия аллогенных фибробластов предоставлена ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» РАН. Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

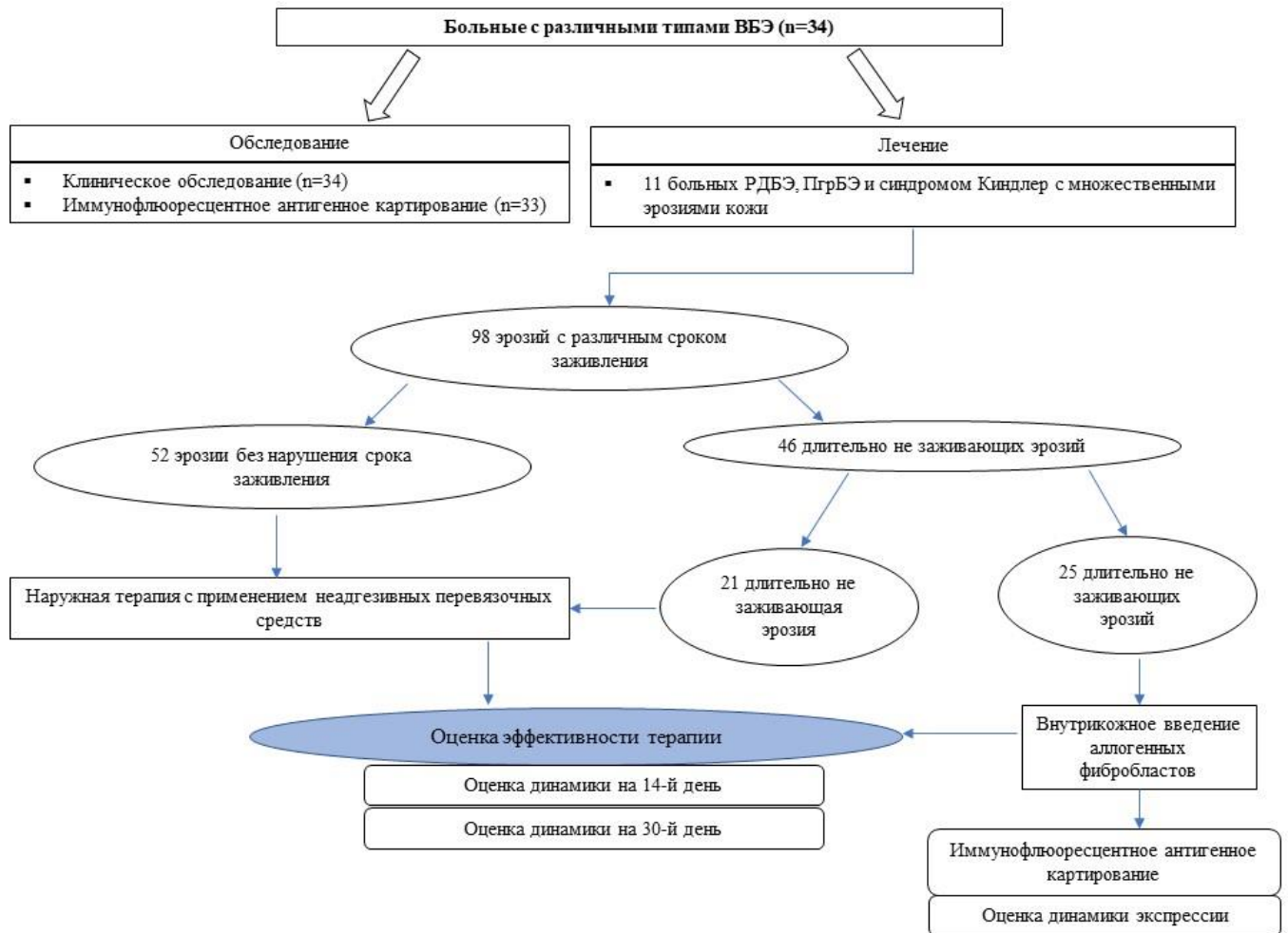


Рисунок 1 – Дизайн исследования

2.1 Клиническое обследование больных врожденным буллезным эпидермолизом

В исследование включены 34 больных врожденным буллезным эпидермолизом, из которых было 18 женщин и 16 мужчин, в том числе детей, в возрасте от 10 лет до 51 года, в среднем – $24,7 \pm 14,6$.

Клиническое обследование включало анализ анамнестических данных, физикальное обследование, включавшее описание эрозивно-язвенных дефектов кожи, которое учитывало длительность существования эрозий/язв, их размер, характер экссудата, характеристики дна эрозии/язвы и состояние краев и ткани, окружающей эрозию/язву, наличие субъективных ощущений в области дефекта кожи (Карамова А.Э., Кубанов А.А., Воротеляк Е.А., Роговая О.С., Чикин В.В.,

Нефедова М.А., Мончаковская Е.С., 2023). Фотодокументирование поражений кожи проводилось до и в процессе наблюдения с использованием фотоаппарата Canon EOS 2000D EF-S 18-55 III Kit. Измерение размеров эрозий/язв проводилось контактным планиметрическим методом. Расчет площади эрозий/язв проводился по формуле $S=L \times W \times 0,785$, где L – наибольшая длина дефекта, W – наибольшая ширина дефекта. Измерение данных величин проводится таким образом, чтобы они располагались перпендикулярно по отношению друг к другу.

Проводился общий анализ крови и определение уровня железа в сыворотке крови с целью выявления железодефицитной анемии.

До назначения терапии проводилось обследование: сбор анамнеза заболевания и данных о сопутствующих заболеваниях, оценка предшествующей терапии и ее эффективности, расчет индекса массы тела (ИМТ) по формуле: масса тела (в кг) / рост (в м²). Выполнялись лабораторные исследования: клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, анализ крови на ВИЧ, гепатиты В, С, сифилис. Лабораторное исследование клинических и биохимических параметров крови осуществлялось в лабораторном центре ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава РФ по стандартным общепринятым методикам.

2.2 Методы оценки распространенности и заболеваемости врожденного буллезного эпидермолиза

Для оценки распространенности и заболеваемости врожденного буллезного эпидермолиза были разработаны карты, позволяющие обобщить данные о числе больных с диагнозом «ВБЭ», их распределение по типам болезни, демографические (возраст, пол) и медико-социальные (наличие инвалидности) сведения о больных. Разработанные карты направляли в кожно-венерологические диспансеры и центры специализированной медицинской помощи субъектов Российской Федерации, оказывающие медицинскую помощь по профилю «дерматовенерология» (Таблица 1). Данные о больных получали методом

выкопировки из медицинских карт пациента, получающего медицинскую помощь в амбулаторных условиях (учетная форма № 025у) (Кубанов А. А. и др., 2018).

Таблица 1 – Фрагмент карты с данными о числе больных с диагнозом «ВБЭ», их распределение по типам болезни, демографические (возраст, пол) и медико-социальные (наличие инвалидности) сведения о больных

№	ФИО/код д больног о	Дата рождения	Пол	Клинический диагноз (с указанием типа заболевания: простой, пограничный, дистрофический, синдром Киндлер, тип заболевания не уточнен)	Код по МКБ-10	Дата (год) установления диагноза впервые в жизни
1						
2						
3						

Распространенность врожденного буллезного эпидермолиза в субъектах Российской Федерации рассчитывали как отношение числа больных врожденным буллезным эпидермолизом в субъекте к численности населения субъекта в пересчете на миллион населения, заболеваемость – как отношение числа новых случаев заболевания за год в субъекте к численности населения субъекта в соответствующий год. Данные о численности населения субъектов Российской Федерации получали на сайте Федеральной службы государственной статистики.

2.3 Иммунофлюоресцентное антигенное картирование

33 из 34 больным с целью подтверждения клинического диагноза и выявления дефектного белка в области ДЭС было проведено определение экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6 \beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптатах кожи методом ИАК. 1 пациент подписал отказ от проведения биопсии кожи.

Процедура получения биообразцов кожи проводилась в условиях специальной процедурной комнаты с использованием стерильных инструментов и расходных материалов с применением местной анестезии. Биопсия кожи с

последующим иммунофлюоресцентным антигенным картированием исследованием проводилась после получения согласия пациента на взятие материала для исследований.

После трехкратной обработки операционного поля 0,05% раствором хлоргексидина, под местной инфильтрационной анестезией 2% раствором лидокаина гидрохлорида 2,0 мл проводится взятие биологического материала размером 4-6 мм стерильным одноразовым скальпелем с последующим ушиванием раны атравматическим шовным материалом. Послеоперационная рана обрабатывалась спиртовым раствором анилинового красителя с последующим наложением асептической неадгезивной повязки.

Для последующего исследования биоптат в диаметре 4-6 мм был помещен в марлевый тампон, обильно смоченный 0,9% раствором хлорида натрия. Затем в стерильном промаркированном контейнере биологический материал был доставлен в патоморфологическую лабораторию.

Методом ИАК определялась экспрессия структурных белков дермо-эпидермального соединения (кератины 5 и 14, десмоплакин, плакофилин-1, плектин, интегрин $\alpha 6\beta 4$, ламинин 332, коллагены VII и XVII типов, киндлин) в биоптатах кожи больных. Не более, чем через 2 часа полученный биоптат заливался в среду для замораживания (Surgipath FSC 22) и помещался в камеру криостата при температуре -20°C для формирования в течение 10-15 минут замороженного блока, который в дальнейшем хранился в морозильной камере или камере криостата при температуре не выше -2°C . Из полученного блока на криостатном микротоме изготавливались срезы, которые растягивались на предметном стекле с полилизинным покрытием и просушивались в течение 30-60 минут при комнатной температуре. Затем предметные стекла со срезами использовались для проведения иммунофлюоресцентного антигенного картирования или хранились в морозильной камере до проведения реакции. Проведение иммунофлюоресцентного антигенного картирования начиналось с приготовления буферного раствора для отмывания срезов в ходе реакции (состав

раствора: фосфатный буфер, содержащий Tween20 (PBS-tween) pH 7,4-7,8). Если перед проведением иммунофлюоресцентного антигенного картирования предметные стекла с замороженными срезами хранились в морозильной камере, они размораживались при комнатной температуре в течение 30 мин. Для фиксации срезов предметные стекла со срезами помещались в предварительно охлажденный 95% этанол с инкубацией в течение 10 минут при температуре -20°C . Предметные стекла со срезами промывались в изготовленном ранее буферном растворе трижды по 10 минут. После просушки при комнатной температуре на срезы наносились протеиновый блок – 5% раствор бычьего сывороточного альбумина (БСА), содержащего Tween20 с последующей инкубацией во влажной камере при комнатной температуре в течение 60 минут. После инкубации излишек раствора БСА удалялся со срезов, срезы просушивались при комнатной температуре, на срезы наносился раствор первичных антител с последующей инкубацией во влажной камере в термостате при температуре 37°C в течение 60 минут. Предметные стекла со срезами промывались в изготовленном ранее буферном растворе трижды по 10 минут. После просушки при комнатной температуре на срезы наносились вторичные антитела (Таблица 2), меченные флюоресцентным красителем с последующей инкубацией во влажной камере в термостате при температуре 37°C в течение 60 минут. Предметные стекла со срезами промывались в изготовленном ранее буферном растворе трижды по 10 минут. После просушки при комнатной температуре препараты заключались под покровное стекло с использованием заключающей среды, содержащей краситель DAPI для окрашивания ядер. Перед исследованием изготовленных препаратов окрашенные препараты инкубировались в течение 12 часов (на ночь) в темном месте (в холодильной камере). Исследование изготовленных препаратов нРИФ проводилось с использованием конфокального лазерного сканирующего флюоресцентного микроскопа *ex vivo* IX81S1F-S (Olympus Corp., Токио, Япония).

Полученные изображения фотодокументировались. Проводилась обработка фотодокументированных изображений с использованием программного обеспечения FV10-ASW.

Таблица 2 – Антитела, применяемые для исследования экспрессии структурных белков дермо-эпидермального соединения методом иммунофлюоресцентного антигенного картирования

Антитела	Фирма	Разведение	Условия инкубирования
Rabbit monoclonal Anti-Collagen XVII antibody	Abcam (UK)	1:50	2 часа
Mouse polyclonal Anti-Collagen XVII antibody	Abcam (UK)	1:50	2 часа
Mouse monoclonal Anti-Collagen VII antibody	Abcam (UK)	1:50	2 часа
Rabbit polyclonal Anti-Collagen VII antibody	Abcam (UK)	1:50	2 часа
Goat polyclonal Secondary Antibody to Mouse IgG H&L, 564 нм	Abcam (UK)	1:500	1 час
Goat polyclonal Secondary Antibody to Rabbit IgG H&L, 488 нм	Abcam (UK)	1:500	1 час
Laminin alpha 3 antibody	Abcam (UK)	1:300	1 час
Laminin beta 3 antibody	Abcam (UK)	1:500	1 час
Laminin gamma 2 antibody	Abcam (UK)	1:500	1 час
Integrin alpha 6 (ITGA6) antibody	Abcam (UK)	1:500	1 час
Integrin beta 4 (ITGB4) antibody	Abcam (UK)	1:500	1 час
Plectin antibody	Abcam (UK)	1:500	1 час
Cytokeratin 5 antibody	Abcam (UK)	1:300	1 час
Cytokeratin 14 antibody	Abcam (UK)	1:200	1 час
Plakophilin antibody	Abcam (UK)	1:200	1 час
Kindlin antibody	Abcam (UK)	1:200	1 час

2.4. Методы терапии, применяемые у больных врожденным буллезным эпидермолизом

11 больным ВБЭ с различными клиническими подтипами для наружной терапии применялись неадгезивные атравматичные перевязочные средства и

внутрикожное введение суспензии аллогенных фибробластов. Выбор метода терапии определялся на основании длительности существования эрозивно-язвенных дефектов кожи у пациентов. По длительности существования разделяли на группу эрозий/язв с нормальным сроком эпителизации, при котором заживление происходило в течение 1 месяца, и на группу длительно не заживающих эрозий/язв. К длительно не заживающим эрозиям/язвам, относили те кожные дефекты, которые заживали более 1 месяца или площадь которых уменьшилась менее, чем на 30% в течение 1 месяца использования неадгезивных атравматичных перевязочных средств.

До включения в исследование всем больным проводилась наружная терапия с использованием неадгезивных перевязочных средств, которые накладывались на все эрозивно-язвенные дефекты в независимости от длительности существования.

На этапе включения в исследование у больных были выбраны 52 эрозии без нарушения сроков эпителизации и 46 длительно не заживающих эрозий/язв. На эрозии с нормальным сроком заживления продолжили накладывать неадгезивные перевязочные средства.

В 25 из 46 длительно не заживающих эрозий/язв эрозий внутрикожно вводили суспензию аллогенных фибробластов. Для сравнительной оценки эффективности терапии аллогенными фибробластами на 21 длительно не заживающие эрозии/язвы продолжили применять неадгезивные атравматичные перевязочные средства.

2.4.1. Применение неадгезивных атравматичных перевязочных средств

Частота перевязок определялась степенью и скоростью пропитывания повязок экссудатом. Перевязки эрозий с незначительным и умеренным количеством экссудата проводились 1 раз в 2 дня, с обильным экссудатом – ежедневно. Перевязочные средства накладывали на поверхность эрозивно-язвенных дефектов. Предварительно перед наложением перевязочных средств поверхность эрозий обрабатывали раствором антисептиков и дезинфицирующих

средств (0,01% раствор для местного применения Бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммоний хлорид моногидрат и 0,05% водный раствор хлоргексидина биглюконата) (Кубанов А. А. и др., 2019).

Наложение повязок осуществлялось по размеру дефекта кожи с захватом 1-1,5 см окружающей кожи или в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Во время каждой перевязки документально фиксировалось изменение площади, количества и характера экссудата эрозивно-язвенных дефектов. Регистрировали также изменения краев эрозий/язв и субъективных ощущений в области дефекта (Кубанов А. А. и др., 2019).

Выбор перевязочного средства основывался на характеристиках эрозивно-язвенных дефектов кожи (размер, характер экссудата, характеристики дна эрозии/язвы и состояние краев и ткани, окружающей эрозию/язву). Принимались во внимание субъективные ощущения и индивидуальная переносимость пациентов.

Для терапии неинфицированных эрозий/язв использовались сетчатые мазовые повязки, пропитанные вазелином, сетчатые силиконовые повязки, губчатые пористые силиконовые повязки, гидрогелевые повязки и сорбирующие повязки с пропиткой натуральным пчелиным воском. Если на поверхности эрозий и язв присутствовал в незначительном количестве гнойный экссудат, на очаги поражения накладывали мазовые сетчатые повязки с содержанием серебра, гидрогелевые повязки с содержанием серебра, губчатые повязки с содержанием серебра и сетчатые мазовые повязки с содержанием мази повидон-йода (Mölnlycke Health Care AB, Paul Hartmann Limited, ООО «Биотекфарм») (Таблица 3).

Таблица 3 – Выбор перевязочного средства для проведения наружной терапии

№	Тип ВБЭ	Характер и количество экссудата	Тип повязки
---	---------	---------------------------------	-------------

1	– среднетяжелый РДБЭ – тяжелый РДБЭ – среднетяжелый ПгрБЭ – синдром Киндлер	Скудный серозный	– Неадгезивные сетчатые мазовые повязки – Неадгезивные сетчатые силиконовые повязки – Неадгезивные губчатые силиконовые повязки – Неадгезивные гидрогелевые повязки
	тяжелый РДБЭ	Скудный геморрагический	Неадгезивные сетчатые силиконовые повязки
	тяжелый РДБЭ	Скудный серозно-геморрагический	Неадгезивные сетчатые силиконовые повязки
2	– тяжелый РДБЭ – среднетяжелый ПгрБЭ	Умеренный серозный	– Неадгезивные сетчатые мазовые повязки – Неадгезивные сетчатые силиконовые повязки
3	– тяжелый генерализованный РДБЭ – среднетяжелый генерализованный ПгрБЭ	Обильный серозный	– Сорбирующие повязки с пропиткой натуральным пчелиным воском – Неадгезивные губчатые силиконовые повязки
	среднетяжелый ПгрБЭ	Обильный геморрагический	Сорбирующие повязки с пропиткой натуральным пчелиным воском
4	– тяжелый РДБЭ – среднетяжелый ПгрБЭ – синдром Киндлер	Скудный гнойный	– Неадгезивные сетчатые мазовые повязки с содержанием мази повидон-йода – Неадгезивные мазовые сетчатые повязки с содержанием серебра – Неадгезивные гидрогелевые повязки с содержанием серебра
5	– тяжелый РДБЭ – среднетяжелый ПгрБЭ	Умеренный серозно-гнойный	– Неадгезивные сетчатые мазовые повязки с содержанием мази повидон-йода – Неадгезивные мазовые сетчатые повязки с содержанием серебра
6	– тяжелый РДБЭ – ДДБЭ	Умеренный гнойно-геморрагический	Неадгезивные мазовые сетчатые повязки с содержанием серебра
7	тяжелый РДБЭ	Обильный гнойно-геморрагический	Неадгезивные губчатые силиконовые повязки с содержанием серебра

2.4.2. Внутрикожное введение суспензии аллогенных фибробластов

Критерии включения пациентов для проведения внутрикожного введения аллогенных фибробластов:

— возраст от 18 лет и старше;

- установленный диагноз дистрофического и пограничного буллезного эпидермолиза или синдрома Киндлер;
- наличие у пациентов эрозивных/язвенных дефектов кожи без признаков вторичного инфицирования, длительность существования которых составляет не менее 1 месяца или размер которых оставался прежним или уменьшился менее, чем на 30% в течение 1 месяца.

Критерии невключения в исследование:

- беременность и лактация;
- наличие плоскоклеточного рака кожи на момент участия в исследовании или в анамнезе;
- применение местных и/или системных препаратов, стимулирующих эпителизацию и регенерацию кожи (декспантенол, диоксометилтетрагидропиримидин, депротеинизированный гемодериват крови телят, ретиноиды, анаболические гормоны), в течение 1 месяца до включения пациента в исследование;
- необходимость приема лекарственных препаратов, замедляющих эпителизацию и регенерацию кожи (глюкокортикостероиды, цитостатики);
- системные заболевания (инфекционные, соматические, онкологические и т.д.) и состояния, которые могут повлиять на результаты лечения; состояния, ограничивающие приверженность пациента проводимой терапии (деменция, психоневрологические заболевания, наркомания, алкоголизм и т.д.).

Суспензия аллогенных фибробластов в концентрации 5×10^6 , 10×10^6 и 20×10^6 клеток/мл в фосфатно-солевом буфере с 2% раствором альбумина человеческого/0,9% раствора натрия хлорида в количестве 1 мл на одного пациента. Суспензия АФ предоставлялась ФГБУН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова» РАН.

Перед введением аллогенных фибробластов в условиях стерильной процедурной проводилась аппликационная анестезия кремом с содержанием лидокаина и прилокаина. Крем наносился на интактную кожу по периферии эрозий или язв, от края дефекта по периферии, захватывая по 2,0 см интактной кожи. Крем наносился на кожу без втирания и под окклюзионную повязку на 40-60 минут. Через 40-60 минут после нанесения крема проводилась антисептическая обработка операционного поля 0,05% водным раствором хлоргексидина биглюконата или 0,01% раствором для местного применения Бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммоний хлорид моногидрата.

По периферии эрозий или язв мезотерапевтическим методом внутрикожно папульно (шприц 2 мл, игла 0,23 x 4 мм) однократно вводилась суспензия АФ общим объемом не более 1 мл, на расстоянии не более 0,5 см от края дефекта кожи, с интервалом между местами инъекций не более 1 см.

После введения АФ на очаги поражения накладывалась первичная атравматичная неадгезивная повязка. В случае наложения атравматичной сетчатой повязки в качестве вторичной повязки применяется стерильная марлевая салфетка, фиксируемая бинтом или неадгезивным пластырем.

После проведения процедуры больным рекомендовался строгий постельный режим в течение 2 часов. В течение первых 5 часов после проведения процедуры осуществлялось динамическое наблюдение за состоянием пациента: каждый час проводится оценка общего состояния пациента (измерение артериального давления, ЧСС, ЧДД, температуры тела), оценивались субъективные (боль, зуд, жжение и др.) и объективные (образование пузырей, экссудация, кровотечение и др.) симптомы.

В течение 14 дней после проведения процедуры ежедневно проводился осмотр пациента и документирование динамики изменения характеристик эрозий/язв. После снятия повязок определяется состояние эрозивного или язвенного дефекта. Во время перевязок проводилось фотографирование очагов и измерение их площади.

2.5. Процедура выделения дермальных фибробластов

Все процедуры выполняются в асептических условиях в ламинарных шкафах.

1. Перед началом работы образцы кожи тщательно промывают в растворе Хэнкса с антибиотиками (0,4 мг/мл гентамицина).
2. Лоскут кожи нарезают на полоски шириной 3x10 мм и помещают в 0,2%-ный раствор диспазы.
3. Полоски кожи в растворе диспазы инкубируют при 4С в течение 16-24 часов.
4. После ферментирования в диспазе эпидермис пинцетом отделяют от дермы по линии базальной мембраны. Полоски эпидермиса удаляют.
5. Полоски дермы отмывают в среде ДМЕМ в течение 15 минут, измельчают до кусочков объемом от 2 до 5 мм³.
6. Измельченную дерму в объеме примерно 2 см³ вносят в культуральные флаконы площадью 25 см² и добавляют 0,5 мл 2%-ного раствора коллагеназы I в среде ДМЕМ и 5 мл культуральной среды (ДМЕМ с 10% ЭТС и 4 мМ глутамина).
7. Флаконы инкубируют в течение 48 часов в CO₂-инкубаторе при 37С или
8. 5-6 часов при 37С. В этом случае выполняют пункт 10.
9. Сливают среду из флаконов вместе с неприкрепленными кусочками дермы, трижды промывают средой ДМЕМ и заливают 5 мл свежей культуральной среды.
10. Суспензию клеток осаждают центрифугированием при 1000 об/мин в течение 5 мин, супернатант отбрасывают, клетки ресуспендируют в культуральной среде.
11. Микроскопируют культуру. При необходимости через 24 часа производят пересев.

2.5. Оценка клинической эффективности терапии

Оценка клинической эффективности проведенной терапии проводилась на 14-й день и на 30-й день терапии с использованием неадгезивных перевязочных средств (НАПС) или внутрикожного введения суспензии АФ в соответствии со следующими критериями:

- 1) Полное заживление (сокращение площади на 100%) эрозии/язвы;

- 2) Выраженное улучшение – уменьшение площади эрозии/язвы на 75%–<100%;
- 3) Умеренное улучшение – уменьшение площади эрозии/язвы на 50% –<75%;
- 4) Незначительное улучшение – уменьшение площади эрозии/язвы на 25%–50%;
- 5) Отсутствие динамики – уменьшение площади эрозии/язвы менее, чем на 25%;
- 6) Ухудшение – увеличение площади и/или глубины эрозии/язвы (Кубанов А. А. и др., 2019).

2.6. Оценка динамики экспрессии структурных белков эпидермиса и дермо-эпидермального соединения в биоптатах кожи больных врожденным буллезным эпидермолизом на 14 день после внутрикожного введения аллогенных фибробластов методом иммунофлюоресцентного антигенного картирования

Для оценки динамики экспрессии белков в области дермо-эпидермального соединения после введения АФ в края 25 длительно не заживающих эрозий/язв на 14-й день повторно получали биоптат кожи из области инъекций. После этого повторно проводили ИАК биоптата кожи и сопоставляли полученные результаты экспрессии белков кожи, ассоциированных с развитием ВБЭ с данными, полученными до лечения.

Для оценки динамики экспрессии на фоне лечения исходный уровень экспрессии был условно распределен на 4 группы по степени снижения свечения антител к структурным белкам дермо-эпидермального соединения. Степеньям снижения экспрессии были присвоены условные числовые значения: 0 – отсутствие экспрессии, что характеризовалось отсутствием свечения, 1 – незначительное снижение экспрессии, при котором на большем протяжении дермо-эпидермальной границы свечение сохранено в виде широкой, непрерывной

полосы, 2 – значительное снижение экспрессии, характеризующееся свечением на единичных участках дермо-эпидермального соединения в виде единичных коротких узких полос и гранул, 3 – нормальный уровень экспрессии, соответствующий сплошной полосе свечения в зоне дермо-эпидермального соединения.

Аналогичные условные числовые значения были присвоены уровню повышения экспрессии после проведенной терапии, где 0 – это отсутствие восстановления экспрессии, 1 – незначительное повышение экспрессии, 2 – выраженное повышение экспрессии, 3 – полное восстановление экспрессии.

2.7. Методы статистической обработки данных

Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 13.0 (StatSoftInc., США). Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для сравнения частоты встречаемости показателей в группах применяли критерий χ -квадрат. Для сравнения показателей, полученных при обследовании больных до и после лечения, использовали критерий Манна-Уитни и критерий Уилкоксона. Для проведения корреляционного анализа применяли критерий Спирмена. Данные представляли в виде $M \pm \sigma$. Различия считали достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Оценка распространенности и заболеваемости врожденного буллезного эпидермолиза в Российской Федерации в 2017-2019 гг.

Проанализирована информация о больных врожденным буллезным эпидермолизом и динамика показателей распространенности с 2017 по 2019 гг.

По результатам проведенной работы по состоянию на конец 2017 года были получены данные из 76 субъектов Российской Федерации о 524 пациентах с врожденным буллезным эпидермолизом, на конец 2018 года получены данные из 63 субъектов Российской Федерации о 511 пациентах, на конец 2019 года – данные из 68 субъектов Российской Федерации о 458 пациентах с ВБЭ. Отклик соответственно составил 89%, 74% и 81% (рисунок 2).

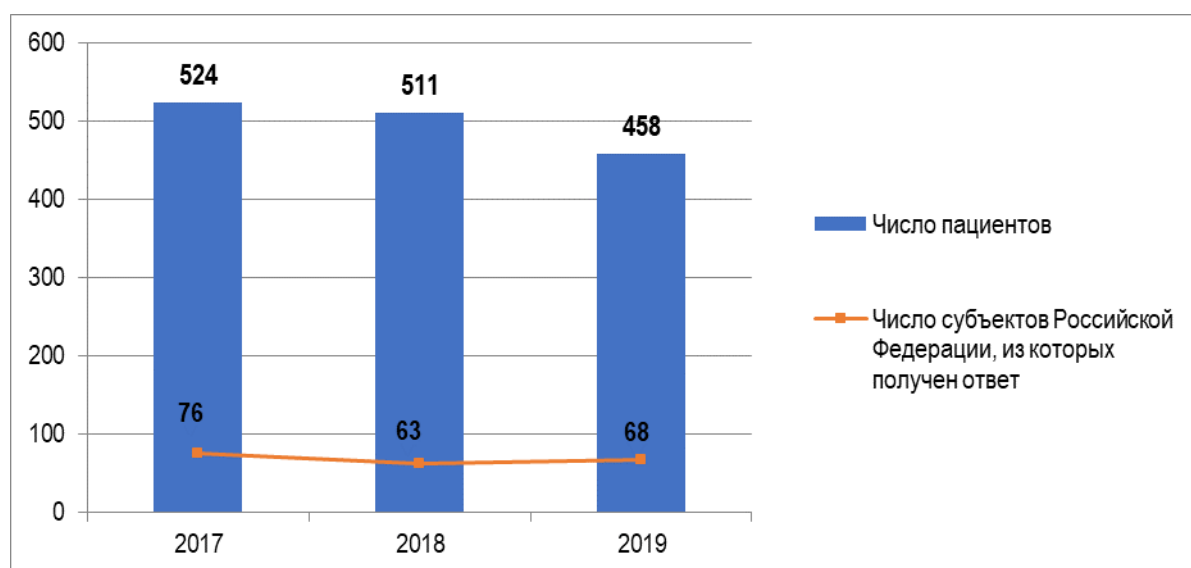


Рисунок 2 – Число субъектов Российской Федерации, из которых был получен ответ, и число пациентов с врожденным буллезным эпидермолизом, 2017-2019 гг.

Самые высокие показатели распространенности ВБЭ в 2017 году наблюдали в Республике Мордовия (19,79 на миллион населения), Тамбовской (15,38), Томской (14,83) областях, Республиках Башкортостан (10,33) и Ингушетия (8,33), и в Приморском крае (8,32).

В 2018 году показатели распространенности ВБЭ, превышающие среднероссийский показатель, отмечены в следующих субъектах Российской

Федерации: Республика Дагестан (50,26), Тамбовская область (15,48), Приморский край (9,93), Тюменская область (8,67), Новгородская область (8,24), Республика Ингушетия (8,20), Костромская область (7,77), Ульяновская область (6,42).

В 2019 году показатели распространенности ВБЭ, превышающие среднероссийский показатель, отмечены в следующих субъектах Российской Федерации: Республика Мордовия (20,11), Республика Калмыкия (14,67), Томская область (12,07), Ханты-Мансийский автономный округ (9,02), Астраханская область (8,88), Ярославская область (7,94), Тюменская область (7,90), Костромская область (7,85), а также в 4 регионах Дальневосточного федерального округа: Приморском крае (12,09), Республиках Бурятия (9,15) и Саха (Якутия) (8,27), Магаданской области (7,08).

На протяжении периода 2017-2019 гг. не были зарегистрированы случаи врожденного буллезного эпидермолиза в городе Севастополе, Республиках Алтай и Тыва, а также в Еврейской автономной области (таблица 4).

Таблица 4 – Распространенность врожденного буллезного эпидермолиза в субъектах Российской Федерации в 2017-2019 гг.

Субъекты Федерации	Число случаев заболеваний врожденным буллезным эпидермолизом					
	2017		2018		2019	
	всего	на миллион населения	всего	на миллион населения	всего	на миллион населения
Российская Федерация	524	4,24	511	5,29	458	4,44
Центральный федеральный округ	102	3,80	75	4,86	84	3,43
Белгородская область	5	3,22	НД	--	6	3,88
Брянская область	0	0,0	НД	--	2	1,67
Владимирская область	5	3,60	7	5,08	6	4,39
Воронежская область	8	3,43	10	4,28	10	4,30
Ивановская область	3	2,93	3	2,96	3	2,99
Калужская область	2	1,97	5	4,94	5	4,95
Костромская область	5	7,71	5	7,77	5	7,85
Курская область	6	5,34	6	5,38	6	5,42
Липецкая область	3	2,59	2	1,74	1	0,87
Московская область	21	2,83	НД	--	18	2,37
Орловская область	2	2,65	2	2,68	2	2,70

Субъекты Федерации	Число случаев заболеваний врожденным буллезным эпидермолизом					
	2017		2018		2019	
	всего	на миллион населения	всего	на миллион населения	всего	на миллион населения
Рязанская область	7	6,21	НД	--	НД	--
Смоленская область	1	1,05	1	1,05	3	3,18
Тамбовская область	16	15,38	16	15,48	1	0,98
Тверская область	3	2,31	3	2,34	НД	--
Тульская область	7	4,67	7	4,69	6	4,06
Ярославская область	8	6,30	8	6,32	10	7,94
город Москва	НД	--	НД	--	НД	--
Северо-Западный федеральный округ	63	4,55	57	4,09	65	4,89
Республика Карелия	НД	--	2	3,21	2	3,24
Республика Коми	3	3,53	4	4,76	1	1,20
Архангельская область без автономного округа	5	4,46	5	4,50	5	4,54
Ненецкий автономный округ	НД	--	0	0,0	НД	--
Вологодская область	7	5,91	7	5,95	7	5,99
Калининградская область	5	5,07	1	1,01	6	5,99
Ленинградская область	4	2,23	4	2,21	7	3,79
Мурманская область	2	2,64	2	2,65	2	2,67
Новгородская область	2	3,27	5	8,24	3	5,00
Псковская область	0	0,0	0	0,0	НД	--
город Санкт - Петербург	35	6,63	27	5,04	32	5,94
Южный федеральный округ	51	3,10	28	2,03	33	3,71
Республика Адыгея	0	0,0	НД	--	0	0,0
Республика Калмыкия	1	3,60	НД	--	4	14,67
Республика Крым	2	1,05	НД	--	НД	--
Краснодарский край	20	3,59	2	0,36	НД	--
Астраханская область	5	4,91	5	4,91	9	8,88
Волгоградская область	8	3,16	8	3,17	8	3,19
Ростовская область	15	3,54	13	3,08	12	2,86
город Севастополь	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Северо-Кавказский федеральный округ	19	3,57	175	22,10	23	4,32
Республика Дагестан	НД	--	154	50,26	НД	--
Республика Ингушетия	4	8,33	4	8,20	1	2,01
Кабардино-Балкарская Республика	2	2,31	2	2,31	2	2,31
Карачаево-Черкесская Республика	0	0,0	НД	--	0	0,0
Республика Северная Осетия - Алания	2	2,84	4	5,70	4	5,72
Чеченская Республика	НД	НД	НД	--	НД	--
Ставропольский край	11	3,92	11	3,93	16	5,72

Субъекты Федерации	Число случаев заболеваний врожденным буллезным эпидермолизом					
	2017		2018		2019	
	всего	на миллион населения	всего	на миллион населения	всего	на миллион населения
Приволжский федеральный округ	165	5,57	57	3,07	105	4,95
Республика Башкортостан	42	10,33	НД	--	НД	--
Республика Марий Эл	5	7,30	НД	--	НД	--
Республика Мордовия	16	19,79	НД	--	16	20,11
Республика Татарстан	19	4,89	НД	--	23	5,90
Удмуртская Республика	12	7,91	НД	--	НД	--
Чувашская Республика	4	3,24	5	4,06	7	5,72
Пермский край	9	3,42	10	3,81	10	3,83
Кировская область	4	3,10	3	2,34	1	0,79
Нижегородская область	22	6,77	16	4,95	13	4,04
Оренбургская область	3	1,51	2	1,01	НД	--
Пензенская область	1	0,75	1	0,75	2	1,52
Самарская область	12	3,75	2	0,63	17	5,34
Саратовская область	8	3,23	10	4,06	9	3,69
Ульяновская область	8	6,39	8	6,42	7	5,65
Уральский федеральный округ	31	3,87	37	4,61	46	5,73
Курганская область	4	4,68	3	3,55	3	3,59
Свердловская область	НД	--	НД	--	НД	--
Тюменская область без автономного округа	9	6,09	13	8,67	12	7,90
Ханты-Мансийский АО	5	3,04	5	3,02	15	9,02
Ямало-Ненецкий АО	1	1,87	0	0,0	0	0,0
Челябинская область	12	3,43	16	4,58	16	4,60
Сибирский федеральный округ	54	3,23	42	3,68	48	3,36
Республика Алтай	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Республика Тыва	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Республика Хакасия	НД	--	1	1,86	НД	--
Алтайский край	7	2,96	НД	--	НД	--
Красноярский край	2	0,70	10	3,48	4	1,39
Иркутская область	3	1,25	НД	--	3	1,25
Кемеровская область	8	2,95	11	4,08	11	4,11
Новосибирская область	9	3,24	11	3,94	10	3,58
Омская область	9	4,56	9	4,59	7	3,60
Томская область	16	14,83	НД	--	13	12,07
Дальневосточный федеральный округ	39	5,73	40	5,31	54	7,01
Республика Бурятия	4	4,06	4	4,06	9	9,15
Республика Саха (Якутия)	4	4,15	4	4,15	8	8,27
Забайкальский край	НД	--	2	1,86	2	1,88
Камчатский край	НД	--	0	0,0	0	0,0
Приморский край	16	8,32	19	9,93	23	12,09

Субъекты Федерации	Число случаев заболеваний врожденным буллезным эпидермолизом					
	2017		2018		2019	
	всего	на миллион населения	всего	на миллион населения	всего	на миллион населения
Хабаровский край	6	4,50	7	5,27	7	5,30
Амурская область	6	7,48	4	5,01	4	5,04
Магаданская область	1	6,87	НД	--	1	7,08
Сахалинская область	2	4,10	НД	--	НД	--
Еврейская автономная область	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Чукотский автономный округ	НД	--	НД	--	0	0,00

*НД – нет данных.

На основании полученных данных показатель распространенности врожденного буллезного эпидермолиза в Российской Федерации, согласно оценке, в 2017 году - 4,24 на миллион населения, в 2018 году – 5,29 на миллион населения, в 2019 году - 4,44 на миллион населения (рисунок 3).

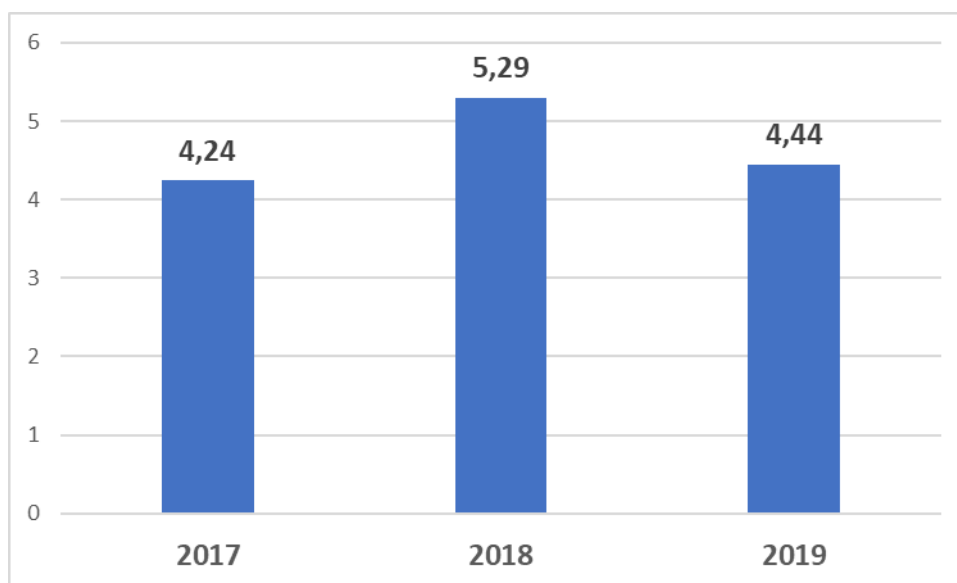


Рисунок 3 – Распространенность врожденного буллезного эпидермолиза среди всего населения Российской Федерации, 2017–2019 гг.

Самые высокие показатели распространенности ВБЭ среди федеральных округов на протяжении трехлетнего периода регистрировали в Дальневосточном, Уральском и Северо-Западном федеральных округах. Высокий показатель

распространенности ВБЭ в Северо-Кавказском федеральном округе в 2018 году обусловлен крайне высокой распространенностью заболевания в Республике Дагестан (рисунок 4).

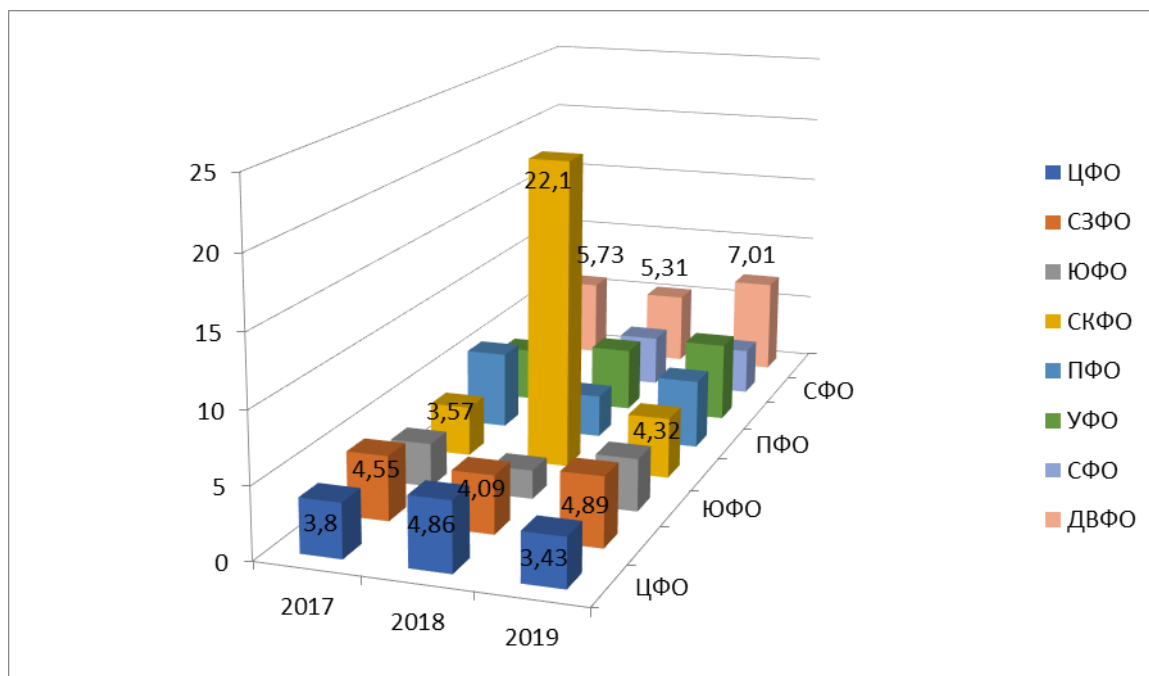


Рисунок 4 – Оценка распространенности врожденного буллезного эпидермолиза в федеральных округах в 2017-2019 гг. (на миллион населения)

В 2017 году в 73 субъектах Российской Федерации был зарегистрирован 31 случай врожденного буллезного эпидермолиза с диагнозом, установленным впервые в жизни, из них 14 случаев (45,1%) были зарегистрированы среди детей первого года жизни.

Заболеваемость врожденным буллезным эпидермолизом всего населения Российской Федерации в 2017 году, согласно оценке, составила 0,25 на миллион населения. Заболеваемость врожденным буллезным эпидермолизом среди детей первого года жизни составила 8,93 на миллион живорожденных.

В 2018 году в 63 субъектах РФ был зарегистрирован 21 случай врожденного буллезного эпидермолиза с впервые в жизни установленным диагнозом, из них среди детей первого года жизни - 14. Соответствующие показатели заболеваемости составили 0,22 на миллион всего населения, при расчете на

миллион живорожденных – 12,8.

В 2019 году в 69 субъектах РФ было зарегистрировано 19 случаев врожденного буллезного эпидермолиза с впервые в жизни установленным диагнозом, из них среди детей первого года жизни – 5 (26%). Показатель заболеваемости был равен 0,18 на миллион всего населения, при расчете на миллион живорожденных – 4,58 (Рисунок 5).

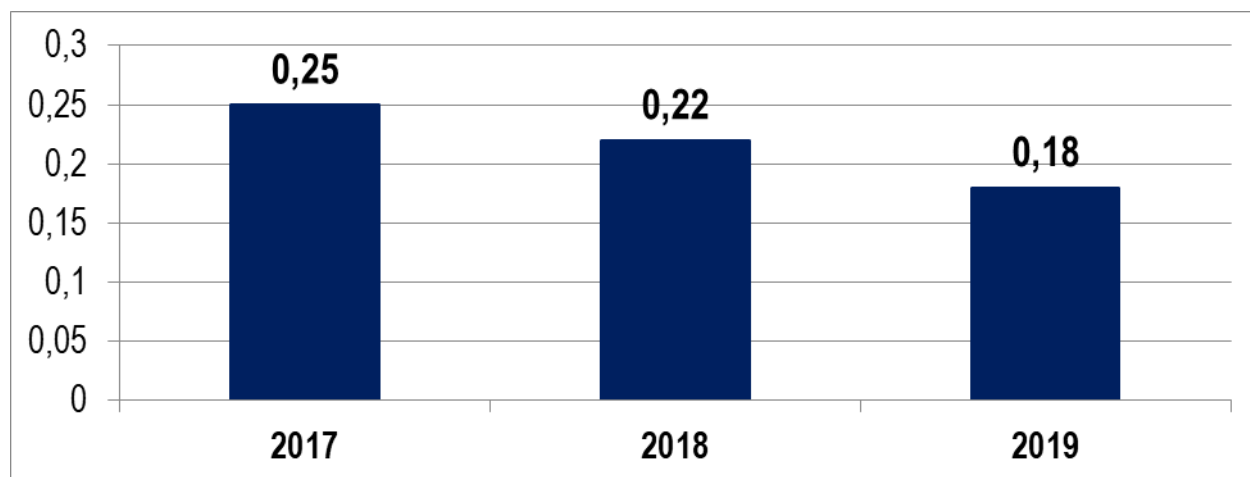


Рисунок 5 – Заболеваемость врожденного буллезного эпидермолиза среди всего населения Российской Федерации, 2017–2019 гг.

В 2017 году были зарегистрированы 5 случаев смерти среди больных врожденным буллезным эпидермолизом, в 2018 году – один случай смерти. Данные о пациентах с ВБЭ, умерших в 2019 году, получены не были.

3.2. Анализ данных по демографическим и медико-социальным характеристикам пациентов и основным характеристикам заболевания

Анализ данных выполнен на выборке из 517 больных в 2017 году, на выборке из 496 больных в 2018 году и на выборке из 452 больных – в 2019 году.

На протяжении трех лет наблюдали приблизительно равное распределение больных ВБЭ по полу: доля пациентов мужского пола составляла 49%, 50% и 52% в 2017, 2018 и 2019 гг. соответственно.

Доля детей в возрасте 0-17 лет среди больных ВБЭ в 2017 году составила 67% (348 детей), в 2018 году – 64% (319 детей), в 2019 году – 64% (290 детей).

В 2017 году средний возраст больных (полных лет на конец 2017 года) составил $14,8 \pm 12,7$ лет, медиана – 11 лет, мода – 3 года. В 2018 году средний возраст пациентов составил $16,5 \pm 14,0$ лет, медиана возраста – 11 лет, мода – 9 лет. На конец 2019 года средний возраст пациентов составил $16,5 \pm 13,8$ лет, медиана возраста – 12 лет, мода – 8 лет.

Динамика распределения пациентов с ВБЭ по подтипу заболевания согласно данным за 2017-2019 гг. представлена на рисунке 6. Большое число пациентов с отсутствующими данными по подтипу ВБЭ в 2018 году обусловлено отсутствием данных по пациентам с ВБЭ в Республике Дагестан.

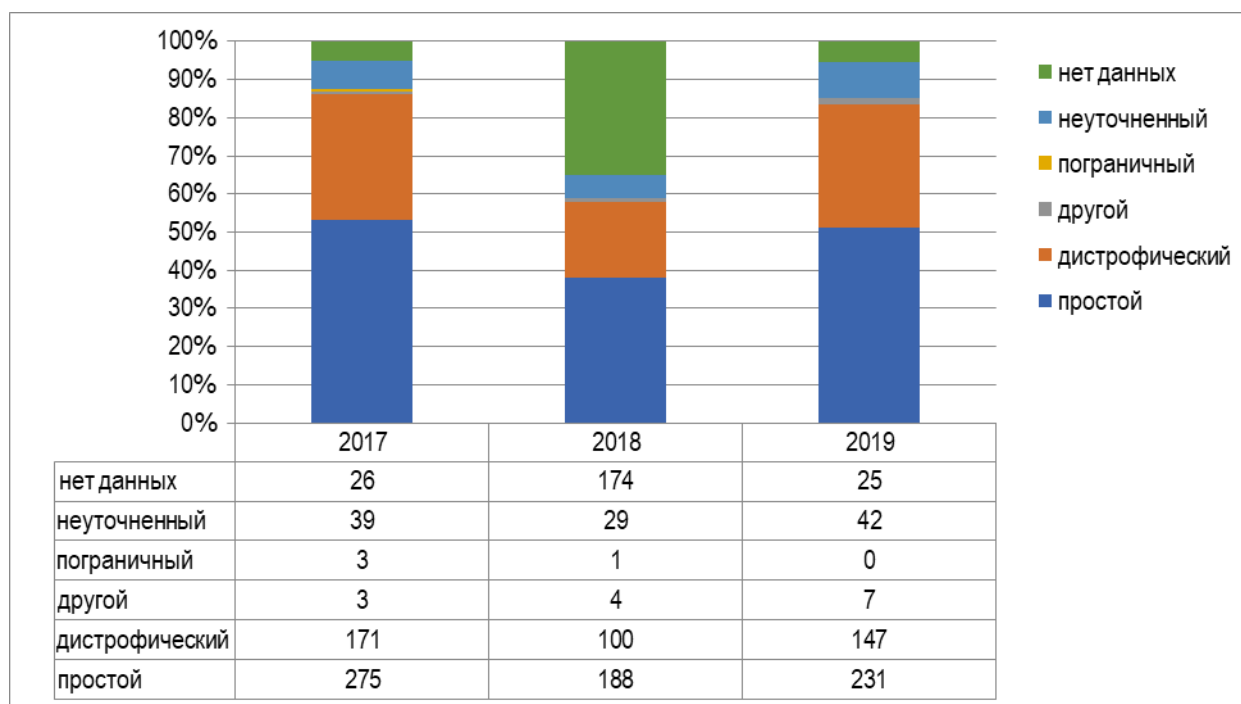


Рисунок 6 – Распределение пациентов с врожденным буллезным эпидермолизом по подтипу заболевания, 2017-2019 гг.

У большей части пациентов, 216 (48%) заболевание началось с рождения. На первом месяце жизни заболевание развилось у 25 (6%) пациентов. У 74 (16%) пациентов дебют заболевания произошел в возрасте от 2 до 12 месяцев. В возрасте 1-2 лет ВБЭ проявился у 9 (2%) пациентов, в возрасте 3 - 17 лет – у 39 (9%) пациента. О начале ВБЭ во взрослом возрасте сообщено у 2 пациентов (в

возрасте 22 и 32 лет). Данные о возрасте начала заболевания отсутствуют для 87 (19%) пациентов (рисунок 7).

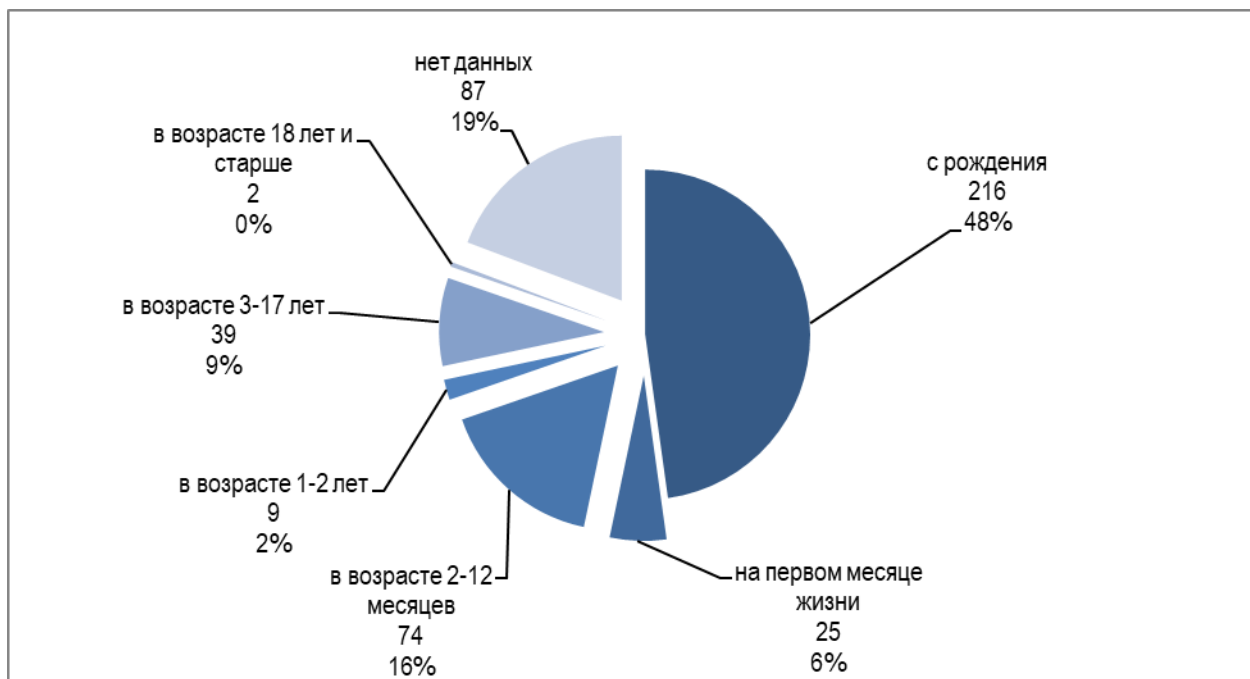


Рисунок 7 – Распределение пациентов с врожденным буллезным эпидермолизом по возрасту начала заболевания, 2019 год (n=452)

Диагноз врожденного буллезного эпидермолиза был установлен с рождения 122 пациентам (27%). Кроме того, на первом году жизни диагноз был установлен еще 134 (30%) пациентам, на втором году жизни – 28 (6%) пациентам. В возрасте 2 лет диагноз ВБЭ был установлен 15 (3%) пациентам, в возрасте 3 лет – 19 (4%) пациентам, в возрасте 4 лет – 9 (2%) пациентам, в возрасте 5 лет – 11 (2%) пациентам (рисунок 8).

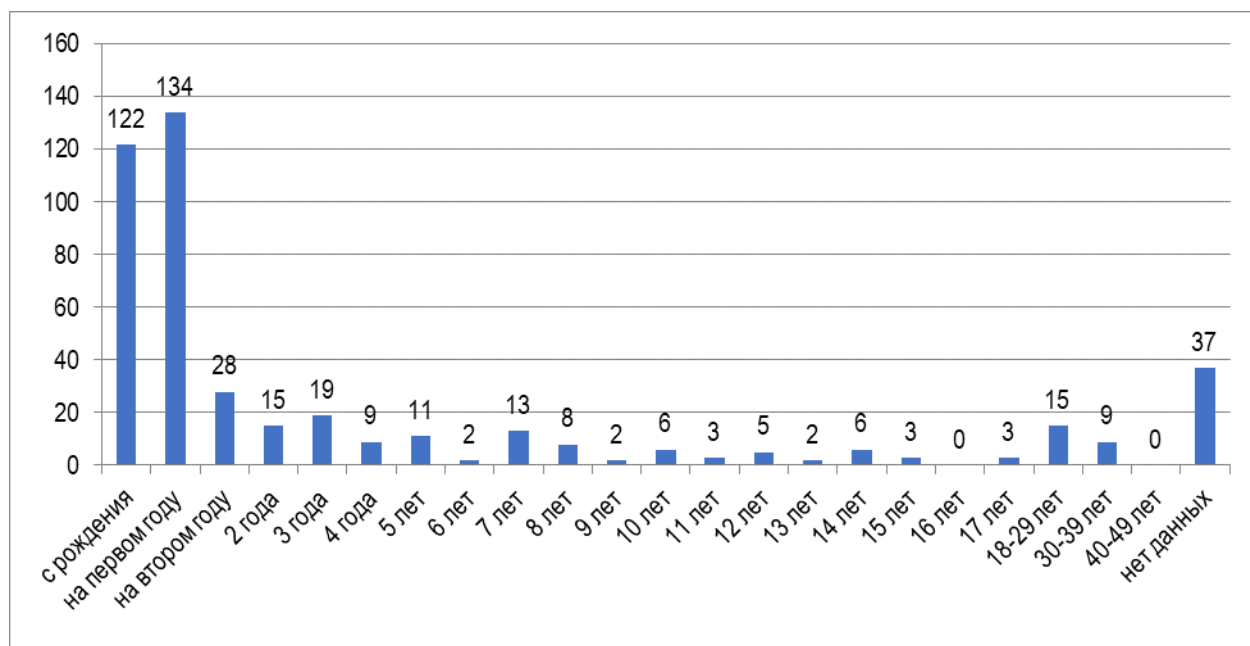


Рисунок 8 – Распределение пациентов с врожденным буллезным эпидермолизом по возрасту установления диагноза, 2019 год (n=452)

Большинству пациентов (379 пациентов, 84%) диагноз врожденного буллезного эпидермолиза был установлен с участием врача-дерматовенеролога, из них единолично врачом-дерматовенерологом – 316 (70%) пациентам, совместно с врачами других специальностей – 63 (14%) пациентам. Врачом-педиатром диагноз ВБЭ был установлен 73 (16%) пациентам, в том числе единолично – 37 (8%) пациентам, совместно с врачами других специальностей – 36 (8%) пациентам. При участии врача-генетика диагноз ВБЭ был установлен 63 (14%) пациентам, в том числе только врачом-генетиком – 16 (4%) пациентам. У 10 пациентов (2%) в установлении диагноза ВБЭ принимали участие врачи иных специальностей, в том числе, неонатолог (4 пациента), оториноларинголог (4 пациента), гастроэнтеролог (2 пациента), анестезиолог-реаниматолог (1 пациент). Данные о специальности врача, установившего диагноз, отсутствуют для 2 пациентов.

В 2019 году лабораторное подтверждение диагноза каким-либо методом было осуществлено только у 88 (19%) пациентов. У 154 (34%) пациентов диагноз был установлен только на основании клинических данных и данных анамнеза. Для 210 (46%) пациентов данные по лабораторному обследованию по поводу ВБЭ

отсутствуют.

Из 88 пациентов, имеющих лабораторное подтверждение диагноза ВБЭ, методом гистологического исследования диагноз подтвержден 24 (5%) пациентам. Методом РИФ диагноз ВБЭ подтвержден 3 (1%) пациентам. Методом генетического исследования диагноз подтвержден 28 (6%) пациентам.

Согласно полученным за 2017 год данным среди 517 больных с врожденным буллезным эпидермолизом инвалидами были признаны 262 (50,7%), не были инвалидами – 214 (41,4%). Для 41 больного (7,9%) данные по инвалидности не были представлены.

Среди детей (348 человека) инвалидность (категория ребенок-инвалид) была установлена 197 пациентам (56,6%). Среди взрослых в возрасте 18 лет и старше (169 пациентов) инвалидность была установлена 65 больным (38,5%), в том числе 1 группа инвалидности – 14 больным (8,5%), 2 группа - 21 больному (12,8%), 3 группа – 27 больным (16,0%). Для 3 больных с установленной инвалидностью данные о группе инвалидности указаны не были (рисунок 9).

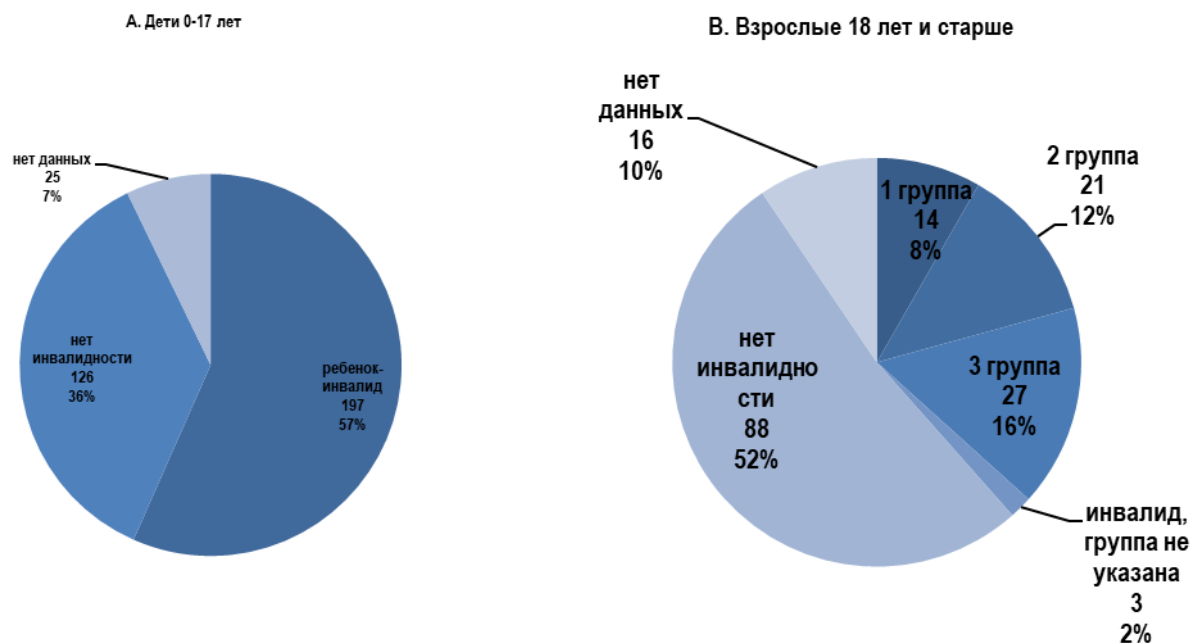


Рисунок 9 – Наличие инвалидности среди больных врожденным буллезным эпидермолизом (А - дети в возрасте 0-17 лет, В – взрослые 18 лет и старше) (данные за 2017 год)

Согласно данным за 2018 год инвалидами были признаны 297 (60%) пациентов, в том числе 205 пациентов детского возраста (категория ребенок-инвалид, 64% всех детей в возрасте 0-17 лет) и 93 пациента в возрасте 18 лет и старше (52% всех пациентов этой возрастной группы). Среди взрослых 1 группа инвалидности установлена 11 пациентам, 2 группа – 30 пациентам, 3 группа – 45 пациентам, а для 7 пациентов данные по группе инвалидности не представлены (рисунок 10).

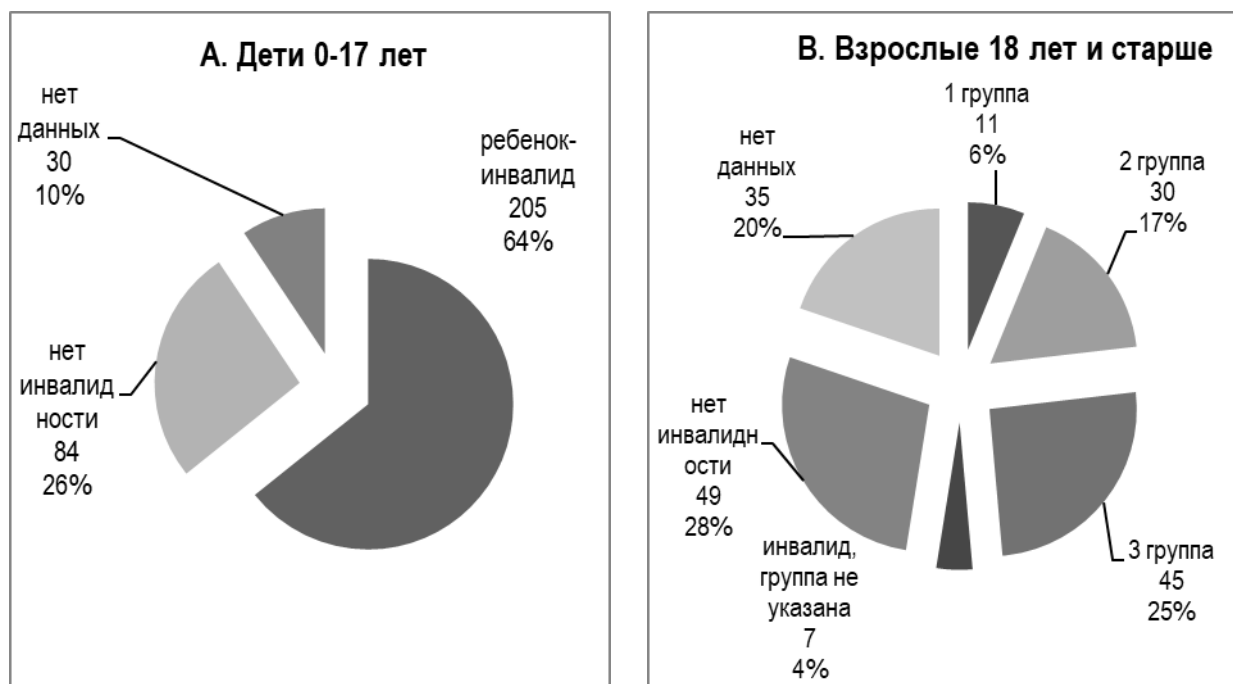


Рисунок 10 – Наличие установленной группы инвалидности у пациентов детского (А) и взрослого (В) возраста (данные за 2018 год)

По данным за 2019 год инвалидами признаны 245 (54%) пациента, в том числе 177 пациентов детского возраста (категория ребенок-инвалид, 61% всех детей в возрасте 0-17 лет) и 68 пациентов в возрасте 18 лет и старше (41% всех пациентов этой возрастной группы). Среди взрослых 1 группа инвалидности установлена 8 пациентам, 2 группа – 21 пациенту, 3 группа – 33 пациентам, для 6 пациентов данные по группе инвалидности не представлены (рисунок 11).

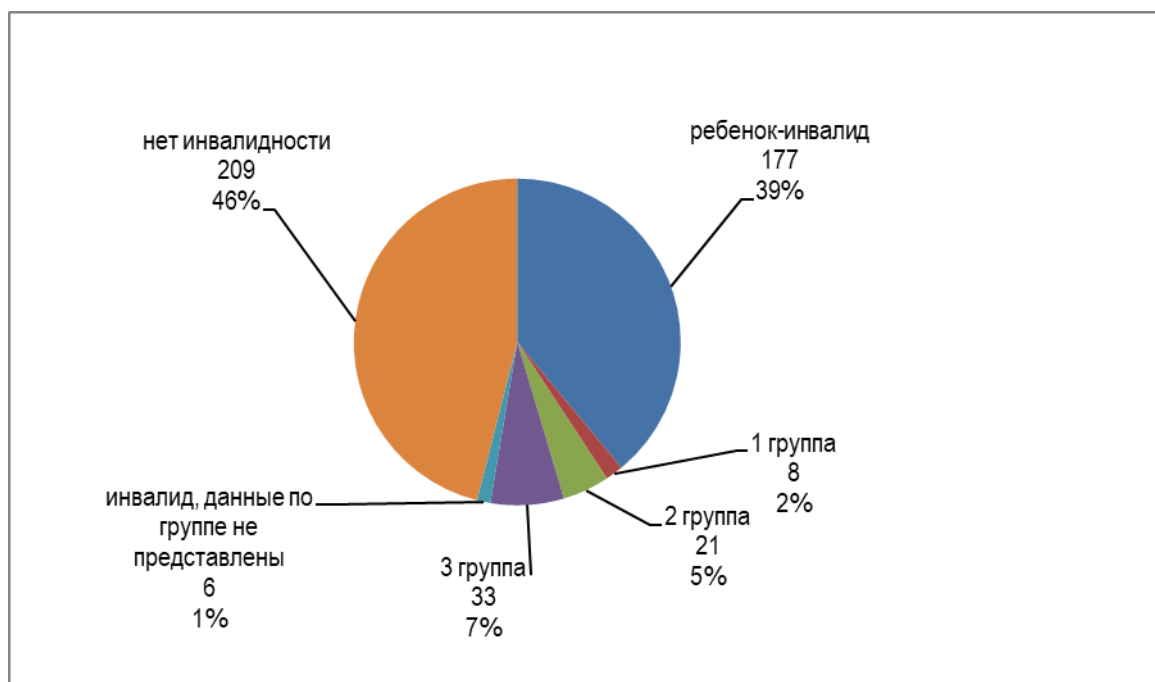


Рисунок 11 – Распределение пациентов с врожденным буллезным эпидермолизом по группам инвалидности (данные за 2019 год)

В качестве причины инвалидности у всех пациентов, за исключением 4 детей и 3 взрослых, был указан ВБЭ.

3.3. Перевязочные средства, применяемые у больных врожденным буллезным эпидермолизом, в 2017-2019 гг.

Получены данные о перевязочных материалах, использовавшихся для перевязок больных врожденным буллезным эпидермолизом в 2017–2019 гг. (Таблица 5). В 2017 г. перевязки проводились 270 (52,2%) больных, в 2018 г. – 286 (57,7%) больных, в 2019 г. – 265 (57,9%) больных врожденным буллезным эпидермолизом.

Таблица 5 - Данные о проведении перевязок больным врожденным буллезным эпидермолизом в 2017–2019 гг.

Показатель	Год		
	2017	2018	2019

Общее число больных	517	496	458
Число больных, которым проводились перевязки	270 (52,2%)	286 (57,7%)	259 (56,6%)
Число больных, которым не проводились перевязки	44 (8,5%)	71 (14,3%)	9 (1,9%)
Число больных, о которых нет данных о проведении перевязок	203 (39,3%)	139 (28,0%)	190 (41,5%)

На конец 2018 года проанализированы данные о перевязочных материалах, использовавшихся для перевязок 286 (57,7%) больных ВБЭ (рисунок 12).

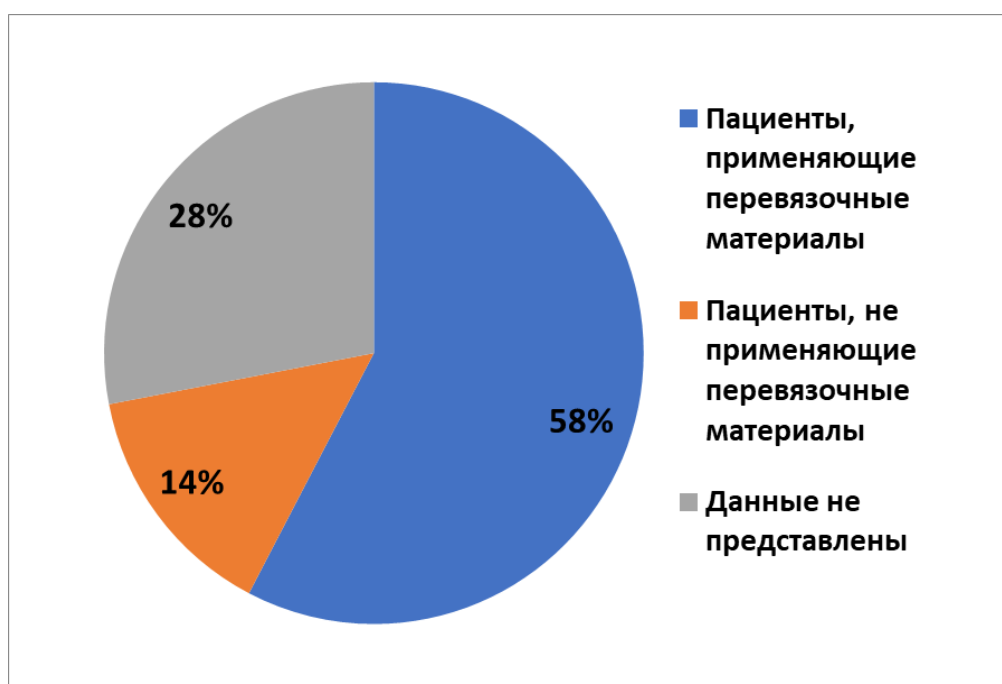


Рисунок 12 - Распределение пациентов с врожденным буллезным эпидермолизом в зависимости от применения перевязочных материалов в 2018 году (n=496)

Для перевязок больных врожденным буллезным эпидермолизом наиболее часто использовались марлевые повязки – 134 (46,9%) больным. Мазевые повязки использовались для перевязок 120 (42,0%) больных. Неадгезивный перевязочный материал использовался для перевязок 113 (39,5%) больных. Согласно представленным данным, 2 (0,7%) больных использовали специальный перевязочный материал. Не использовали перевязочный материал 71 (14,3%) больных ВБЭ. Не представлены данные об использовании перевязочного

материала 139 (28,0%) больными ВБЭ (Рисунок 13). Указан источник финансирования для приобретения перевязочного материала 326 (65,7%) больных ВБЭ. Источником финансирования перевязочного материала чаще всего были собственные средства больного – в 234 (71,8%) случаях. Для приобретения перевязочного материала 72 (22,1%) больных использовались средства благотворительных организаций. 27 (8,3%) больных приобретали перевязочный материал за счет средств федерального бюджета, 24 (7,4%) больных – за счет средств регионального бюджета, 5 (1,5%) больных – за счет средств ОМС. Не указан источник финансирования обеспечения перевязочным материалом 126 (25,4%) больных ВБЭ. Согласно представленным данным, не приобретали перевязочный материал 44 (8,9%) больных ВБЭ.

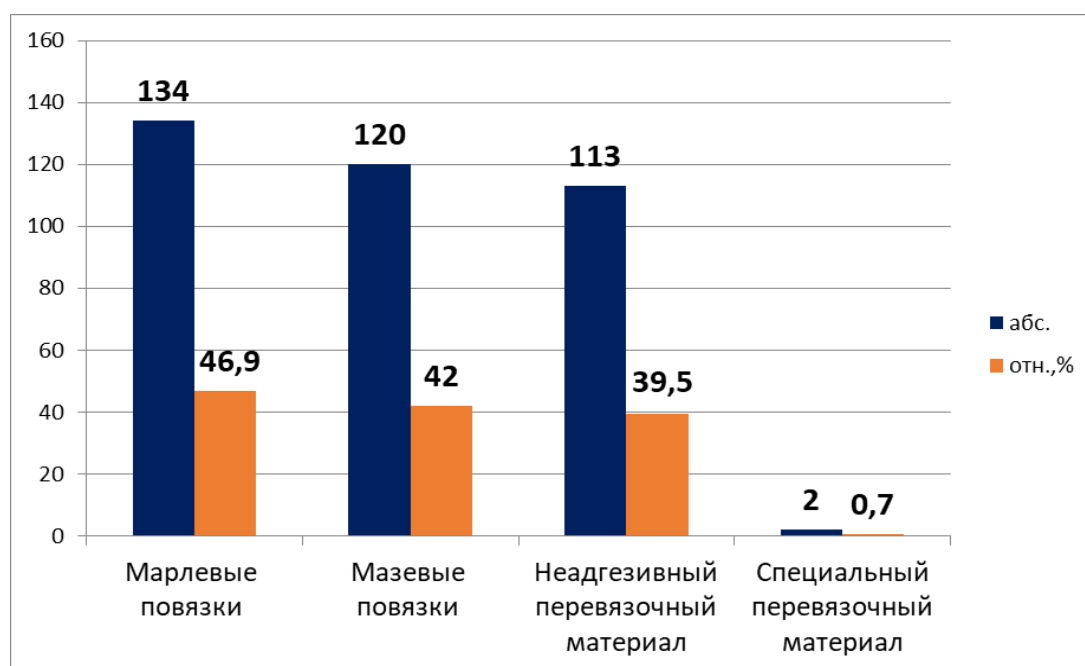


Рисунок 13 – Частота применения различных типов повязок при лечении больных врожденным буллезным эпидермолизом в 2018 году (n=496)

Для перевязок больных врожденным буллезным эпидермолизом использовался перевязочный материал, предназначенный для различных целей (Таблица 6).

Таблица 6 - Перевязочный материал, использовавшийся для перевязок больных ВБЭ в 2019 г.

Цель использования перевязочного материала	Наименование медицинских изделий	Код вида медицинского изделия
преимущественно защита раневой поверхности, уменьшение риска ее травмирования и ускорение заживления ран, в том числе путем создания соответствующей окружающей среды для лечения	Повязка коллагеновая	117110
	Повязка раневая гидрогелевая, стерильная	144790
	Повязка раневая непрлипающая, проницаемая	147420
	Повязка пленочная проницаемая для жидкости	148110
	Повязка с биохимическим воздействием	173530
	Повязка для полрой раны	293250
преимущественно абсорбция избыточного экссудата	Повязка для абсорбции экссудата, негелевая	128790
	Повязка для абсорбции экссудата, с гидрофильным гелем, стерильная	128840
	Повязка раневая непрлипающая, абсорбирующая, стерильная	147410
	Салфетка марлевая тканая, нестерильная	223570
	Рулон ватный, нестерильный	241390
	Салфетка нетканая, стерильная	302910
преимущественно антибактериальное действие	Повязка раневая гидрогелевая, стерильная, антибактериальная	144800
	Повязка с биохимическим воздействием, антибактериальная	173540
	Салфетка антисептическая	227240
абсорбция избыточного экссудата и антибактериальное действие	Повязка первой помощи для абсорбции экссудата, с гидрофильным гелем, антибактериальная	128800
	Повязка для абсорбции экссудата, с гидрофильным гелем, антибактериальная, стерильная	128820
	Повязка для абсорбции экссудата, не гелевая, антибактериальная, стерильная	128830
	Повязка на рану непрлипающая, абсорбирующая, антибактериальная	147390
гемостатическое действие и абсорбирование физиологических жидкостей	Средство гемостатическое неорганического происхождения, стерильное	259910
фиксация наложенного на раневую поверхность перевязочного материала	Лейкопластырь кожный гипоаллергенный	122900
	Рулон марлевый тканый, нестерильный	150130
	Бинт марлевый тканый, стерильный	150140

Цель использования перевязочного материала	Наименование медицинских изделий	Код вида медицинского изделия
	Повязка пленочная полупроницаемая из синтетического полимера, адгезивная, нестерильная	174000
	Бинт трубчатый трикотажный	204150

Наиболее часто для перевязок больных врожденным буллезным эпидермолизом использовался перевязочный материал, предназначенный в основном для защиты раневой поверхности, уменьшения риска ее травмирования и ускорения заживления ран (Таблица 7). Чаще других повязок с этой целью использовалась повязка раневая непрлипающая, проницаемая, которую накладывали в 2017 г. – 88 (32,6%) больным, в 2018 г. – 69 (24,1%) больным, а в 2019 г. – 163 (63,0%) больным врожденным буллезным эпидермолизом.

Таблица 7 - Частота использования перевязочного материала, предназначенного преимущественно для защиты раневой поверхности.

Наименование медицинских изделий	Код вида медицинского изделия	Число больных, которым проведены перевязки		
		2017 г. (n=270)	2018 г. (n=286)	2019 г. (n=259)
Повязка коллагеновая	117110	3 (1,1%)	2 (0,7%)	2 (0,8%)
Повязка раневая гидрогелевая, стерильная	144790	0 (0%)	1 (0,3%)	10 (3,9%)
Повязка раневая непрлипающая, проницаемая	147420	88 (32,6%)	69 (24,1%)	163 (63,0%)
Повязка пленочная проницаемая для жидкости	148110	0 (0%)	3 (1,0%)	15 (5,8%)
Повязка с биохимическим воздействием	173530	2 (0,7%)	0	1 (0,4%)
Повязка для полрой раны	293250	2 (0,7%)	2 (0,7%)	0 (0%)

Наиболее часто используемой повязкой, предназначенной преимущественно для абсорбции избыточного экссудата, была салфетка нетканая, стерильная. В 2017 г. салфетку нетканую, стерильную применяли для перевязок 30 (11,1%) больных, в 2018 г. – 20 (7,0%) больных, а в 2019 г. – 42 (16,2%) больных

врожденным буллезным эпидермолизом (Таблица 8).

Таблица 8 - Частота использования перевязочного материала, предназначенного преимущественно для абсорбции избыточного экссудата.

Наименование медицинских изделий	Код вида медицинского изделия	Число больных, которым проведены перевязки		
		2017 г. (n=270)	2018 г. (n=286)	2019 г. (n=259)
Повязка для абсорбции экссудата, негелевая	128790	1 (0,4%)	0	13 (5,0%)
Повязка для абсорбции экссудата, с гидрофильным гелем, стерильная	128840	0 (0%)	0	3 (1,2%)
Повязка раневая неприлипающая, абсорбирующая, стерильная	147410	1 (0,4%)	0	4 (1,5%)
Салфетка марлевая тканая, нестерильная	223570	2 (0,7%)	2 (0,7%)	2 (0,8%)
Рулон ватный, нестерильный	241390	8 (3,0%)	5 (1,7%)	1 (0,4%)
Салфетка нетканая, стерильная	302910	30 (11,1%)	20 (7,0%)	42 (16,2%)

Среди перевязочного материала, обладающих антибактериальным эффектом, чаще других для перевязок больных врожденным буллезным эпидермолизом использовалась повязка с биохимическим воздействием, антибактериальная (173540). В 2017 г. ее использовали для перевязок 3 (1,1%) больных, в 2018 г. – 3 (1,0%) больных, в 2019 г. – 11 (4,2%) больных (Таблица 9).

Таблица 9 - Частота использования перевязочного материала преимущественно антибактериального действия.

Наименование медицинских изделий	Код вида медицинского изделия	Число больных, которым проведены перевязки		
		2017 г. (n=270)	2018 г. (n=286)	2019 г. (n=259)
Повязка раневая гидрогелевая, стерильная, антибактериальная	144800	2 (0,7%)	0	6 (2,3%)

Наименование медицинских изделий	Код вида медицинского изделия	Число больных, которым проведены перевязки		
		2017 г. (n=270)	2018 г. (n=286)	2019 г. (n=259)
Повязка с биохимическим воздействием, антибактериальная	173540	3 (1,1%)	3 (1,0%)	11 (4,2%)
Салфетка антисептическая	272240	2 (0,7%)	0	0

Среди перевязочного материала, предназначенного для абсорбции избыточного экссудата и антибактериального воздействия, для перевязок больных врожденным буллезным эпидермолизом наиболее часто использовалась повязка на рану неприлипающая, абсорбирующая, антибактериальная (147390). В 2017 г. ее применяли при перевязках 1 (0,4%) больного, в 2018 г. – 1 (0,3%) больного, в 2019 г. – для перевязок 55 (21,2%) больных врожденным буллезным эпидермолизом (Таблица 10).

Таблица 10 - Частота использования перевязочного материала, предназначенного для абсорбции избыточного экссудата и антибактериального воздействия.

Наименование медицинских изделий	Код вида медицинского изделия	Число больных, которым проведены перевязки		
		2017 г. (n=270)	2018 г. (n=286)	2019 г. (n=259)
Повязка первой помощи для абсорбции экссудата, с гидрофильным гелем, антибактериальная	128800	0	0	1 (0,4%)
Повязка для абсорбции экссудата, с гидрофильным гелем, антибактериальная, стерильная	128820	1 (0,4%)	0	2 (0,8%)
Повязка для абсорбции экссудата, не гелевая, антибактериальная, стерильная	128830	0	0	1 (0,4%)
Повязка на рану неприлипающая, абсорбирующая, антибактериальная	147390	1 (0,4%)	1 (0,3%)	55 (21,2%)

Обладающее гемостатическим действием и способностью к абсорбированию физиологических жидкостей, средство гемостатическое неорганического происхождения, стерильное (код вида медицинского изделия – 259910), в 2017 г. не использовалось для перевязок больных врожденным буллезным эпидермолизом, в 2018 г. использовалось при перевязках 1 (0,3%) больного врожденным буллезным эпидермолизом, в 2019 г. применялось в перевязках 7 (2,7%) больных.

Для закрепления перевязочного материала согласно представленным данным в 2017–2019 гг. наиболее часто использовались бинт трубчатый трикотажный (204150), рулон марлевый тканый, нестерильный (150130) и бинт марлевый тканый, стерильный (150140) (Таблица 11). Бинт трубчатый трикотажный в 2017 г. использовался для фиксации повязок у 16 (5,9%) больных, в 2018 г. – у 18 (6,3%) больных, в 2019 г. – у 117 (45,2%) больных врожденным буллезным эпидермолизом. Рулон марлевый тканый, нестерильный в 2017 г. применялся при перевязках 63 (23,3%) больных, в 2018 г. – 54 (18,9%) больных, в 2019 г. – 113 (43,6%) больных врожденным буллезным эпидермолизом. Бинт марлевый тканый, стерильный в 2017 г. использовался при перевязках 66 (24,4%) больных, в 2018 г. – 133 (46,5%) больных, в 2019 г. – 89 (34,4%) больных врожденным буллезным эпидермолизом.

Таблица 11 - Частота использования перевязочного материала, предназначенного для фиксации материала, наложенного на раневую поверхность.

Наименование медицинских изделий	Код вида медицинского изделия	Число больных, которым проведены перевязки		
		2017 г. (n=270)	2018 г. (n=286)	2019 г. (n=259)
Лейкопластырь кожный гипоаллергенный	122900	0	1 (0,3%)	4 (1,5%)
Рулон марлевый тканый, нестерильный	150130	63 (23,3%)	54 (18,9%)	113 (43,6%)
Бинт марлевый тканый, стерильный	150140	66 (24,4%)	133 (46,5%)	89 (34,4%)

Наименование медицинских изделий	Код вида медицинского изделия	Число больных, которым проведены перевязки		
		2017 г. (n=270)	2018 г. (n=286)	2019 г. (n=259)
Повязка пленочная полупроницаемая из синтетического полимера, адгезивная, нестерильная	174000	0	1 (0,3%)	2 (0,8%)
Бинт трубчатый трикотажный	204150	16 (5,9%)	18 (6,3%)	117 (45,2%)

Отмечено также, что были представлены данные об использовании для перевязок больных врожденным буллезным эпидермолизом перевязочных средств без их характеристики. В 2017 г. для перевязок 88 (32,6%) больных использовались мазовые перевязочные средства. Мазевые перевязочные средства принялись для перевязок 96 (33,6%) больных в 2018 г. Данных об использовании мазевых перевязочных средств в 2019 г. не представлено.

Представлены данные об использовании неадгезивных перевязочных материалов без указания их характеристики, в том числе об использовании повязок с указанием только группового наименования, не позволяющего определить вид медицинского изделия согласно Реестру медицинских изделий. В 2017 г. неадгезивные перевязочные материалы без указания их характеристики использовали для перевязок 104 (38,5%) больных, в 2018 г. – 56 (19,6%) больных, в 2019 г. – 21 (8,1%) больных.

Не проводились перевязки в 2017 г. 44 (8,5%) больным, в 2018 г. – 71 (14,3%) больным, в 2019 г. – 9 (1,9%) больным врожденным буллезным эпидермолизом.

Не представлены данные об использовании перевязочного материала в 2017 г. – 203 (39,3%) больными, в 2018 г. – 139 (28,0%) больными, в 2019 г. – 190 (41,5%) больными врожденным буллезным эпидермолизом.

3.4. Клиническая характеристика больных врожденным буллезным эпидермолизом

Под наблюдением находились 34 пациента с врожденным буллезным эпидермолизом в возрасте от 10 лет до 51 года, в среднем – $28,32 \pm 11,85$. На основании клинического обследования и анализа анамнестических данных у 7 (25,8%) пациентов был установлен диагноз тяжелого рецессивного дистрофического буллезного эпидермолиза (РДБЭ), у 10 (29,42%) диагностирован среднетяжелый РДБЭ, у 2 (5,88%) – ДДБЭ, у 1 – претибиальный ДБЭ (2,94%). Локализованный ПгрБЭ выявлен в одном случае (2,94%). Среди клинических подтипов ПБЭ преобладал локализованный подтип, установленный 8 (23,53%) пациентам. 4-ым больным установили генерализованный (2 больных, 5,88%) и герпетиформный подтипы (2 больных, 5,88%). Синдром Киндлер выставлен 1-й больной (2,94%) (Рисунок 14).

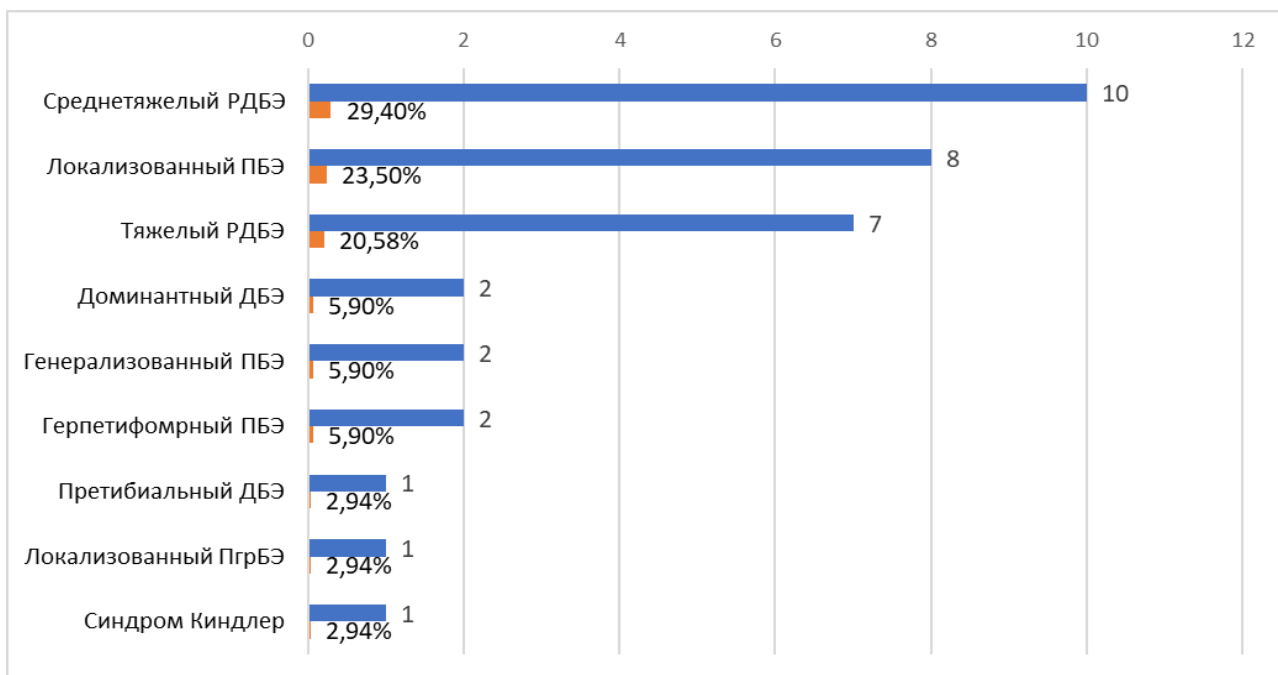


Рисунок 14 – Клинические диагнозы, установленные больным ВБЭ, n=34

Манифестация заболевания у больных со всеми клиническими подтипами ВБЭ наблюдалась с рождения или в первые месяцы жизни. В частности, у 2 пациентов с тяжелым РДБЭ в первые дни после рождения на коже кистей и стоп

отмечались пятна, которые затем трансформировались в пузыри. У одного больного тяжелым РДБЭ пузыри и эрозии возникли на коже красной каймы губ на второй день жизни.

У больных среднетяжелым РДБЭ первые высыпания появились на коже туловища и конечностей после механического воздействия на первых неделях жизни. У 1 больной среднетяжелым генерализованным РДБЭ при рождении на коже стоп имелись обширные эрозии с дальнейшим распространением патологического процесса на коже туловища и слизистых оболочек полости рта и пищевода.

Пациентка с претибиальным РДБЭ отметила появление первых высыпаний на коже голеней с последующим распространением на кожу предплечий. У больных среднетяжелым генерализованным ПгрБЭ сразу после рождения появились первые эрозивные элементы в области нижних конечностей. У больного локализованным ПгрБЭ эрозии впервые появились в 7-8 месяцев на коже пальцев кистей. После года начали появляться на слизистой оболочке полости рта, когда начал принимать твердую пищу. У больных ДДБЭ высыпания впервые появились при рождении, на 2 месяце жизни и в возрасте 2 лет и 7 месяцев.

Первые высыпания у пациентки с синдромом Киндлер возникли сразу после рождения. У пациентов с локализованным и герпетиформным ПБЭ пузыри и эрозии. Дебют заболевания у больных с локализованным, герпетиформным и генерализованным ПБЭ наблюдался в первые дни или месяцы жизни. Первые высыпания локализовались на коже ладоней и подошв.

Наследование всех случаев герпетиформного, генерализованного и локализованного ПБЭ заболевания прослеживалось в 2-5 поколениях. Доминантное наследование устанавливали в случае наличия заболевания у родителей или у детей.

Пациентка с синдромом Киндлер родилась в многодетной семье, в которой из 10 детей трое страдают синдромом Киндлер. Два брата с проявлениями ВБЭ с рождения умерли в возрасте 40 и 30 дней. Непосредственную причину смерти установить не удалось, вскрытия не проводилось. У родителей проявлений кожных заболеваний не было.

У пациентов с различными клиническими подтипами ДДБЭ, ПгрБЭ и РДБЭ семейный анамнез не отягощен.

У больных локализованным и герпетиформным ПБЭ в клинической картине преобладали единичные пузыри и эрозий, преимущественно локализующиеся на коже ладоней (Рисунок 15 А) и подошв (Рисунок 15 Б, В). На коже ладоней и подошв также визуализировались очаги гиперкератоза, дистрофические изменения ногтевых пластин кистей и стоп. Однако, у пациентов с герпетиформным ПБЭ пузыри были склонны к группировке.

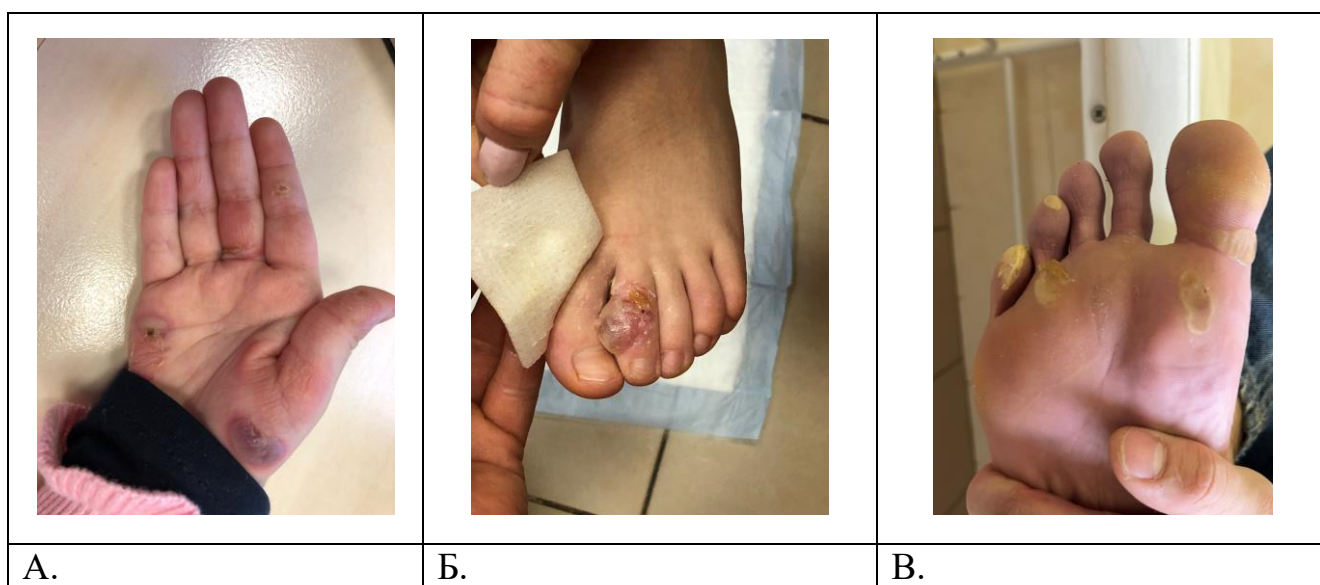


Рисунок 15 – Больной Д., 21 год. Локализованный ПБЭ. Пузыри на коже ладонной поверхности кистей (А) и подошвенной поверхности стоп (Б, В)

У больных тяжелым РДБЭ наблюдалось генерализованное поражение кожного покрова (Рисунок 16 А, Б) и слизистой оболочки полости рта (Рисунок 16 В).

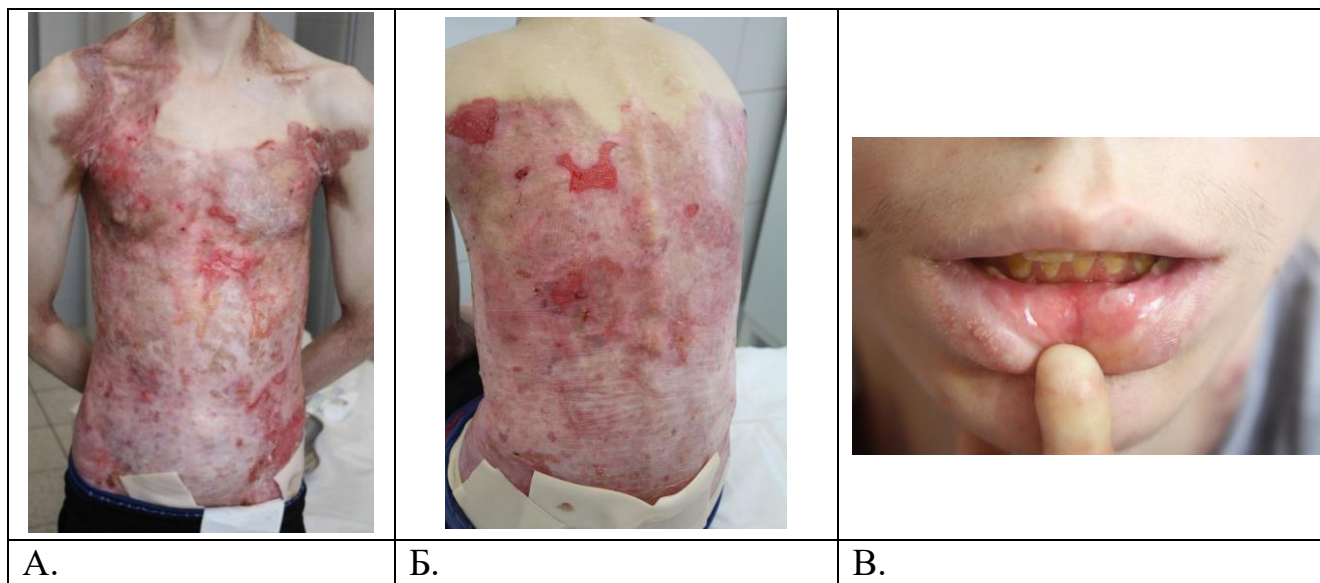


Рисунок 16 – Больной Ж., 21 год. Тяжелый РДБЭ. Генерализованное поражение кожного покрова (А, Б) и единичные высыпания на слизистой оболочке полости рта (В)

На коже имелись множественные эрозивные дефекты и пузыри, и единичные эрозии на слизистой оболочке ротовой полости. Эрозии с блестящим бледно-розовым и ярко-красным дном, с четкими границами, округлых, овальных и неправильных очертаний располагались на коже волосистой части головы, шеи, туловища, верхних и нижних конечностей на фоне эритемы и обширных очагов рубцовой атрофии. На поверхности эрозий визуализировался серозный, гнойный и геморрагический экссудат, преимущественно в умеренном или обильном количестве. На поверхности ряда эрозий имелись грануляции. У всех больных тяжелым РДБЭ были выявлены анонихии кистей и стоп (Рисунок 17 А,Б) или сохранившиеся единичные дистрофичные ногтевые пластины.



Рисунок 17 – Больной Т., 17 лет. Тяжелый РДБЭ. Анонихии кистей (А) и стоп (Б)

У больных среднетяжелым РДБЭ высыпания носили менее распространенный характер, локализовались на коже туловища, верхних и нижних конечностей. Очаги рубцовой атрофии на коже кистей, стоп, передней поверхности голеней, туловища. Эрозии локализовались на слизистой оболочке полости рта. Ногтевые пластины кистей и стоп либо отсутствовали или были изменены по типу ониходистрофии. У больных также отмечалось кариозное поражение зубов, гипоплазия эмали и рубцовая алопеция в одном случае среднетяжелого генерализованного РДБЭ.

У пациентки с претибиальным РДБЭ высыпания были ограничены только кожей разгибательной поверхности голени и, в меньшей степени, предплечий. Пузыри и эрозии локализовались исключительно в очагах рубцовой атрофии и эритемы. Ногтевые пластинки были изменены по дистрофическому типу на I пальцах обеих стоп.

У больной ДДБЭ высыпания представлены единичными эрозиями и пузырями с геморрагическим содержимым на коже туловища и верхних и нижних конечностей, часть из которых сопровождалась явлениями вторичного инфицирования. Ногтевые пластины стоп изменены по типу ониходистрофии.

У больного локализованным ПгрБЭ высыпания преимущественно локализовались на коже верхних и нижних конечностей. На коже голеней – единичные пузыри и эрозии, которые эпителизируются с исходом в атрофичные рубцы. Ониходистрофия ногтевых пластин кистей и стоп.

У больной синдромом Киндлер в клинической картине преобладала пойкилодермия, имелись единичные эрозии на коже и слизистой оболочке ротовой полости.

За весь период наблюдения у 11 (24,4%) больных ВБЭ, среди которых было 2 больных среднетяжелым РДБЭ, 4 – тяжелым РДБЭ, 1 – ДДБЭ, 3 – среднетяжелым ПгрБЭ и 1 пациентка с синдромом Киндлер, были выявлены множественные эрозивно-язвенные дефекты кожи с серозным, серозно-геморрагическим, геморрагическим и гнойным экссудатом в незначительном, умеренном и обильном объеме.

Из всех дефектов площадь 98 эрозий, выбранных для лечения, составила от 0,5 см² до 300 см², в среднем – $13,04 \pm 31,85$ см². Длительность их существования – от 1 дня до 3 лет, в среднем – $47,38 \pm 149,70$ сут.

Площадь 52-х эрозий без нарушения сроков заживления составила от 0,5 см² до 300 см², в среднем – $15,59 \pm 42,84$ см². Длительность существования эрозий на коже варьировала от 1 до 29 суток, в среднем – $8,64 \pm 7,23$ сут.

Площадь 46 длительно не заживающих эрозий составила от 0,7 см² до 45 см², в среднем – $10,15 \pm 9,56$ см². Длительность варьировала от 1 месяца до 3 лет, в среднем – $91,02 \pm 211,14$ сут. Субъективные ощущения в области таких эрозий отсутствовали, однако у 1 пациентки с синдромом Киндлер, в области эрозии отмечалась болезненность.

3.4.1. Осложнения, выявленные у больных ВБЭ

В ходе клинического обследования у больных были выявлены осложнения ВБЭ. Осложнения выявлены только у пациентов со среднетяжелым и тяжелым РДБЭ, доминантным ДБЭ, среднетяжелым ПгрБЭ и синдромом Киндлер.

Частичная/полная адентия диагностирована у 18 (52,94%) пациентов. Микростомия, анкилоглоссия, псевдосиндактилии и контрактуры суставов кистей и стоп наблюдались у 19 (55,88%) больных. Контрактуры локтевых и коленных суставов выявлены у 3 (8,82%) пациентов с тяжелым РДБЭ. Деформация кистей по типу «варежки» имелись только у 2 (5,88%) пациентов с тяжелым РДБЭ. Стеноз пищевода выявлен у 14 (41,17%) больных. У 4 (11,76%) пациентов с тяжелым РДБЭ диагностирован плоскоклеточный рак кожи (Рисунок 18).

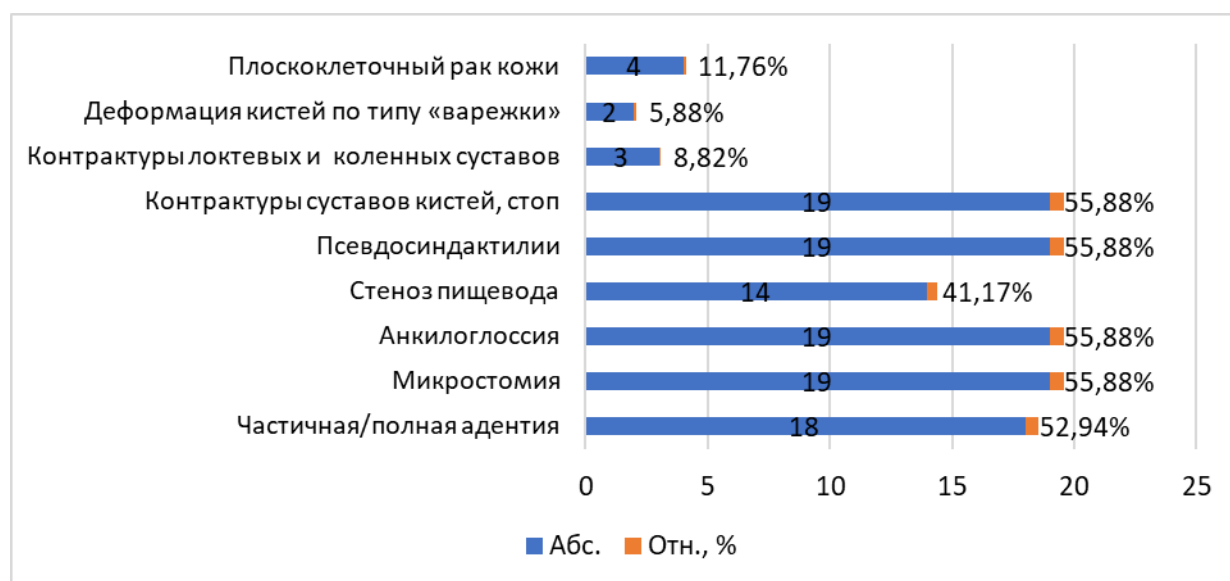


Рисунок 18 – Осложнения, выявленные у больных РДБЭ, доминантным ДБЭ, среднетяжелым ПгрБЭ и синдромом Киндлер (n=34)

3.4.2. Плоскоклеточный рак кожи, выявленный у больных тяжелым РДБЭ

У 4 больных тяжелым РДБЭ в возрасте 27, 31, 31 и 33 лет были выявлены очаги плоскоклеточного рака кожи, локализующиеся на месте длительно не заживающих эрозивно-язвенных дефектов кожи.

У больной тяжелым РДБЭ, 33 лет, на коже передней поверхности левой голени и в области медиального края правой стопы были выявлены 2 очага плоскоклеточного рака. На коже передней поверхности левой голени – эрозия округлых очертаний с чистым дном желтовато-розового цвета размером 3х3см. Края эрозии возвышаются над уровнем неповрежденной кожи. Выраженность

экссудации в области данной эрозии минимальная. Экссудат серозного характера. По периферии эрозии имеется венчик гиперемии синюшного цвета в диаметре 0,3см. Пальпация периферических тканей болезненная (Рисунок 19 А). На коже в области медиального края правой стопы визуализируется образование округлых очертаний размером 2х3см, возвышающееся над уровнем окружающих тканей. На поверхности образования имеется творожистый налет с желтоватым оттенком, легко отторгающийся при поскабливании. При пальпации образование мягкоэластической консистенции, безболезненное (Рисунок 19 Б). Оба образования существовали на коже в течение 6 месяцев.

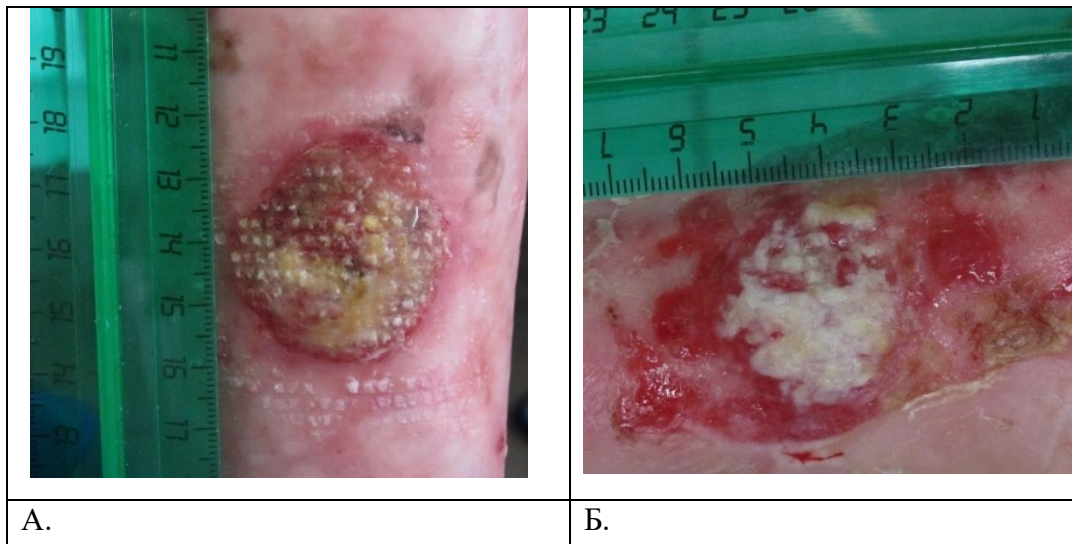


Рисунок 19 – Очаги плоскоклеточного рака кожи у больной рецессивным дистрофическим буллезным эпидермолизом на коже передней поверхности левой голени (А) и медиального края правой стопы (Б)

У больной тяжелым РДБЭ, 31 года, на коже правой стопы в пяточной области имелось округлое опухолевидное образование диаметром 5 см тестоватой консистенции с вегетациями на поверхности, существующее в течение нескольких лет (Рисунок 20). Между ворсинчатыми разрастаниями — борозды, заполненные гнойным желтовато-белым отделяемым. Поверхность опухолевидного образования покрыта густым липким секретом со зловонным запахом, желто-коричневыми корками. Субъективно образование сопровождалось выраженной болезненностью.



Рисунок 20 – Больная Х., 31 год. Тяжелый РДБЭ. Очаг плоскоклеточного рака кожи на коже правой стопы.

У больной тяжелым РДБЭ, 31 года, на коже спины в области грудного отдела позвоночника визуализировался очаг неправильных очертаний с четкими границами, приподнятыми краями и неровным дном бледно-розового цвета размером 12х7 см. В центре дефекта наблюдалось «западение» округлых очертаний желтовато-белого цвета с «сосудистым рисунком» (Рисунок 21 А, Б). Длительность существования очага на коже спины – 3 месяца. Субъективно: боль средней интенсивности. На коже тыльной поверхности правой кисти в области межфаланговых суставов имеются экзофитные разрастания с эрозивной поверхностью ярко-розового цвета с умеренным количеством гнойного отделяемого густой консистенции на поверхности. По периферии – многочисленные гнойные корки (Рисунок 22 А, Б). Образование на правой кисти существовало в течение 6 месяцев. Субъективно: выраженная болезненность.

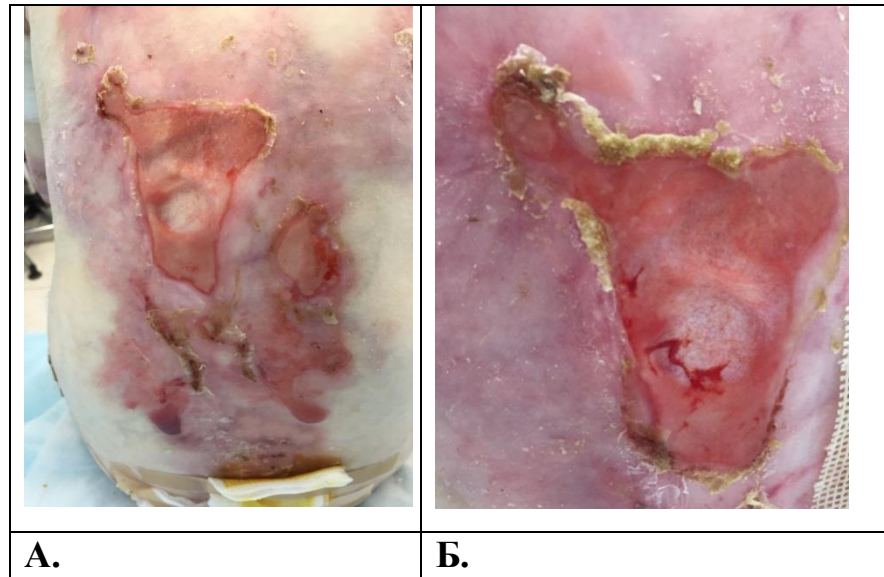


Рисунок 21 – Очаг плоскоклеточного рака на коже спины у больной тяжелым рецессивным дистрофическим буллезным эпидермолизом, 31 года.

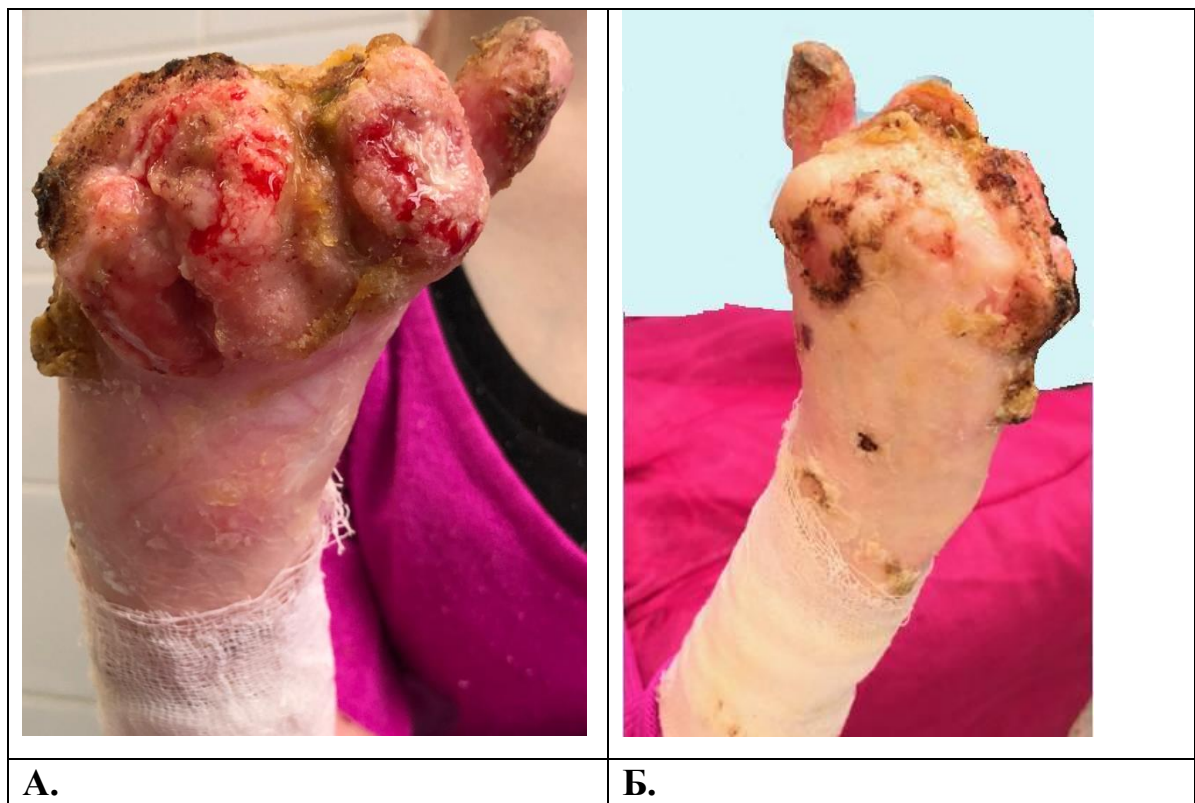


Рисунок 22 – Очаг плоскоклеточного рака на коже тыльной поверхности правой кисти у больной рецессивным дистрофическим буллезным эпидермолизом

У больной тяжелым РДБЭ, 27 лет, на коже спины, расположенный по срединной линии позвоночника в области грудного отдела, визуализировался очаг размером 15х14 см с четкими границами, возвышающимися над уровнем

окружающей кожи. Края очага плотные, бугристые, умеренно болезненные при пальпации. В центре очага – слоистая гнойная корка желто-коричневого цвета в стадии расплавления. При пальпации в центральной части определялась выраженная болезненность. Длительность существования очага – 3 месяца (Рисунок 23).



Рисунок 23 – Очаг плоскоклеточного рака на коже спины у больной рецессивным дистрофическим буллезным эпидермолизом

Для подтверждения диагноза больным проведена биопсия кожи из очагов поражения с последующим гистологическим исследованием. У больной 33 лет в результатах гистологического исследования из очага поражения на левой голени найден фрагмент изъязвленной опухоли, представленной плоским эпителием с выраженным акантозом, гипер- и паракератозом, стратификация слоев нарушена, отмечается клеточный полиморфизм с укрупнением ядер, базальная мембрана не просматривается. В опухолевых комплексах имеется тенденция к ороговению с формированием структур по типу роговых жемчужин. Комплексы опухоли распространяются во все слои дермы, в строме выраженная лимфо-лейкоцитарная инфильтрация (Рисунок 24А). В биоптате, взятом с медиального края правой стопы, выявлен поверхностно взятый фрагмент изъязвленной опухоли, представленной плоским эпителием с выраженным акантозом, гипер- и паракератозом, стратификация слоев нарушена, отмечается клеточный полиморфизм с укрупнением ядер, увеличением

количества митозов. В комплексах опухоли имеется тенденция к ороговению с формированием структур по типу роговых жемчужин. Базальная мембрана на значительном протяжении не просматривается, в сохраненных участках дермы отмечается лимфо-лейкоцитарная инфильтрация. Описание гистологической картины в обоих очагах соответствует высокодифференцированному ороговевающему плоскоклеточному раку (Рисунок 24Б).

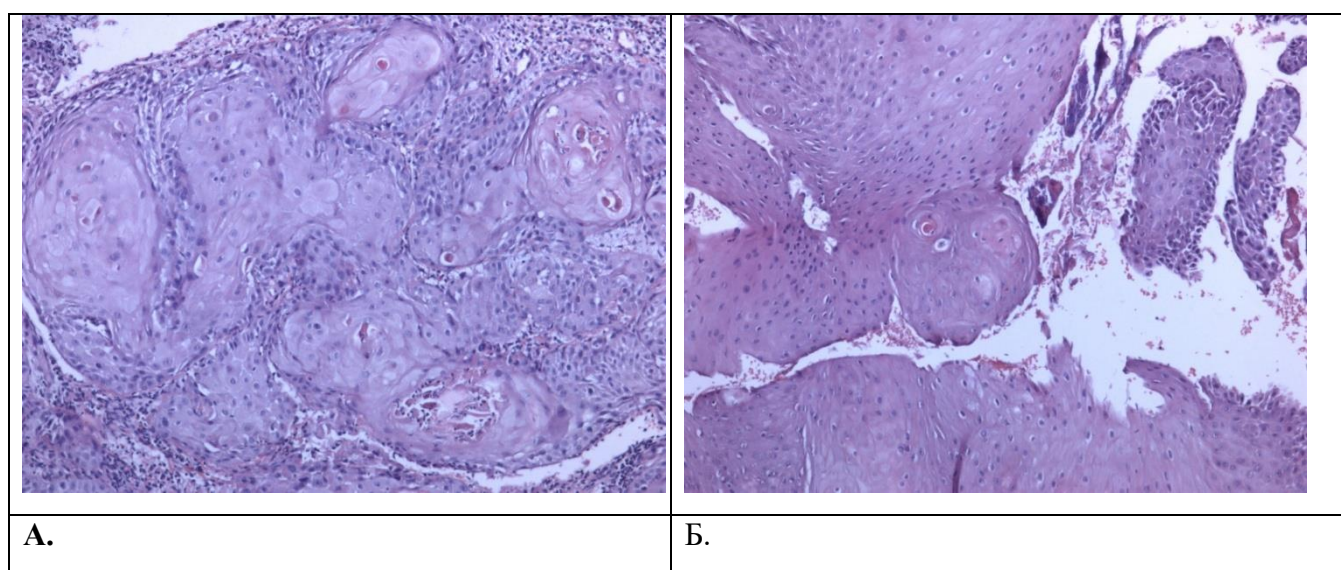


Рисунок 24 – Гистологическое исследование очагов плоскоклеточного рака кожи на передней поверхности левой голени (А) и медиальном крае правой стопы (Б) у больной рецессивным дистрофическим буллезным эпидермолизом 33 лет

Двум пациенткам с тяжелым РДБЭ в возрасте 31 года, у одной из которых опухолевый очаг локализовался в пяточной области на правой стопе, а у второй больной на правой кисти, диагноз плоскоклеточного рака кожи также верифицирован гистологически.

В биоптате, взятом из очага в пяточной области, опухоль представлена пластами резко анаплазированного плоского эпителия с выраженным клеточным полиморфизмом и большим количеством митозов. В толще эпителиальных пластов - очаги дискератоза с образованием «роговых жемчужин». Комплексы опухолевых клеток распространяются на всю толщу дермы и в подлежащие ткани. По периферии образования отмечалась лимфоцитарная инфильтрация.

Диагностирован высокодифференцированный ороговевающий плоскоклеточный рак.

У больной с участком опухоли в области правой кисти гистологическое исследование показало фрагменты фиброзной ткани с инвазивным ростом плоскоклеточного рака с ороговением и слабовыраженную перифокальную лимфогистиоцитарную инфильтрацию.

Больной тяжелым РДБЭ 27 лет гистологическое исследование не проводилось. Пациентка подписала письменный отказ от проведения процедуры.

3.4.3. Сопутствующие заболевания, выявленные у больных ВБЭ

Наличие сопутствующих заболеваний установлено у 21 (61,8%) больных. При обследовании у 14 (41,20%) больных со среднетяжелым и тяжелым РДБЭ выявлена железодефицитная анемия. Хронический гастрит диагностирован у 5 (14,70%) пациентов с ВБЭ с различными подтипами. У 3 (8,80%) обследованных больных выявлена амблиопия. Мочекаменная болезнь и гиперметропия слабой степени выявлены у 2 (5,90%) больных. Хронический холецистит, хроническая обструктивная болезнь легких, пневмофиброз нижней доли правого легкого, подслизистая лейомиома матки, хронический колит, субатрофический фарингит, начальная катаракта, узловой зоб, пролапс митрального клапана I степени, миопия средней степени, вторичный остеопороз, гипотиреоз диагностированы в 2,94% случаев (Рисунок 25).

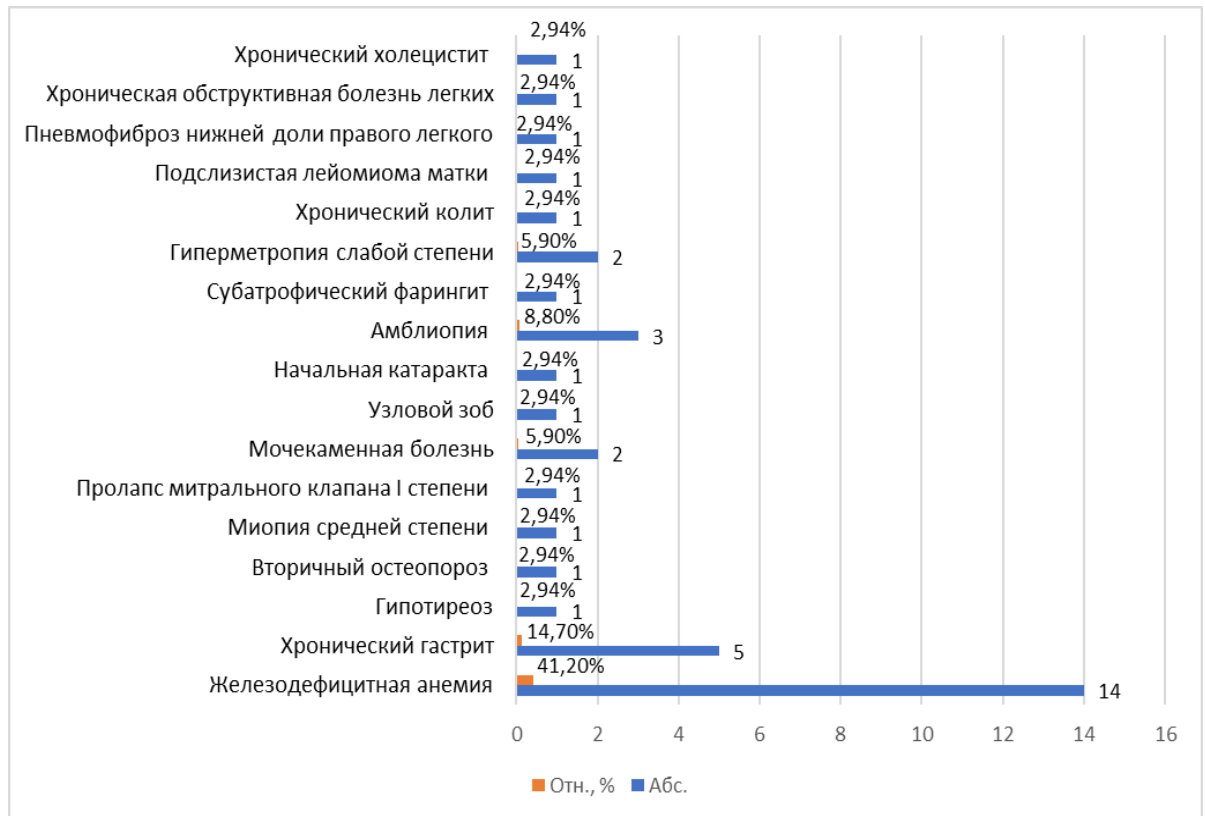


Рисунок 25 – Распределение сопутствующей патологии у больных ВБЭ, n=34.

3.5. Результаты определения экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптатах кожи больных врожденным буллезным эпидермолизом методом ИАК

3.5.1. Результаты определения экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптатах кожи больных с клинически установленным дистрофическим буллезным эпидермолизом методом ИАК

33 из 34 больным с целью подтверждения клинического диагноза и определения уровня экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин,

плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в области эпидермиса и дермо-эпидермального соединения до начала лечения проведено ИАК.

По результатам проведенного исследования у 5 из 6 больных тяжелым РДБЭ выявлено нарушение экспрессии коллагена VII типа в зоне ДЭС. В биоптатах кожи выявлено снижение экспрессии коллагена VII типа. В сравнении со свечением антител к коллагену VII типа в виде широкой непрерывной полосы у здоровых лиц, у больных тяжелым РДБЭ свечение антител к коллагену VII типа выявлялось в виде прерывистой линии, единичных отрезков, местами единичных или множественных гранул, не формирующих непрерывной полосы (Рисунок 26).

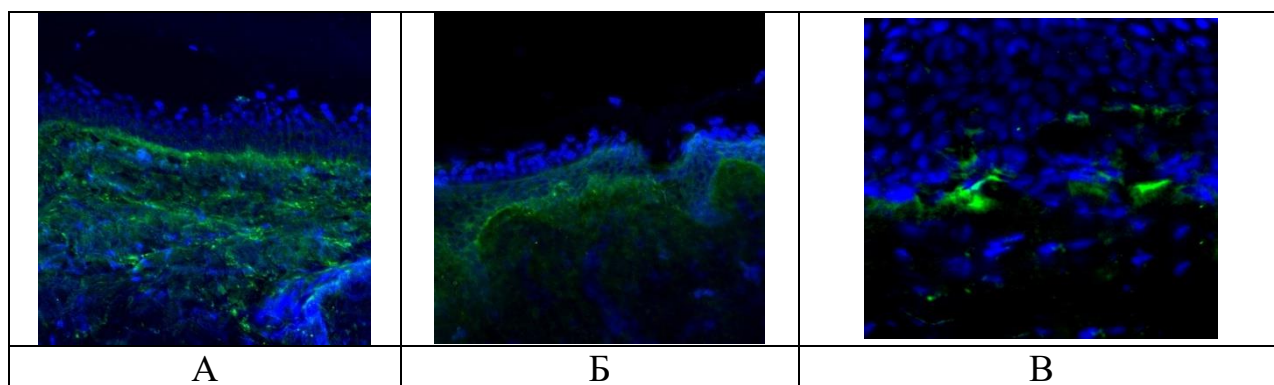


Рисунок 26 - Реакция непрямо́й иммунофлюоресценции. Экспрессия коллагена VII типа (зеленое свечение) в здоровой коже внутри кератиноцитов и перинуклеарно (А), х200. Нарушение экспрессии коллагена VII типа в биоптатах непораженной кожи больных тяжелым генерализованным РДБЭ, х200 (Б, В)

У 1 больной локализация и характер распределения антител к кератинам 5 и 14 типов, коллагенам VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепям ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрина, плакофиллина-1, десмоплакину, плектину, киндлину-1 не нарушены.

В биоптатах 8 из 10 больных среднетяжелым РДБЭ также обнаружено снижение экспрессии коллагена VII. Свечение антител к коллагену VII типа либо отсутствовало на единичных участках дермо-эпидермальной границы с сохранением свечения на некоторых участках в виде широкой непрерывной полосы, либо выявлялось на единичных участках вдоль дермо-эпидермальной границы в виде единичных коротких узких полос, на некоторых участках свечение носило гранулярный характер (Рисунок 27).

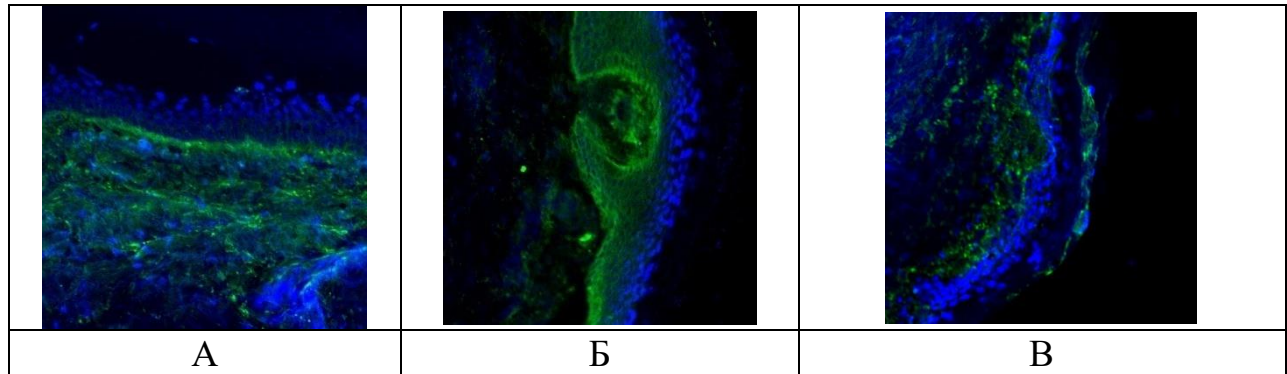
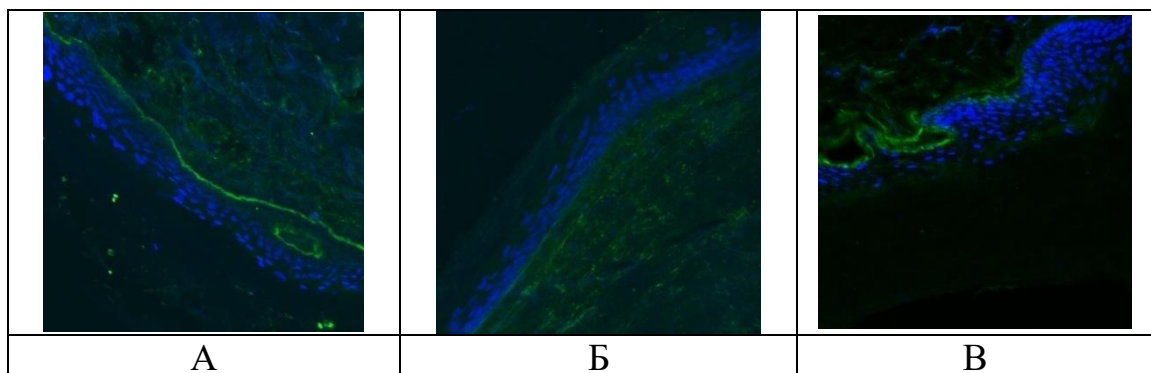


Рисунок 27 - Реакция непрямо́й иммунофлюоресценции. Экспрессия коллагена VII типа (зеленое свечение) в здоровой коже внутри кератиноцитов и перинуклеарно (А), х200. Нарушение экспрессии коллагена VII типа в биоптатах неповрежденной кожи больных среднетяжелым генерализованным РДБЭ, х200 (Б, В)

У 2 из 10 больных среднетяжелым РДБЭ экспрессия коллагена VII была в норме, однако в зоне базальной мембраны было выявлено нарушение экспрессии коллагена XVII типа и $\beta 3$ ламинина-332. Свечение антител к $\beta 3$ цепи ламинина выявляется также вдоль дермато-эпидермальной границы, однако представляет собой узкую, местами едва различимую за свечением ядер клеток базального слоя эпидермиса, прерывистую полосу. Свечение антител к коллагену XVII типа выявляется вдоль дермато-эпидермальной границы в виде широкой размытой полосы, четкой линии не формируется. У одного из больных свечение антител к коллагену XVII типа отсутствует на большем протяжении вдоль дермато-эпидермальной границы, очагово - выявляется в виде размытой полосы, четкой линии при этом не формируется (рисунок 28).



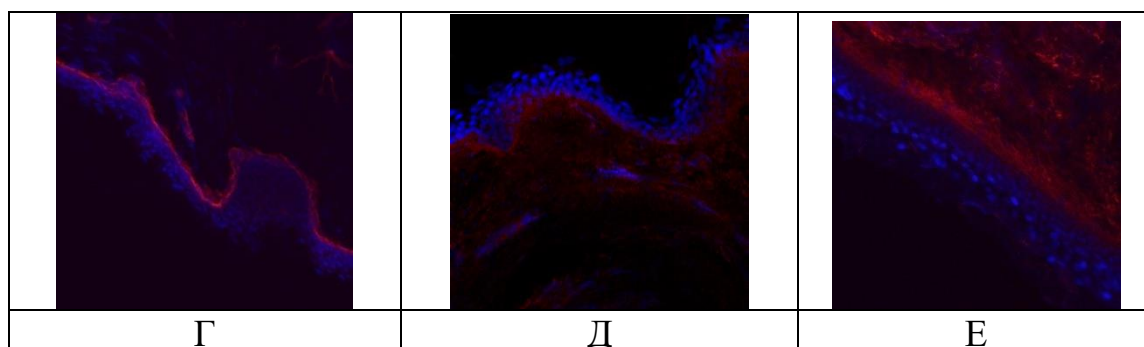


Рисунок 28 - Реакция непрямо́й иммунофлюоресценции. Экспрессия $\beta 3$ цепи ламинина 332 и коллагена XVII типа вдоль дермато-эпидермальной границы в биоптатах здоровой кожи (А, Г), $\times 200$. Нарушение экспрессии $\beta 3$ цепи ламинина 332 (Б, В) и коллагена XVII типа (Д, Е) в биоптатах непораженной кожи больных генерализованным ПБЭ, $\times 600$

При исследовании биоптата кожи одной больной ДДБЭ обнаружено снижение экспрессии коллагена VII типа. В биоптате свечение антител отмечалось вдоль дермо-эпидермальной границы визуализировалось в виде небольших отрезков, не формирующих сплошную линию; на некоторых участках свечение отсутствовало.

При проведении второй пациентке с ДДБЭ иммунофлуоресцентного картирования локализация и интенсивность свечения всех антител (к $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепям ламинина, кератинам 5 и 14, коллагену VII и XVII типов, $\beta 4$ и $\alpha 6$ интегринам, десмоплакину, плектину, киндлину-1, плакофилину) соответствовали таковым в здоровой коже, что не подтвердило диагноз врожденного буллезного эпидермолиза (Рисунок 29). Для уточнения диагноза проведена нРИФ с антителами к IgG, IgA, IgM. В результате исследования значимой фиксации IgA в структурах видимо здоровой кожи не было выявлено. Отмечалось свечение антител к IgG вдоль дермо-эпидермальной границы, что может наблюдаться при буллезном пемфигоиде и приобретенном буллезном эпидермолизе. При спонтанном расщеплении кожного лоскута, свечение антител IgG выявлялось в дне пузыря, что в большей степени соответствовало картине приобретенного буллезного эпидермолиза.

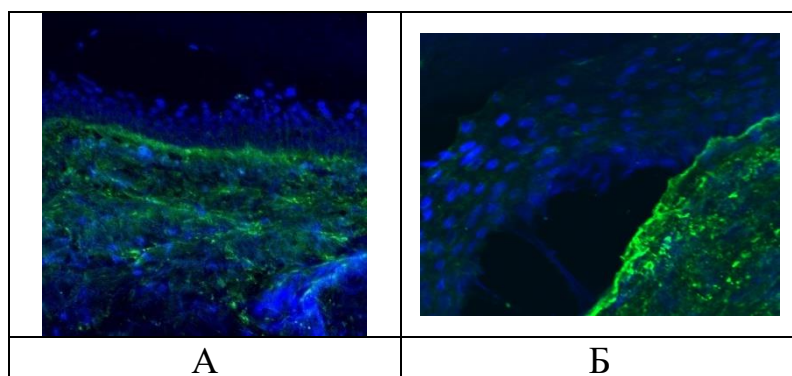


Рисунок 29 - Реакция непрямой иммунофлюоресценции. Экспрессия коллагена VII типа (зеленое свечение) в здоровой коже внутри кератиноцитов и перинуклеарно (А), х200. Нарушение экспрессии коллагена VII типа в биоптатах непораженной кожи больных ДДБЭ, х200 (Б)

1 больной с клинически установленным претибиальным ДБЭ в биоптате кожи больной свечение антител к коллагену XVII типа отсутствовало практически на всем протяжении, на некоторых участках в области дермо-эпидермальной границы свечение выявлялось в виде единичных красных «нитей». Локализация и характер распределения остальных антител в препаратах больной соответствовали таковым в здоровой коже.

Таким образом, у 14 (73,6%) из 19 больных с клинически установленным ДБЭ выявлено нарушение коллагена VII типа, что соответствует дистрофическому типу ВБЭ. У 5 (26,4%) больных после проведения ИАК наблюдалось несоответствие клиническому диагнозу ДБЭ. Из 5 больных в биоптатах 2 больных снижена экспрессия коллагена XVII типа и $\beta 3$ цепи ламинина 332, у 1 пациентки выявлено изолированное нарушение свечения коллагена XVII типа, а у 2 пациентов экспрессия всех структурных белков кожи была сопоставима с экспрессией в здоровой коже (Рисунок 30).

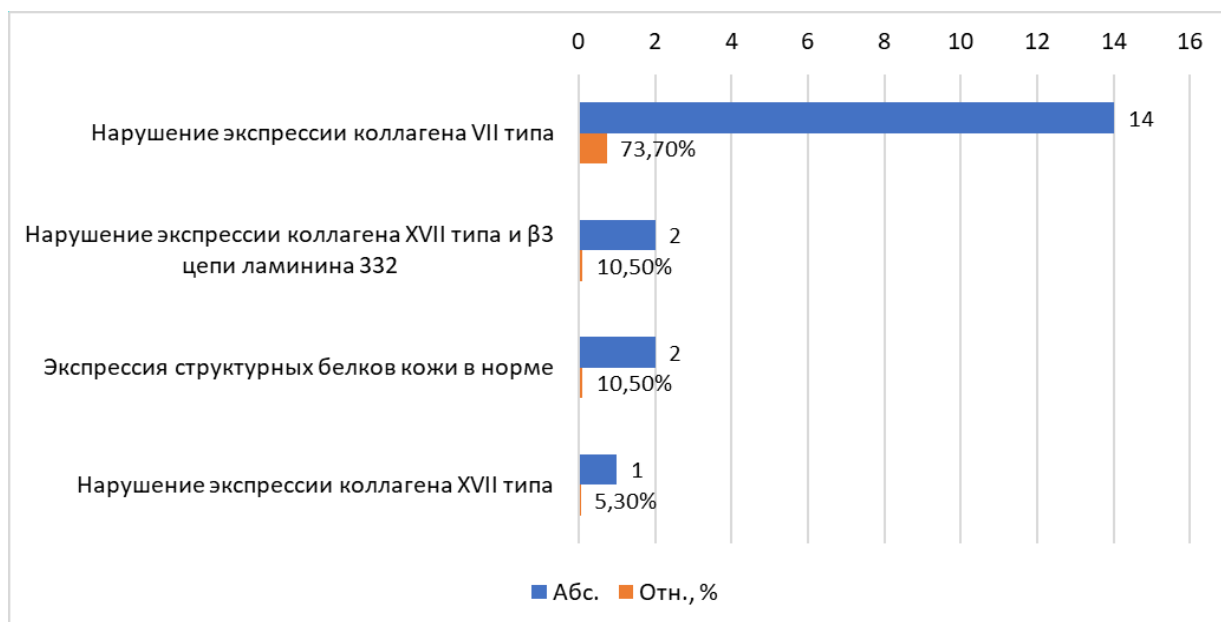


Рисунок 30 – Распределение больных ДБЭ по нарушению экспрессии коллагена VII типа, коллагена XVII типа и $\beta 3$ -цепи ламинина 332 в биоптатах кожи после проведения ИАК, n=19

3.5.2. Результаты определения экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптате кожи больной с клинически установленным пограничным буллезным эпидермолизом методом ИАК

В биоптате больной с клинически установленным ПгрБЭ свечение антител к коллагену XVII типа, $\alpha 3$ -, $\beta 3$ - и $\gamma 2$ -цепям ламинина 332, и $\beta 4$ и $\alpha 6$ интегринам визуализировалось в виде сплошной непрерывной линии, однако свечение к коллагену VII типа выявлялось вдоль дермо-эпидермальной границы в виде полосы свечения обычной толщины, однако на некоторых участках истончающейся или прерывающейся. Отсутствие свечение антител к коллагену VII типа наиболее отчетливо отмечалось на участках спонтанного формирования субэпидермальных щелей и пузырей, что свидетельствует о наличии у больной ДБЭ.

3.5.3. Результаты определения экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптатах кожи больных с клинически установленным простым буллезным эпидермолизом методом иммунофлюоресцентного антигенного картирования

Всего 12 больным с ПБЭ проведено ИАК, из которых у 2 пациентов с клинически установленным генерализованным ПБЭ в биоптатах кожи свечение антител к коллагену XVII типа выявляется вдоль дермо-эпидермальной границы в виде очень коротких единичных отрезков. Локализация белков, вовлеченных в патогенез ПБЭ, соответствуют таковым в здоровой коже.

У 2 больных с клинически установленным герпетиформным ПБЭ результаты ИАК продемонстрировали нарушение экспрессии плакофиллина, что противоречит клиническому диагнозу герпетиформного ПБЭ.

У 4 (50%) из 8 больных с клинически установленным локализованным ПБЭ в результатах ИАК обнаружено нарушение экспрессии кератина 14 в базальном слое. В препаратах антитела к кератину 14 локализовались перинуклеарно в базальных и надбазальных кератиноцитах в виде гранулярного свечения и практически отсутствовали в вышележащих рядах эпидермиса в отличие от кожи здоровых лиц, где свечение антител к кератину 14 выявляется перинуклеарно, формируя на обзорных снимках картину «сетки» (Рисунок 31).

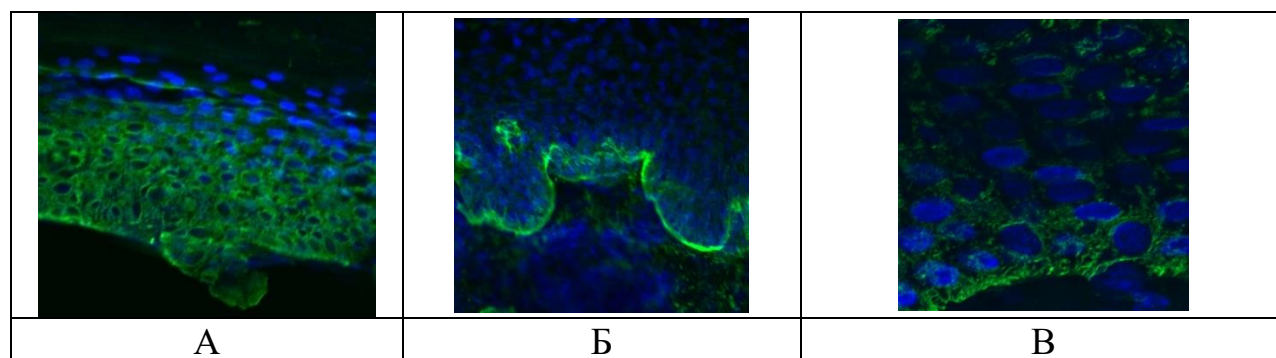


Рисунок 31 - Реакция непрямой иммунофлюоресценции. Экспрессия цитокератина 14 типа (зеленое свечение) в здоровой коже внутри кератиноцитов и перинуклеарно (А), х200. Нарушение экспрессии цитокератина 14 в биоптатах

непораженной кожи больных локализованным ПБЭ, х600 (Б, В)

У других 4 больных локализованным ПБЭ экспрессия кератинов 5 и 14 типов не нарушена. Из них в биоптатах 2 (25%) больных обнаружено многоочаговое нарушение экспрессии коллагена XVII типа, очаговое нарушение экспрессии коллагена VII типа и $\alpha 3$ -цепи ламинина 332, свечение которого представлено не сплошной «линией», а совокупностью гранул. Экспрессия $\beta 3$ - и $\gamma 2$ -цепей ламинина 332 сохранена. У 1 (12,5%) пациентки выявлено изолированное снижение экспрессии коллагена XVII типа. Свечение антител к коллагену XVII локализуется очагово в виде гранулярного свечения вдоль дермо-эпидермальной границы без формирования сплошной линии свечения.

В биоптате одного (12,5%) из пациентов с локализованным ПБЭ было выявлено очаговое незначительное уменьшение интенсивности свечения антител к кератину 14, которое нельзя расценивать как диагностически значимое. Свечение антител к другим белкам дермо-эпидермального соединения не представляет значимых особенностей (Рисунок 32).

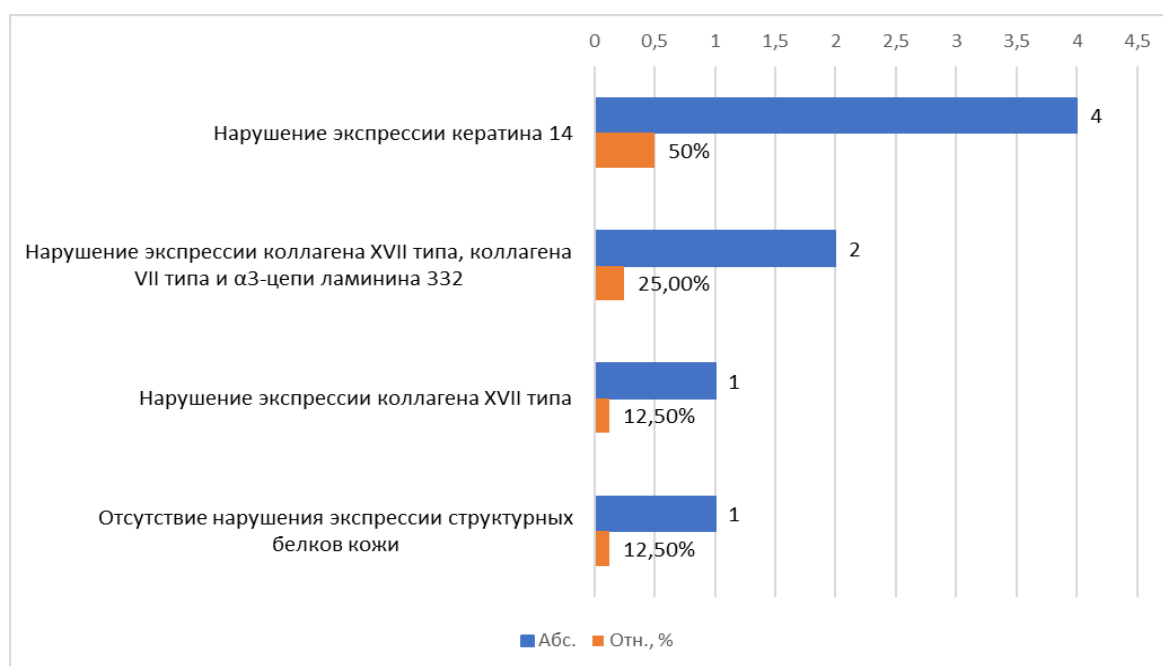


Рисунок 32 - Распределение больных локализованным ПБЭ по нарушению экспрессии кератина 14, коллагена XVII типа и $\alpha 3$ -цепи ламинина 332 в биоптатах кожи после проведения ИАК, n=8

Таким образом, после проведения ИАК установлено, что у 8 (66,6%) из 12 больных ПБЭ наблюдалось несоответствие клиническому диагнозу, в то время как у 4 (33,4%) клинический диагноз был подтвержден (Таблица 12).

Таблица 12 – Больные локализованным ПБЭ с измененным и подтвержденным клиническим диагнозом после проведения ИАК

	Число больных с подтвержденным клиническим диагнозом	Число больных с измененным клиническим диагнозом
ПБЭ локализованный	4	4
ПБЭ герпетиформный	0	2
ПБЭ генерализованный	0	2

3.5.4. Результаты определения экспрессии структурных белков (кератины 5 и 14 типов, коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, плакофиллин-1, десмоплакин, плектин, киндлин-1) в биоптатах кожи больной с клинически установленным синдромом Киндлер методом иммунофлюоресцентного антигенного картирования

У пациентки с синдромом Киндлер в биоптате кожи свечение антител к киндлину-1 по контуру клеточных мембран базальных и надбазальных кератиноцитов визуализировалось на единичных участках эпидермиса, а вдоль дермо-эпидермальной границы – в виде единичных коротких узких полос. В здоровой коже свечение антител к киндлину-1 выявляется в виде четкой, широкой, непрерывной полосы вдоль дермато-эпидермальной границы, а также

по контуру клеточных мембран базальных и надбазальных кератиноцитов (Рисунок 33).

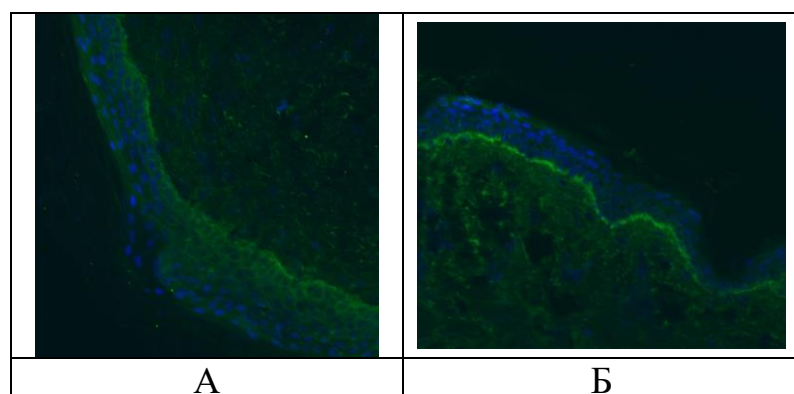


Рисунок 33 - Реакция непрямой иммунофлуоресценции. Нарушение экспрессии киндлина-1 в биоптате непораженной кожи больной синдромом Киндлер, х200 (А). Экспрессия киндлина-1 в здоровой коже внутри кератиноцитов и перинуклеарно (Б), х200.

Таким образом, в связи с выявлением сниженной экспрессии коллагена XVII типа у 2 больных с клиническим диагнозом генерализованного ПБЭ диагноз изменен на ПгрБЭ, также пограничный тип выставлен 1 пациентке с локализованным ПБЭ ввиду аналогичных изменений в биоптате. Изменение диагноза на ПгрБЭ проведена у 2 больных с изначально выставленным локализованным ПБЭ ввиду обнаружения снижения экспрессии коллагена XVII типа, очаговое нарушение экспрессии коллагена VII типа (диагностически незначимое) и $\alpha 3$ -цепи ламинина 332. У одного больного локализованным ПБЭ экспрессия всех структурных белков кожи была в норме. Учитывая клиническую картину локализованного ПБЭ, наблюдаемую у пациента, клинический диагноз сохранен. Однако, больному целесообразно проведение повторного иммунофлуоресцентного антигенного картирования.

У 2 пациентов со среднетяжелым РДБЭ и 1 пациента с претибиальным ДБЭ с выявленным нарушением экспрессии коллагена XVII типа и $\beta 3$ ламинина-332 диагноз соответствует ПгрБЭ.

1 больной с клинически установленным локализованным ПгрБЭ выставлен диагноз ДДБЭ. У пациентки с ДДБЭ был изменен диагноз на приобретенный буллезный эпидермолиз (Таблица 13).

Таблица 13 – Пациенты с измененными типами ВБЭ после проведения ИАК

Клинический диагноз до проведения ИАК	Диагноз после проведения ИАК	Число больных, абс.
Простой буллезный эпидермолиз		
ПБЭ генерализованный	Пограничный БЭ	2
ПБЭ локализованный	Пограничный БЭ	3
ПБЭ локализованный	ПБЭ локализованный?	1
ПБЭ герпетиформный	Простой супрабазальный подтип с нарушением экспрессии плакофиллина буллезный эпидермолиз?	2
Всего		8
Дистрофический буллезный эпидермолиз		
РДБЭ среднетяжелый	ПгрБЭ среднетяжелый	2
ДБЭ претибиальный	ПгрБЭ	1
ДДБЭ	Приобретенный буллезный эпидермолиз	1
Всего		4
Пограничный буллезный эпидермолиз		
Локализованный ПгрБЭ	ДДБЭ	1

Таким образом, по результатам ИАК клинически установленный диагноз у 13 (39,39%) пациентов тип ВБЭ был изменен, а у 20 (60,61%) больных тип ВБЭ был верифицирован (Рисунок 34). При сопоставлении результатов ИАК с диагнозом, установленным клинически метод ИАК позволил определить подтип заболевания у 30 (90,9%) пациентов, что статистически значимо чаще, чем в случае, если диагностика основывалась лишь на клинико-анамнестических данных ($p < 0,05$), что свидетельствует о диагностической значимости этого метода в постановке диагноза ВБЭ.

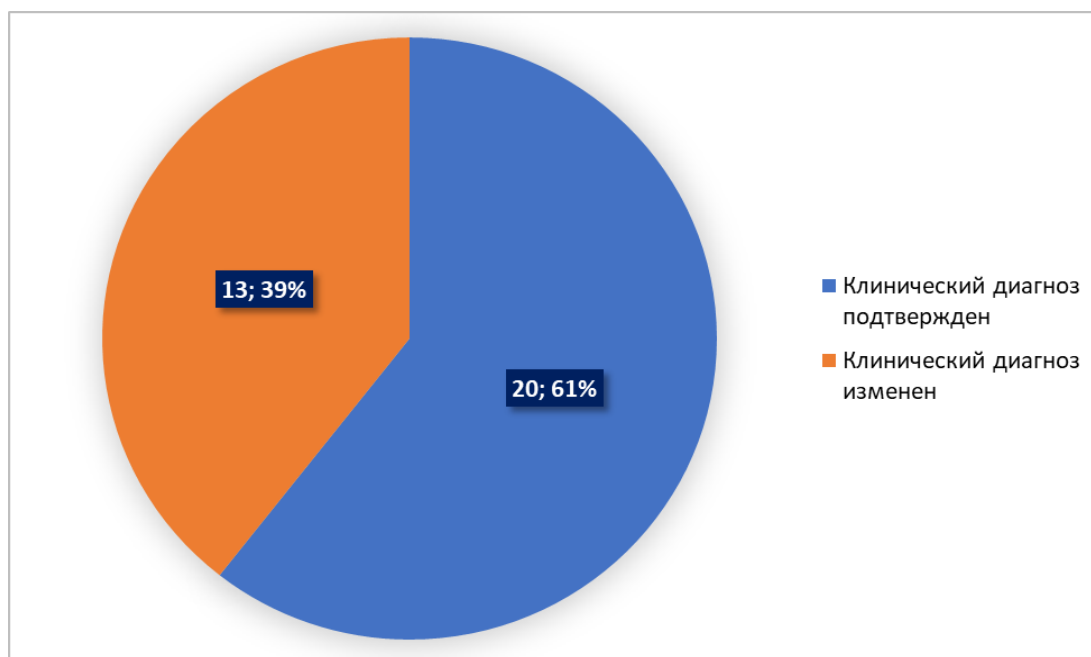


Рисунок 34 – Число больных ВБЭ с подтвержденным и измененным клиническим диагнозом после проведения ИАК, n=33

3.6. Результаты наружной терапии с применением НАПС у больных ВБЭ с эрозивно-язвенными дефектами кожи с различным сроком эпителизации

3.6.1 Эффективность наружной терапии с применением НАПС у больных ВБЭ с эрозивно-язвенными дефектами кожи с длительностью существования менее 1 месяца

Исходная площадь 52 эрозий и язв со сроком существования менее 1 месяца составила от 0,5 см² до 300 см², в среднем – 15,59±42,84 см².

Площадь дефектов кожи, составлявшая перед началом терапии в среднем 15,59±42,84 см², статистически значимо уменьшилась к 14-му дню лечения до 5,79±15,15 см² (p<0,05). Доля сокращения площади составила в среднем 68,2±35,5% (Рисунок 35).

До лечения



Рисунок 35 – Пациент С., 51 год. Среднетяжелый пограничный БЭ. Клиническая эффективность применения НАПС в виде полного заживления (А, Г) и частичной эпителизации (Б, В, Д, Е) эпителизации эрозий на 14-й день терапии

17 из 52 (32,7%) эрозий эпителизировались полностью. Площадь 14 (26,9%) эрозий уменьшилась на 75% и более. Площадь 6 (11,5%) эрозий сократилась на 50–75%, 5 (9,6%) эрозий – на 25–50%. Сокращение площади 10 (19,2%) эрозий составило менее 25% (Рисунок 36).

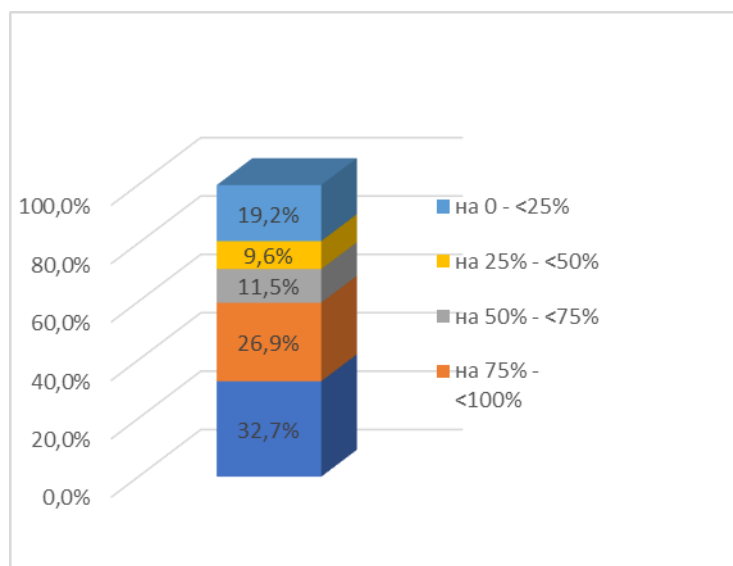


Рисунок 36 – Распределение эрозивно-язвенных дефектов кожи с длительностью существования менее 1 месяца у больных ВБЭ по доле сокращения площади на 14-й день терапии с применением НАПС (n=52)

На 30-й день значение площади эрозий/язв варьировало от 0 см² до 65 см², в среднем – $4,6 \pm 13,43$ см², доля сокращения площади составила в среднем $82,27 \pm 34,52\%$. Продолжение лечения с применением НАПС позволило достичь полной эпителизации 40 (76,92%) эрозий. Площадь одной эрозии (1,93%) уменьшилась на 75-100%, а 3-х эрозий (5,77%) сократилась на 25-50%. Отсутствие положительной динамики наблюдали у 8 (15,38%) эрозий/язв, о чем свидетельствует уменьшение эрозий менее, чем на 25% (Рисунок 37).

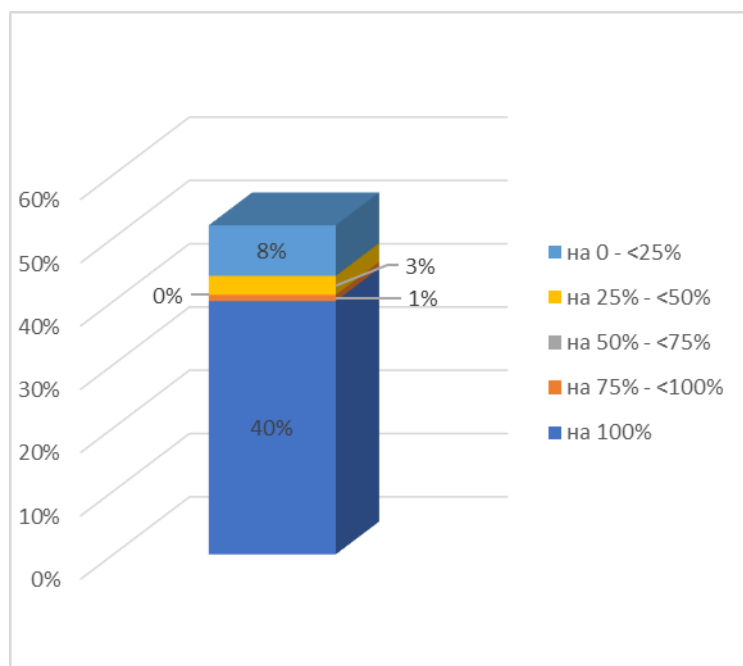


Рисунок 37 – Распределение эрозивно-язвенных дефектов кожи с длительностью существования менее 1 месяца у больных ВБЭ по доле сокращения площади на 30-й день терапии с применением НАПС (n=52)

Терапия с использованием НАПС позволила достигнуть статистически значимого уменьшения площади эрозий на 14-й и 30-й дни ($p < 0,05$). Кроме того, отмечено статистически значимое уменьшение площади между 14-м и 30-м днями (Таблица 14).

Таблица 14 – Динамика площади эрозий и язв с длительностью существования менее 1 месяца после применения НАПС (n=52)

Исходная площадь, см ²	Площадь на 14-й день, см ²	Доля сокращения площади на 14-й день, %	Площадь на 30-й день, см ²	Доля сокращения площади на 30-й день, %
15,60±42,84 (0,5–300)	5,80±15,15* (0–72)	68,23±35,24	4,67±13,43*, ** (0–65)	82,27±34,52

Примечание: * – статистически значимые отличия от исходной площади эрозий и язв при уровне статистической значимости $p < 0,05$; ** – статистически значимые отличия от площади эрозий и язв на 14-й день при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

3.6.2. Результаты наружной терапии с применением НАПС у больных ВБЭ с длительно не заживающими эрозиями/язвами

Исходная площадь 21 эрозии/язвы с длительностью существования более 1 месяца варьировала от 0,70 см² до 45,00 см², составляя в среднем – 10,77±11,46 см².

На 14-й день терапии площадь эрозий/язв значительно уменьшилась по сравнению с исходной площадью 10,77±11,47 см² в среднем до 6,99±9,32 см² (p<0,05). Сокращение площади длительно не заживающих эрозий/язв к 14-му дню применения НАПС составило 52,23±42,25%.

Из 21 длительно не заживающей эрозии/язвы полностью зажили 6 (28,6%) эрозий. Площадь 1 (4,7%) эрозии сократилась на 75%-100%. Площадь 5 (23,8%) дефектов кожи сократилась на 50–75%, 3 (14,3%) эрозии сократились на 25–<50%. 6 эрозий (28,6%) уменьшились по площади менее, чем на 25% (Рисунок 39).

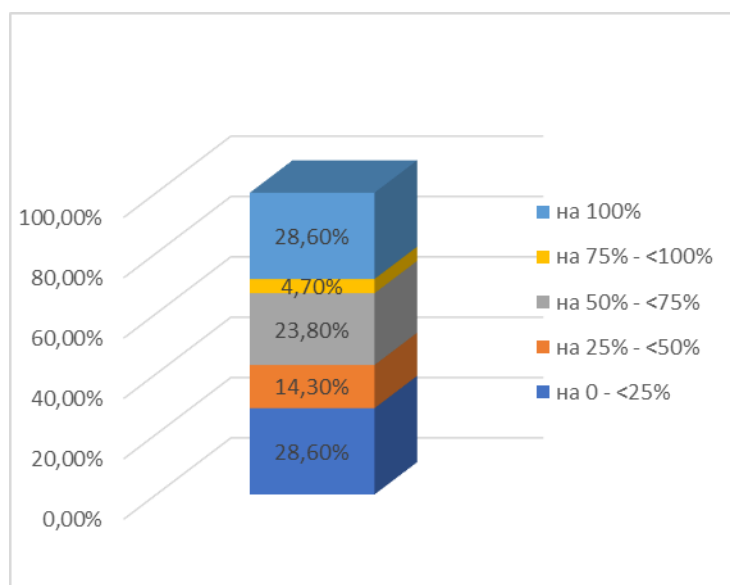


Рисунок 39 - Распределение длительно не заживающих эрозий/язв у больных ВБЭ по доле сокращения площади на 14-й день терапии с применением НАПС (n=21)

Слабоположительная динамика заживления длительно не заживающих эрозий представлена на рисунке 40.



Рисунок 40 – Слабоположительная динамика на фоне применения НАПС у больной синдромом Киндлер (А, Г) и больных тяжелым РДБЭ (Б, В, Д, Е).

На 30-й день применения НАПС площадь эрозий составила от 0 см² до 30,40 см², статистически значимо уменьшившись как по сравнению с исходной площадью, так и по сравнению с площадью, отмеченной на 14-й день терапии, до $5,20 \pm 7,88$ см² ($p < 0,05$, $p < 0,05$ соответственно) (Таблица 15). Доля сокращения площади по сравнению с исходной площадью составила в среднем $67,05 \pm 39,78\%$.

Таблица 15 – Динамика изменения площади длительно не заживающих эрозий и

язв после применения НАПС (n=21)

Исходная площадь, см ²	Площадь на 14-й день, см ²	Доля сокращения площади на 14-й день, %	Площадь на 30-й день, см ²	Доля сокращения площади на 30-й день, %
10,77±11,47 (от 0,70 до 45,00)	6,99±9,32* (от 0 до 36,20)	52,23±42,25	5,20±7,88*,** (от 0 до 30,40)	67,05±39,78

* – статистически значимые отличия от величины исходной площади при уровне статистической значимости $p < 0,05$; ** – статистически значимые отличия от величины площади на 14-й день при уровне статистической значимости $p < 0,05$

На 30-й день терапии было отмечено полное заживление 8 (38,1%) эрозий, 5 (23,8%) эрозий уменьшились в размерах на 75–<100%. Площадь 5 (23,8%) эрозий сократилась на 25–50%, еще 3 эрозии (14,3%) сократились в размерах менее, чем на 25% (Рисунок 41).

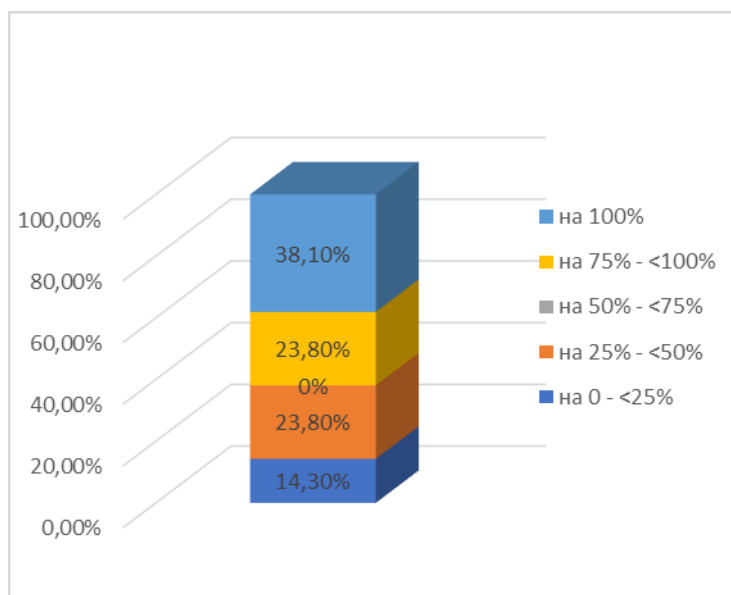


Рисунок 41 - Распределение длительно не заживающих эрозий/язв у больных ВБЭ по доле сокращения площади на 30-й день терапии с применением НАПС (n=21)

Сравнение исходной площади эрозий без нарушения сроков заживления и длительно не заживающих эрозий/язв показало, что статистически значимая

разница отсутствует ($p>0,05$), что свидетельствует о том, что площадь в этих группах эрозий не имеет значимых различий.

На 14-е сутки терапии с применением НАПС отсутствует достоверная разница между значением площади эрозий с длительностью существования менее 1 месяца и длительно не заживающих эрозий/язв ($p>0,05$).

Статистически значимая разница также отсутствует в доле сокращения площади эрозий без нарушения сроков эпителизации и длительно не заживающих эрозий/язв на 14-й день ($p>0,05$). Однако, на 30-й день терапии с применением перевязочных средств сокращение площади эрозий с длительностью существования менее 1 месяца достоверно более выражено по сравнению с площадью длительно не заживающих эрозий/язв ($p<0,05$).

3.7. Эффективность терапии больных РДБЭ, ПгрБЭ и синдромом Киндлер после внутрикожного введения суспензии аллогенных фибробластов в края длительно не заживающих эрозивно-язвенных дефектов кожи

Исходная площадь 25 эрозий и язв с длительностью существования более 1 месяца варьировала от 0,7 см² до 30 см², в среднем – $9,6 \pm 7,8$ см².

На 14-й день после внутрикожного введения АФ в концентрациях 5×10^6 , 10×10^6 и 20×10^6 кл/мл зарегистрировано полное заживление 13 (52%) из 25 длительно не заживающих эрозий. Сокращение площади эрозий/язв наблюдалось в диапазоне 0-25%, 25-50%, 50-75% (Рисунок 42 А, В), и 75%-100% (Рисунок 42 Б, Г).

До лечения



На 14-й день терапии

Рисунок 42 – Пациент С., 51 год. Среднетяжелый ПгрБЭ. Значительное улучшение в виде сокращения площади эрозий на 52% (А, В) и 76,8% (Б, Г) после внутрикожного введения АФ на 14-й день терапии

Распределение числа эрозий было равномерным, по 3 (12%) эрозии в каждой группе (Рисунок 43). Отрицательной динамики в виде увеличения исходной площади эрозий после введения АФ на 14 день не зафиксировано. Площадь эрозий на 14 день составила от 0 см² до 13 см², в среднем – $3,5 \pm 4,6$ см² ($p < 0,05$). Доля сокращения площади составила в среднем $72,6 \pm 35,4\%$.

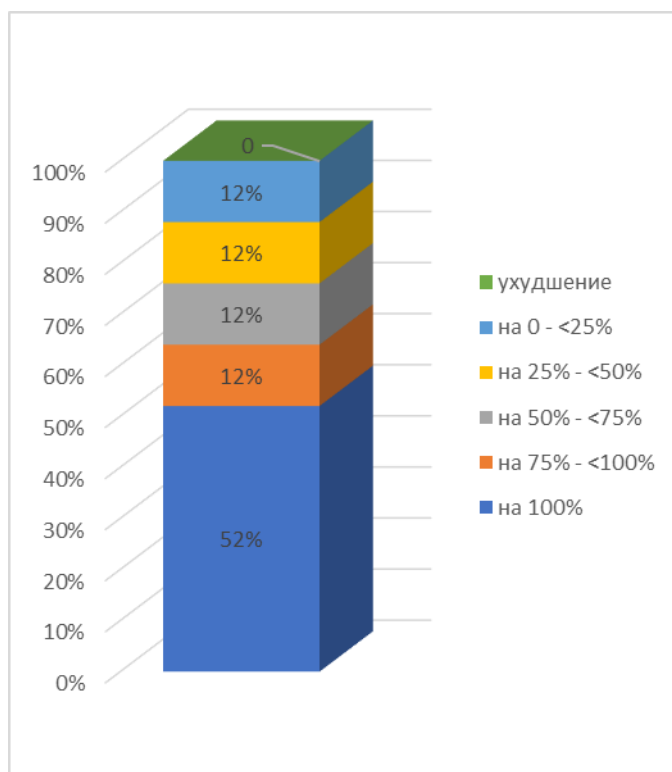


Рисунок 43 – Распределение длительно не заживающих эрозий/язв у больных ВБЭ по доле сокращения площади на 14-й день после внутрикожного введения АФ (n=25)

На 30-й день терапии достигнута полная эпителизация 20 (80%) эрозий. По 1 (4%) площадь эрозий сократились в диапазоне 75–<100%, 50–75%. В диапазоне 25 –<50% эрозии отсутствовали. Слабоположительная динамика с уменьшением площади менее, чем на 25%, зафиксирована со стороны 3 (12%) эрозий. Увеличения исходной площади эрозий после введения АФ на 30-й день не зафиксировано (Рисунок 44). Площадь эрозий на 30-й день составила от 0 см² до 14,5 см², в среднем – $1,9 \pm 4,3$ см² ($p < 0,05$). Доля сокращения площади составила в среднем $86,4 \pm 31,5\%$.

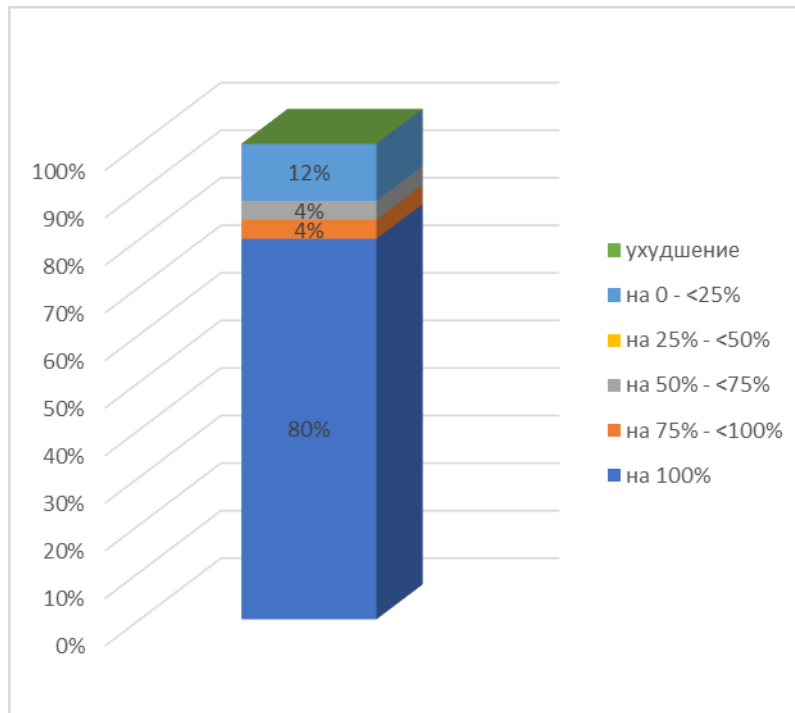


Рисунок 44 – Распределение длительно не заживающих эрозий/язв у больных ВБЭ по доле уменьшения площади на 30-й день после внутрикожного введения АФ (n=25)

В результате проведенного лечения на 14-й и 30-й дни после внутрикожного введения аллогенных фибробластов отмечено статистически значимое уменьшение площади длительно не заживающих эрозий/язв ($p < 0,05$) (Таблица 16).

Таблица 16 – Динамика изменения площади длительно не заживающих эрозий и язв после введения аллогенных фибробластов

Исходная площадь, см ²	Площадь на 14-й день, см ²	Доля сокращения площади на 14-й день, %	Площадь на 30-й день, см ²	Доля сокращения площади на 30-й день, %
9,6±7,8 см ²	3,5±4,6 * (от 0 до 13)	72,6±35,4	1,9±4,3*,** (от 0 до 14,5)	86,4±31,5

* – статистически значимые отличия от величины исходной площади при уровне статистической значимости $p < 0,05$; ** – статистически значимые отличия от величины площади на 14-й день при уровне статистической значимости $p < 0,05$

Анализ результатов показал, что введение суспензии аллогенных фибробластов в каждой концентрации (5×10^6 , 10×10^6 и 20×10^6 кл/мл) приводит к достоверному уменьшению площади на 14-й и 30-й дни терапии по сравнению с исходной площадью ($p < 0,05$) (Таблица 17).

Таблица 17 – Динамика площади эрозий, в края которых вводили суспензию аллогенных фибробластов в различных концентрациях, $M \pm \sigma$.

Концентрация фибробластов в суспензии	Число инъекций, n	Площадь эрозий				
		День 0, см^2	День 14, см^2	Выраженность уменьшения к 14-му дню, %	День 30, см^2	Выраженность уменьшения к 30-му дню, %
5 млн/мл	5	$10,40 \pm$	$5,40 \pm$	$50,32 \pm$	$0 \pm 0^*$	100 ± 0
		5,12	3,97*	30,75		
10 млн/мл	9	$4,06 \pm$	$0,67 \pm$	$94,67 \pm$	$0,50 \pm$	$96,00 \pm$
		4,04	2,00*	16,00	1,50*	12,00
20 млн/мл	11	$13,86 \pm$	$4,98 \pm$	$64,76 \pm$	$3,95 \pm$	$72,50 \pm$
		8,72	5,57*	40,91	5,90*	43,51

Примечание: * – статистические значимые отличия от площади эрозий в день 0.

На 14-й день терапии с применением аллогенных фибробластов выявлена достоверная разница в доле уменьшения площади после введения фибробластов в концентрации 10×10^6 кл/мл ($p < 0,05$). После введения аллогенных фибробластов в концентрации 5×10^6 кл/мл и 20×10^6 кл/мл достоверная разница на 14-й день отсутствует ($p > 0,05$).

Сравнение эффективности трех концентраций на 30-е сутки лечения не показало статистически значимой разницы в доле уменьшения площади по сравнению с исходной площадью ($p > 0,05$).

Сравнение эффективности терапии с введением АФ и применением НАПС у больных с длительно не заживающими эрозиями/язвами продемонстрировало, что на 14-й день после введения АФ 13 длительно не заживающих (52%) эрозий полностью эпителизировались. Площадь 12 (48%) из 25 длительно не заживающих эрозий уменьшилась на 25-100%, что свидетельствовало о клиническом улучшении (Рисунок 44 А). При этом на 14-й день применения НАПС полному заживлению подверглись 6 (28,6%) из 21 длительно не заживающей эрозии/язвы. Клиническое улучшение в виде сокращения исходной площади 9 эрозий на 25-99% наблюдалось в 42,8% случаев. Отсутствие динамики отмечено в 28,6% случаев (Рисунок 44 Б).

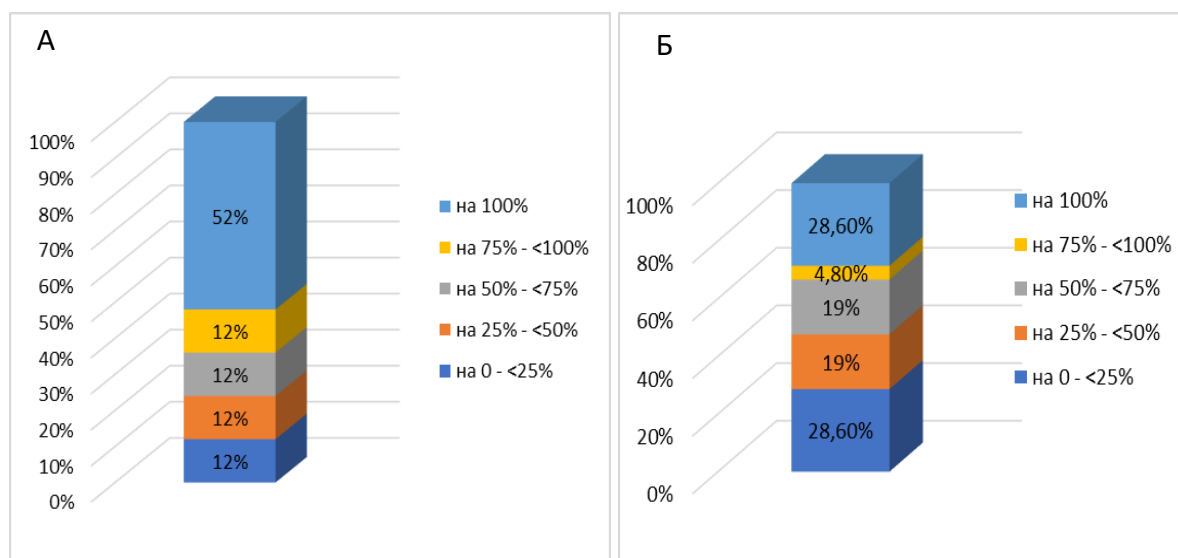


Рисунок 44 – Результаты применения АФ (А) и НАПС (Б) на 14-й день у больных ВБЭ с длительно не заживающими эрозиями/язвами

Статистически значимая разница отсутствовало при сравнении значений исходной площади длительно не заживающих эрозий/язв, на которые накладывали НАПС и в которые вводили АФ ($p > 0,05$).

На 14-й день терапии отмечено статистически значимое уменьшение площади длительно не заживающих эрозий/язв как после введения АФ, так и после применения НАПС ($p>0,05$).

Однако на 30-й день лечение отмечается достоверно более выраженное уменьшение площади после введения АФ в независимости от концентрации суспензии в сравнении с применением НАПС ($p<0,05$). Доля сокращения площади на 30-й день также более достоверно выражена после применения АФ, чем после использования НАПС ($p<0,05$).

Через 30 дней после введения аллогенных фибробластов отмечено заживление 20 (80%) (Рисунок 45А) длительно не заживающих эрозий/язв, что наблюдалось значительно чаще, чем у пациентов, которым накладывали только неадгезивные повязки, у которых полностью эпителизировались лишь 8 (38,1%) эрозий (Рисунок 45Б).

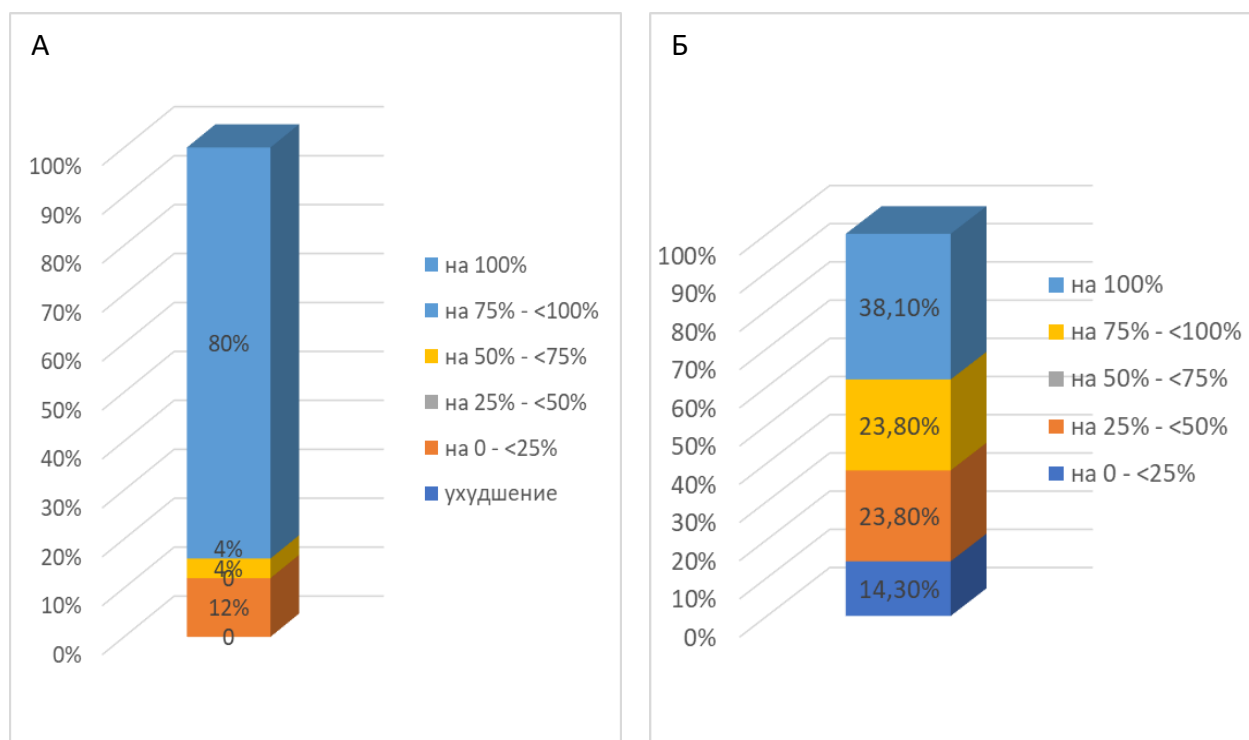


Рисунок 45 - Результаты применения АФ (А) и НАПС (Б) на 30-й день у больных ВБЭ с длительно не заживающими эрозиями/язвами

3.8. Динамика экспрессии структурных белков (коллагены VII и XVII типов, $\alpha 3$, $\beta 3$ и $\gamma 2$ цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин, киндлин-1) дермо-эпидермального соединения в биоптатах кожи больных врожденным буллезным эпидермолизом после внутрикожного введения аллогенных фибробластов

На 14-е сутки проведено повторное взятие биопсии из краев 24-х из 25 длительно не заживающих эрозий/язв после внутрикожных инъекций АФ. В одном случае пациент подписал письменный отказ от проведения биопсии.

При проведении ИАК до введения суспензии АФ выявлено значительное снижение экспрессии белков (коллагенов VII и XVII типов, $\alpha 3$ -, $\beta 3$ - и $\gamma 2$ -цепи ламинина-332, $\alpha 6\beta 4$ интегрин и киндлин-1) в 20 (83,33%) случаях, незначительное снижение экспрессии в 3 (12,5%) случаях и отсутствие экспрессии белков в области дермо-эпидермальной границы в 1 (4,17%) случае (Рисунок 46). Уровень нормальной экспрессии, соответствующей свечению в здоровой коже, ни у одного из пациентов выявлен не был.

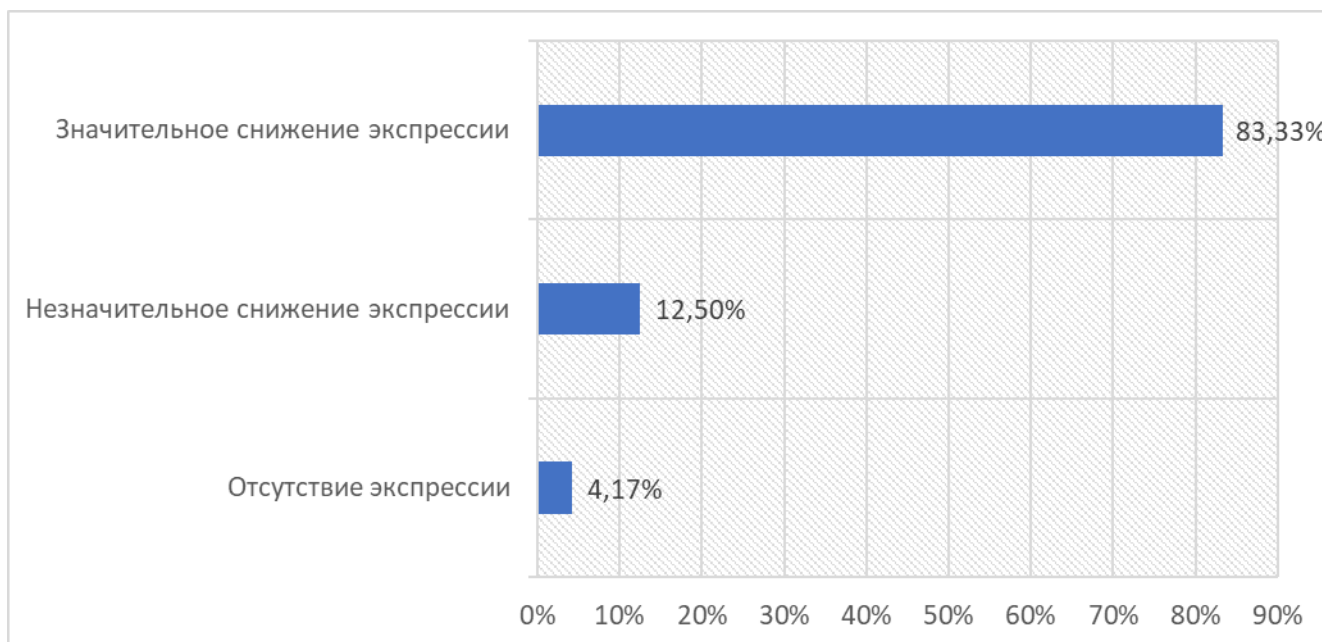


Рисунок 46 – Степень снижения экспрессии структурных белков (коллагена VII, коллаген XVII, $\beta 3$ -цепи ламинина 332 и киндлин-1) дермо-эпидермального соединения в биоптатах кожи больных ВБЭ до введения АФ, n=24

Результаты проведения ИАК на 14 день после введения суспензии аллогенных фибробластов в 24-х биоптатах кожи обнаружено незначительное повышение экспрессии в области 10 (41,7%) длительно не заживающих эрозивно-язвенных дефектов кожи. Значительное повышение экспрессии отмечено в области 11 (45,8%) эрозий. Отсутствие динамики экспрессии наблюдалось в области 3 (12,5%) эрозий, в которые вводили АФ. Полного восстановления экспрессии не отмечалось ни в одном из случаев (рисунок 47).

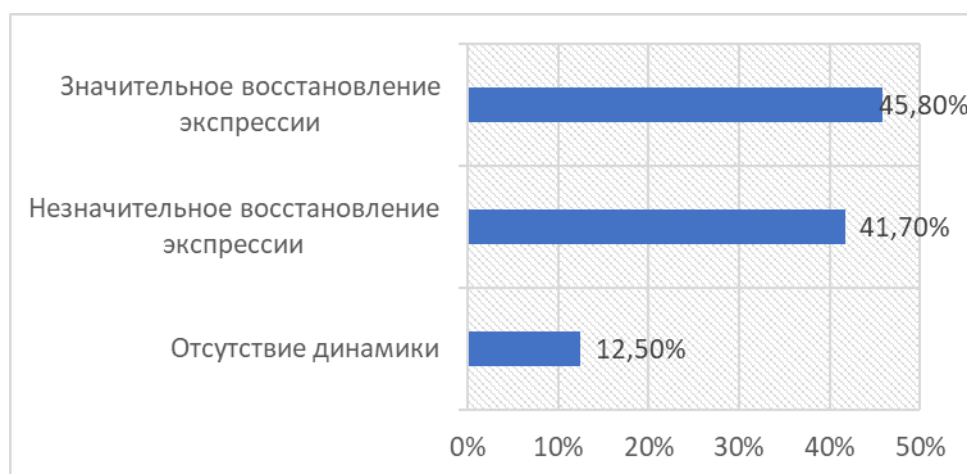


Рисунок 47 – Динамика повышения экспрессии структурных белков (коллагена VII, коллаген XVII, $\beta 3$ -цепи ламинина 332 и киндлин-1) в области дермо-эпидермального соединения в биоптатах кожи больных ВБЭ на 14-й день после введения АФ

Таким образом, положительная динамика в виде повышения исходного уровня экспрессии структурных белков кожи (коллаген VII типа, коллаген XVII типа и $\beta 3$ -цепь ламинина 332) после введения аллогенных фибробластов наблюдалась в 86,95% случаев. Отсутствие динамики экспрессии отмечалось в 13,05% после введения АФ (рисунок 48). Было выявлено статистически значимое увеличение экспрессии на 14-й день после введения суспензии аллогенных фибробластов ($p=0,049$).

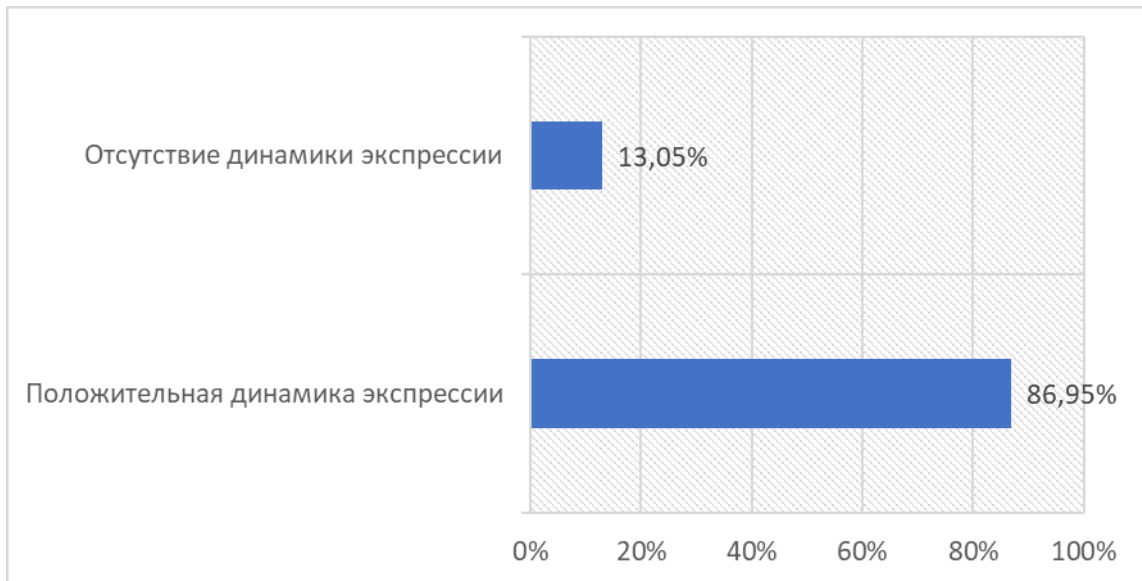


Рисунок 48 – Динамика экспрессии структурных белков в биоптатах кожи больных врожденным буллезным эпидермолизом на 14-й день после введения АФ

Выявлена слабая положительная корреляционная связь ($r=0,498$, $p=0,015$) между выраженностью клинического эффекта, заключавшегося в уменьшении площади эрозий/язв, и выраженностью повышения экспрессии дефицитных белков (коллагена VII, коллаген XVII, $\beta 3$ -цепи ламинина 332 и киндлин-1) (Рисунок 49). Корреляционных связей между долей сокращения площади эрозий/язв и выраженностью повышения экспрессии структурных белков кожи не установлено.

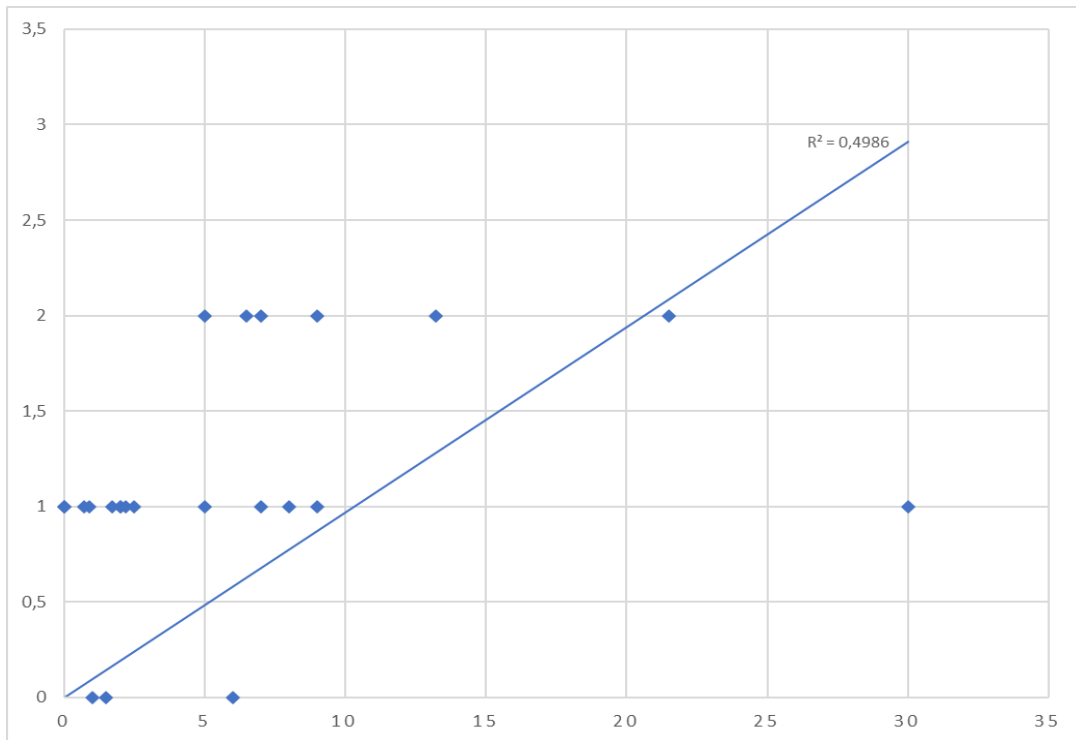


Рисунок 49 – Зависимость между площадью эрозий/язв и степенью увеличения экспрессии дефицитных белков в области дермо-эпидермального соединения на 14-е сутки терапии аллогенными фибробластами

3.9. Мониторинг клинического состояния больных после внутрикожного введения аллогенных фибробластов

Через 3 месяца после введения аллогенных фибробластов больным проведена оценка состояния кожи в месте инъекций.

Из 20 заживших к 30-м суткам эрозий/язв в области 13 (65%) из них не наблюдалось спонтанного образования новых пузырей/эрозий. В области 7 (35%) эрозий новые эрозии и пузыри продолжили появляться (Рисунок 50). Образование новых пузырей/эрозий вследствие механической травмы отмечено в 4 (57,2%) случаях, а спонтанное возникновение наблюдалось в 3 (42,8%) случаях.

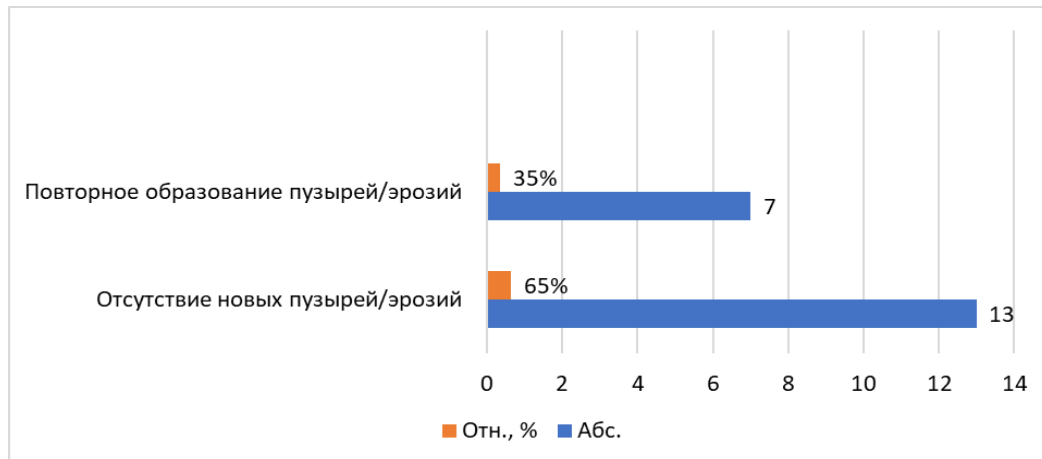


Рисунок 50 – Распределение эрозий/язв по наличию повторного образования эрозий/пузырей через 3 месяца после введения алоггенных фибробластов (n=25)

Из 5 эрозий, не заживших на 30-е сутки после введения фибробластов, 2 эрозии эпителизировались полностью через 3 месяца, однако после заживления на их месте вновь произошло спонтанное образование новых элементов. 3 эрозии полностью не эпителизировались. Через 3 месяца со стороны патологического процесса положительной динамики не наблюдалось. Объем и характер экссудата, края и размер эрозий остались прежними (Таблица 18).

Таблица 18 – Длительно не заживающие эрозии, не эпителизовавшиеся на 30-е сутки после введения аллогенных фибробластов (n=5)

Число эрозий	Динамика заживления через 3 месяца после введения аллогенных фибробластов	Характеристика места инъекций после терапии
2	Полная эпителизация	Наличие новых пузырей/эрозий
3	Эрозии не эпителизировались	Отсутствие динамики (эрозии сохранили прежний размер)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ВБЭ является группой генетических заболеваний кожи, характеризующейся патологической хрупкостью кожных покровов, возникающей вследствие мутаций в генах структурных белков эпидермиса и дермо-эпидермального соединения. ВБЭ относится к орфанным и инвалидизирующим заболеваниям (Fine J.D., Bruckner-Tuderman L., Eady R.A. et al., 2014).

Учитывая вовлечение в патогенез заболевания более 20 структурных белков кожи, ВБЭ характеризуется многообразием клинических проявлений и наличием более 30 клинических подтипов, что существенно затрудняет диагностику. Необходимо использование метода иммунофлюоресцентного антигенного картирования для верификации клинического диагноза с целью выявления дефицитного структурного белка в зоне дермо-эпидермального сочленения в биоптатах кожи больных (Rao R., Mellerio J., Groves R. and Bhogal B., 2012). Тип мутации в генах, кодирующих белки, и структура самого белка определяют тяжесть клинических проявлений буллезного эпидермолиза.

К клиническим проявлениям тяжелого подтипа рецессивного дистрофического буллезного эпидермолиза относятся генерализованное поражение кожного покрова и слизистых оболочек внутренних органов. У таких больных в детском возрасте быстро развиваются осложнения по типу псевдосиндактилий, микростомии, анкилоглоссии, контрактур суставов (Fine J.D., 2010). Смертельное осложнение рецессивного дистрофического типа буллезного эпидермолиза – плоскоклеточный рак кожи, развивающийся в области длительно не заживающих эрозий/язв (Mellerio J.E., Robertson S.J., Bernardis C. et al, 2015). Основным методом лечения больных буллезным эпидермолизом остается наружная терапия с применением неадгезивных атравматических перевязочных средств с целью ускорения заживления эрозивно-язвенных дефектов кожи (Кубанов А. А. и др., 2019 повязки). Однако, эффективность данных средств недостаточна для терапии длительно не заживающих эрозий/язв, в связи с чем современные методы

терапии направлены на стимуляцию эпителизации, восстановление синтеза дефицитных структурных белков кожи и коррекцию мутаций.

В результате проведённой работы на основании полученных данных показатель распространенности врожденного буллезного эпидермолиза в Российской Федерации, согласно оценке, в 2017 году - 4,24 на миллион населения, в 2018 году – 5,29 на миллион населения, в 2019 году - 4,44 на миллион населения. Заболеваемость врожденным буллезным эпидермолизом всего населения Российской Федерации в 2017 году составила 0,25 на миллион населения, в 2018 году - 0,22 на миллион всего населения, в 2019 году - 0,18 на миллион всего населения. Лабораторное подтверждение диагноза каким-либо методом было осуществлено только у 88 (19%) пациентов. У 154 (34%) пациентов диагноз был установлен только на основании клинических данных и данных анамнеза. Для 210 (46%) пациентов данные по лабораторному обследованию по поводу ВБЭ отсутствуют. Из 88 пациентов, имеющих лабораторное подтверждение диагноза ВБЭ, методом гистологического исследования диагноз подтвержден 24 (5%) пациентам. Методом РИФ диагноз ВБЭ подтвержден 3 (1%) пациентам. Методом генетического исследования диагноз подтвержден 28 (6%) пациентам.

По результатам проведенного иммунофлюоресцентного антигенного картирования у 20 (60,61%) больных из 33 клинический диагноз подтвержден. 13 (39,39%) больным основной тип ВБЭ был изменен. Диагностика ВБЭ методом ИАК позволила определить подтип заболевания у 30 (90,9%) пациентов, что статистически значимо чаще, чем в случае, если диагностика основывалась лишь на клинико-анамнестических данных ($p < 0,05$).

При обследовании у 11 пациентов с РДБЭ и ПгрБЭ выявлено 98 эрозий, из которых 52 эрозии существовали на коже не более 1 месяца, и 46 длительно не заживающих эрозивно-язвенных дефектов. После применения неадгезивного перевязочного материала на эрозии без нарушения срока заживления на 30-е сутки наблюдалась полная эпителизация 40 (76,92%) эрозий. Терапия с

применением НАПС позволила достигнуть статистически значимого уменьшения площади эрозий на 30 день ($p < 0,05$). Значение площади эрозий/язв варьировало от 0 см² до 65 см², в среднем – $4,6 \pm 13,43$ см², доля сокращения площади составила в среднем $82,27 \pm 34,52$ см². На 30-й день терапии с использованием НАПС было отмечено полное заживление 8 (38,1%) из 21 длительно не заживающей эрозии. Площадь эрозий составляла от 0 см² до 30,4 см², в среднем – $5,2 \pm 7,8$ см², доля сокращения площади составила в среднем $67,05 \pm 39,77$ см².

Внутрикожное введение суспензии аллогенных фибробластов в края 25 длительно не заживающих эрозивно-язвенных дефектов кожи привело к полному заживлению 20 (80%) эрозий на 30-й день терапии. В результате проведенного лечения на 14-й и 30-й дни терапии отмечено статистически значимое уменьшение площади длительно не заживающих эрозий/язв ($p < 0,05$). Выявлены статистически значимые различия в доле сокращения площади эрозий на 30-й день после применения АФ ($p < 0,05$). Доля сокращения площади на 30-й день также более достоверно выражена после применения АФ, чем после использования НАПС ($p < 0,05$).

После введения аллогенных фибробластов положительная динамика в виде повышения исходного уровня экспрессии структурных белков кожи (коллаген VII типа, коллаген XVII типа и $\beta 3$ -цепь ламинина 332) наблюдалось в 86,95% случаев. Было выявлено статистически значимое увеличение экспрессии на 14-й день после введения суспензии аллогенных фибробластов ($p = 0,049$).

Корреляционный анализ выявил слабую положительную корреляционную связь ($r = 0,498$, $p = 0,015$) между уменьшением площади эрозий/язв и более выраженным повышением экспрессии дефицитных белков (коллагена VII, коллаген XVII, $\beta 3$ -цепи ламинина 332 и киндлин-1).

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о недостаточной лабораторной диагностике врожденного буллезного эпидермолиза на территории Российской Федерации, а также о низком проценте применения неадгезивных перевязочных средств пациентами. Метод

иммунофлюоресцентного антигенного картирования позволяет определить дефицитный белок в зоне дермо-эпидермального соединения, что имеет высокую диагностическую значимость для уточнения типа буллезного эпидермолиза.

Использование неадгезивных перевязочных средств приводит к эпителизации эрозий/язв без нарушения сроков заживления, в то время как их применение на длительно не заживающие эрозии малоэффективно. Введение аллогенных фибробластов способствует эпителизации длительно не заживающих эрозий в 80% случаев и восстановлению синтеза дефицитных структурных белков дермо-эпидермального соединения. На основании полученных данных разработаны подходы к методам диагностики и терапии врожденного буллезного эпидермолиза.

ВЫВОДЫ

1. Показатели заболеваемости и распространенности врожденного буллезного эпидермолиза в Российской Федерации сопоставимы с международным уровнем и составляют 0,18 и 4,44 на миллион населения соответственно. Среди обследованных субъектов Российской Федерации выявлен регион (республика Дагестан) с аномально высоким уровнем распространенности 50,26 на миллион населения. В Российской Федерации недостаточно используются методы лабораторного подтверждения диагноза врожденного буллезного эпидермолиза, диагностические методы, основанные на определении мутантного белка, используются лишь в 26% случаев. Анализ объема, оказываемой медицинской помощи больным, продемонстрировал низкую долю (39,5%) применения неадгезивного перевязочного материала.
2. ИАК является информативным методом диагностики врожденного буллезного эпидермолиза, позволяющий верифицировать клинически установленный тип врожденного буллезного эпидермолиза у 60,61% больных, а также определить тип заболевания у 90,9% пациентов ($p < 0,05$).
3. Применение неадгезивных атравматических перевязочных средств терапии у больных врожденным буллезным эпидермолизом с эрозивно-язвенными дефектами кожи без нарушения нормального срока заживления и с длительно не заживающими эрозиями/язвами позволяет достичь статистически значимого уменьшения площади эрозий на 14-й и 30-й дни терапии ($p < 0,05$).
4. Внутрикожное введение суспензии аллогенных фибробластов стимулирует заживление длительно (более 1 месяца) не заживающих эрозий/язв кожи у больных врожденным буллезным эпидермолизом, что подтверждается статистически значимым уменьшением исходной площади эрозий/язв на 14-й и 30-й ($p < 0,05$) дни терапии. Введение аллогенных фибробластов в края длительно не заживающих эрозий/язв приводит к статистически более значимому сокращению исходной площади на 30-й день терапии в

сравнении с применением неадгезивных атравматичных перевязочных средств ($p < 0,05$).

5. Введение суспензии аллогенных фибробластов приводит к повышению экспрессии дефицитного мутантного белка зоны дермо-эпидермального соединения в 86,95% случаев ($p = 0,049$) на 14-й день после терапии аллогенными фибробластами, что было подтверждено результатами повторного иммунофлюоресцентного антигенного картирования.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В связи с многообразием клинических проявлений врожденного буллезного эпидермолиза, сложностью постановки диагноза только на основании клинико-анамнестических данных для уточнения диагноза рекомендуется применение метода иммунофлюоресцентного антигенного картирования.
2. Ввиду наличия множественных эрозивно-язвенных дефектов кожи у больных врожденным буллезным эпидермолизом, риска развития плоскоклеточного рака кожи для сокращения сроков эпителизации эрозий/язв пациентам необходимо проведение рациональной наружной терапии с применением атравматичных неадгезивных перевязочных средств.
3. Больным врожденным буллезным эпидермолизом с длительно не заживающими эрозиями/язвами рекомендовано введение аллогенных фибробластов для достижения эпителизации дефектов кожи и восстановления экспрессии дефицитных белков дермо-эпидермального соединения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АФ** – аллогенные фибробласты
- ВБЭ** – врожденный буллезный эпидермолиз
- ДБЭ** – дистрофический буллезный эпидермолиз
- ДЭС** – дермо-эпидермальное соединение
- ИАК** – иммунофлюоресцентное антигенное картирование
- иПСК** – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки
- РДБЭ** – рецессивный дистрофический буллезный эпидермолиз
- ДДБЭ** – доминантный дистрофический буллезный эпидермолиз
- МСК** – мезенхимальные стволовые клетки
- НАПС** – неадгезивные перевязочные средства
- ПгрБЭ** – пограничный буллезный эпидермолиз
- ПБЭ** – простой буллезный эпидермолиз
- ТЭМ** – трансмиссионная электронная микроскопия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альбанова В. И. Буллезный эпидермолиз у детей первого года жизни //Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2010. – Т. 55. – №. 3. – С. 110-117.
2. Альбанова В. И., Гольченко В. А. Лечение буллезного эпидермолиза //Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2013. – №. 4. – С. 21-24.
3. Альбанова В. И., Смольяникова В. А., Гольченко В. А. Синдром Киндлер-редкий тип врожденного буллезного эпидермолиза //Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – №. 4. – С. 95-104.
4. Афонин А.А., Лебеденко А.А., Шокарев А.В., Козырева Т.Б., Тараканова Т.Д. Случай врождённого буллёзного эпидермолиза у новорождённого ребёнка //Медицинский вестник Юга России. – 2016. – №. 2. – С. 75-78.
5. Бейлин А. К., Гурская Н. Г., Воротеляк Е. А. Методы генной терапии для лечения врожденного буллезного эпидермолиза //Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. – 2018. – №. 4. – С. 233-241.
6. Бобко С. И., Альбанова В. И. Проблемы физического развития больных буллезным эпидермолизом //Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2011. – №. 5. – С. 42-43.
7. Буллезный эпидермолиз: руководство для врачей / под ред. Мурашкина Н.Н., Намазовой-Барановой Л.С. – М.: ПедиатрЪ, 2019. – 444 с.
8. Гаджимурадов М. Н. и др. Врожденный буллезный эпидермолиз. Клинические особенности и собственные наблюдения //Klinicheskaya Dermatologia I Venerologia. – 2020. – Т. 19. – №. 5.
9. Гаджимурадов М. Н. и др. Врожденный буллезный эпидермолиз. Клинические особенности и собственные наблюдения //Клиническая дерматология и венерология. – 2020. – Т. 19. – №. 5. – С. 647-654.
- 10.Зорин В.Л., Зорина А.И., Черкасов В.Р. Дермальные фибробласты: что нового? // Косметика и Медицина. - 2010. - №3. - С. 28–34.

11. Калинина Н. И. и др. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей // *Acta Naturae*. – 2011. – Т. 3. – №. 4. – С. 32-39.
12. Карамова А.Э., Кубанов А.А., Воротеляк Е.А., Роговая О.С., Чикин В.В., Нефедова М.А., Мончаковская Е.С. Эффективность живого эквивалента кожи в терапии врожденного буллезного эпидермолиза // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2023. – №. 6. – С. 29-36.
13. Коталевская Ю. Ю. Генетическое разнообразие буллезного эпидермолиза у российских больных // *Медицинская генетика*. – 2021. – Т. 20. – №. 11. – С. 45-48.
14. Кубанов А. А. и др. Медико-социальные аспекты врожденного буллезного эпидермолиза в Российской Федерации // *Медицинские технологии. Оценка и выбор*. – 2021. – №. 2 (43). – С. 44-50.
15. Кубанов А. А. и др. Распространенность врожденного буллезного эпидермолиза у населения Российской Федерации // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2015. – №. 3. – С. 21-30.
16. Кубанов А. А. и др. Современные методы терапии врожденного буллезного эпидермолиза // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2014. – №. 6. – С. 47-56.
17. Кубанов А. А. и др. Терапия больных врожденным буллезным // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2019. – №. 1. – С. 30-40.
18. Кубанов А. А. и др. Эпидемиология и состояние оказания медицинской помощи больным врожденным буллезным эпидермолизом в Российской Федерации // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2018. – Т. 73. – №. 6. – С. 420-430.
19. Кубанов А. А., Богданова Е. В. Что такое регистры пациентов и зачем они нужны (на примере регистров пациентов с псориазом) // *Вестник Российской академии медицинских наук*. – 2021. – Т. 76. – №. 2. – С. 177-186.

20. Кубанов А. А., Карамова А. Э., Мончаковская Е. С. Врожденный буллезный эпидермолиз: современные методы диагностики и терапии. Перспективы регенеративной медицины // Вестник дерматологии и венерологии. – 2020. – Т. 96. – №. 1. – С. 10-17.
21. Кубанов А.А., Карамова А.Э., Альбанова В.И., Чикин В.В., Мончаковская Е.С. Врожденный буллезный эпидермолиз: особенности регенерации эпидермиса и методы терапии // Вестник дерматологии и венерологии. – 2017. – №. 4. – С. 28-37.
22. Кубанов А.А., Чикин В.В., Карамова А.Э., Мончаковская Е.С. Пограничный буллезный эпидермолиз: клинико-генетические корреляции // Вестник дерматологии и венерологии. – 2022. – Т. 98. – №. 6. – С. 17-38.
23. Кубанова А. А., Мурашкин Н. Н. Особенности современного течения и эпидемиологии буллезного эпидермолиза в Краснодарском крае // Вестник дерматологии и венерологии. – 2011. – №. 1. – С. 59-65.
24. Макарова С. Г. и др. Коррекция нутритивного статуса в комплексной терапии детей, страдающих дистрофической формой врожденного буллезного эпидермолиза диагностика в педиатрии // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Т. 13. – №. 6. – С. 577-586.
25. Макарова С. Г. и др. Коррекция нутритивного статуса в комплексной терапии детей, страдающих дистрофической формой врожденного буллезного эпидермолиза диагностика в педиатрии // Педиатрическая фармакология. – 2016. – Т. 13. – №. 6. – С. 577-586.
26. Мурашкин Н. Н. и др. Оценка нутритивного дисбаланса у детей с врожденным буллезным эпидермолизом // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2018. – №. 1. – С. 61-65.
27. Постановление Правительства Российской Федерации "О порядке ведения Федерального регистра лиц, страдающих жизнеугрожающими и хроническими прогрессирующими редкими (орфанными) заболеваниями,

приводящими к сокращению продолжительности жизни граждан или их инвалидности, и его регионального сегмента" от 26.04.2012 № 403.

- 28.Пушков А. А., Жанин И. С., Пахомов А. В. и др. Применение массового параллельного секвенирования для диагностики генетически обусловленных дерматозов, объединенных симптомокомплексом буллезного эпидермолиза, у российских детей // Материалы научно-практических конференций в рамках VIII Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2022). – 2022. – С. 102-102.
- 29.Самцов А.В., Белоусова И.Э. Буллезные дерматозы: монография. – СПб.: ООО «Издательско-полиграфическая компания «КОСТА», 2012. – 144 с.
- 30.Сердюкова Е. А., Попов В. В. Лечение врожденного буллезного эпидермолиза у детей //Лекарственный вестник. – 2016. – Т. 10. – №. 4. – С. 43-47.
- 31.Смольяникова В. А. и др. Современные подходы к морфологической диагностике различных типов врожденного буллезного эпидермолиза //Архив патологии. – 2016. – Т. 78. – №. 6. – С. 9-16.
- 32.Федеральный закон от 21.11.2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». / [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения Российской Федерации : [сайт]. — URL: <https://minzdrav.gov.ru/documents/7025> (дата обращения: 20.11.2024).
33. Шурова Л. В. И др. Хирургическое лечение больного с врожденным буллезным эпидермолизом, осложненным развитием деформаций кистей и стоп //Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2016. – Т. 6. – №. 4. – С. 98-101.
- 34.Шурова Л. В. И др. Хирургическое лечение псевдосиндактилии кистей при буллезном эпидермолизе: клиническое наблюдение и особенности ухода //Клиническая и экспериментальная хирургия. – 2015. – №. 2 (8). – С. 76-82.

- 35.1000 Genomes Project Consortium, Auton A, Brooks LD et al. A global reference for human genetic variation //Nature. – 2015. – T. 526. – №. 7571. – C. 68-74.
36. Alexandrov L. B. et al. Signatures of mutational processes in human cancer //Nature. – 2013. – T. 500. – №. 7463. – C. 415-421.
- 37.Banky J. P., Sheridan A.T., Storer E.L., Marshman G. Successful treatment of epidermolysis bullosa pruriginosa with topical tacrolimus //Archives of dermatology. – 2004. – T. 140. – №. 7. – C. 794-796.
- 38.Bolling M. C., Lemmink H.H., Jansen G.H.L., Jonkman M.F. Mutations in KRT5 and KRT14 cause epidermolysis bullosa simplex in 75% of the patients //British Journal of Dermatology. – 2011. – T. 164. – №. 3. – C. 637-644.
- 39.Bonamonte D., Filoni A., De Marco A. et al. Squamous Cell Carcinoma in Patients with Inherited Epidermolysis Bullosa: Review of Current Literature //Cells. – 2022. – T. 11. – №. 8. – C. 1365.
- 40.Brandling-Bennett H. A., Morel K. D. Common wound colonizers in patients with epidermolysis bullosa //Pediatric dermatology. – 2010. – T. 27. – №. 1. – C. 25-28.
- 41.Castiglia D., Zambruno G. Epidermolysis bullosa care in Italy //Dermatologic clinics. – 2010. – T. 28. – №. 2. – C. 407-409.
- 42.Christiano A. M. et al. Premature termination codons in the type VII collagen gene (COL7A1) underlie severe, mutilating recessive dystrophic epidermolysis bullosa //Genomics. – 1994. – T. 21. – №. 1. – C. 160-168.
- 43.Christiano A.M., Greenspan D.S., Lee S., Uitto J. Cloning of human type VII collagen. Complete primary sequence of the alpha 1 (VII) chain and identification of intragenic polymorphisms //Journal of Biological Chemistry. – 1994. – T. 269. – №. 32. – C. 20256-20262.
- 44.Cianfarani F., Zambruno G., Castiglia D., Odorisio T. Pathomechanisms of altered wound healing in recessive dystrophic epidermolysis bullosa //The American journal of pathology. – 2017. – T. 187. – №. 7. – C. 1445-1453.

45. Clark S. Iron deficiency anemia: diagnosis and management. *Curr Opin Gastroenterol* 2009;25:122–8.
46. Condorelli A. G., Dellambra E., Logli E., Zambruno G., Castiglia D. Epidermolysis bullosa-associated squamous cell carcinoma: from pathogenesis to therapeutic perspectives // *International journal of molecular sciences*. – 2019. – T. 20. – №. 22. – C. 5707.
47. Danescu S., Has C., Senila S. et al. Epidemiology of inherited epidermolysis bullosa in Romania and genotype–phenotype correlations in patients with dystrophic epidermolysis bullosa // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2015. – T. 29. – №. 5. – C. 899-903.
48. Dang N., Klingberg S., Rubin A.I. et al. Differential expression of pyloric atresia in junctional epidermolysis bullosa with ITGB4 mutations suggests that pyloric atresia is due to factors other than the mutations and not predictive of a poor outcome: three novel mutations and a review of the literature // *Acta dermatovenereologica*. – 2008. – T. 88. – №. 5. – C. 438-448.
49. Danial C., Adeduntan R., Gorell E.S., Lucky A.W., Paller A.S., Bruckner A. et al. Prevalence and characterization of pruritus in epidermolysis bullosa // *Pediatric dermatology*. – 2015. – T. 32. – №. 1. – C. 53-59.
50. Denyer J. Pillay E., Clapham J. et al. Best practice guidelines for skin and wound care in epidermolysis bullosa // *An International Consensus. Wounds International*. – 2017.
51. Eady R. A. J., Dopping-Hepenstal P. J. C. Transmission electron microscopy for the diagnosis of epidermolysis bullosa // *Dermatologic clinics*. – 2010. – T. 28. – №. 2. – C. 211-222.
52. El Hachem M. Zambruno G., Bourdon-Lanoy E. et al. Multicentre consensus recommendations for skin care in inherited epidermolysis bullosa // *Orphanet Journal of rare diseases*. – 2014. – T. 9. – C. 1-20.

- 53.Eming S. A., Hammerschmidt M., Krieg T., Roers A. Interrelation of immunity and tissue repair or regeneration //Seminars in cell & developmental biology. – Academic Press, 2009. – T. 20. – №. 5. – C. 517-527.
- 54.Eriksson J. E., Dechat T., Grin B. et al. Introducing intermediate filaments: from discovery to disease //The Journal of clinical investigation. – 2009. – T. 119. – №. 7. – C. 1763-1771.
- 55.Fine J. D. Epidemiology of inherited epidermolysis bullosa based on incidence and prevalence estimates from the National Epidermolysis Bullosa Registry //JAMA dermatology. – 2016. – T. 152. – №. 11. – C. 1231-1238.
- 56.Fine J. D. Inherited epidermolysis bullosa //Orphanet journal of rare diseases. – 2010. – T. 5. – №. 1. – C. 12.
- 57.Fine J. D., Bruckner-Tuderman L., Eady R.A. et al. Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification //Journal of the American Academy of Dermatology. – 2014. – T. 70. – №. 6. – C. 1103-1126.
- 58.Fine J. D., Eady R.A., Bauer E.A. et al. The classification of inherited epidermolysis bullosa (EB): Report of the Third International Consensus Meeting on Diagnosis and Classification of EB //Journal of the American Academy of Dermatology. – 2008. – T. 58. – №. 6. – C. 931-950.
- 59.Fine J. D., Johnson L. B., Suchindran C. M. The national epidermolysis bullosa registry //The Journal of Investigative Dermatology. – 1994. – T. 102. – №. 6. – C. 54S-56S.
- 60.Fine J. D., Johnson L.B., Suchindran C. et al. Cutaneous and skin-associated musculoskeletal manifestations of inherited EB: the National Epidermolysis Bullosa Registry experience //Epidermolysis bullosa: clinical, epidemiologic, and laboratory advances, and the findings of the National Epidermolysis Bullosa Registry. – 1999. – C. 175-192.
- 61.Fine J. D., McGuire J. Altered nutrition and inherited epidermolysis bullosa //Epidermolysis bullosa: clinical, epidemiologic, and laboratory advances, and the

- findings of the National Epidermolysis Bullosa Registry. – Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1999. – C. 225-235.
62. Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M. et al. Epidermolysis bullosa and the risk of life-threatening cancers: the National EB Registry experience, 1986-2006 // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 2009. – T. 60. – №. 2. – C. 203-211.
63. Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M. et al. Eye involvement in inherited epidermolysis bullosa: experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry // *American journal of ophthalmology*. – 2004. – T. 138. – №. 2. – C. 254-262.
64. Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Suchindran C. Gastrointestinal complications of inherited epidermolysis bullosa: cumulative experience of the National Epidermolysis Bullosa Registry // *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. – 2008. – T. 46. – №. 2. – C. 147-158.
65. Fine J.D., Johnson L.B., Weiner M., Suchindran C. Tracheolaryngeal complications of inherited epidermolysis bullosa: cumulative experience of the national epidermolysis bullosa registry // *The Laryngoscope*. – 2007. – T. 117. – №. 9. – C. 1652-1660
66. Fine J.D., Mellerio J. Extracutaneous manifestations and complications of inherited epidermolysis bullosa: part II. Other organs // *J am acad Dermatol*. – 2009. – T. 61. – C. 387-402.
67. Fine JD, Johnson LB, Suchindran C, Moshell A, Gedde-Dahl T. The epidemiology of inherited EB: findings within American, Canadian, and European study populations // *Epidermolysis bullosa: clinical, epidemiologic, and laboratory advances, and the findings of the National Epidermolysis Bullosa Registry*. – 1999. – C. 101-113.
68. Fine JD, Johnson LB, Weiner M, Suchindran C. Cause-specific risks of childhood death in inherited epidermolysis bullosa // *The Journal of pediatrics*. – 2008. – T. 152. – №. 2. – C. 276-280. e2.

- 69.Flanagan M. The physiology of wound healing //Journal of wound care. – 2000. – T. 9. – №. 6. – C. 299-300.
- 70.Gache Y., Allegra M., Bodemer C. et al. Genetic bases of severe junctional epidermolysis bullosa presenting spontaneous amelioration with aging //Human molecular genetics. – 2001. – T. 10. – №. 21. – C. 2453-2461.
- 71.Gache Y., Baldeschi C., Del Rio M. et al. Construction of skin equivalents for gene therapy of recessive dystrophic epidermolysis bullosa //Human gene therapy. – 2004. – T. 15. – №. 10. – C. 921-933.
- 72.Georgiadis C., Syed F., Petrova A. et al. Lentiviral engineered fibroblasts expressing codon-optimized COL7A1 restore anchoring fibrils in RDEB //Journal of Investigative Dermatology. – 2016. – T. 136. – №. 1. – C. 284-292.
- 73.Giardina P. J., Lin A. N. Hematologic problems in epidermolysis bullosa //Epidermolysis bullosa: basic and clinical aspects. – New York, NY: Springer New York, 1992. – C. 191-197.
- 74.Glaser R., Kiecolt-Glaser J. K. Stress-induced immune dysfunction: implications for health //Nature reviews immunology. – 2005. – T. 5. – №. 3. – C. 243-251.
- 75.Goldschneider K. R. et al. Pain care for patients with epidermolysis bullosa: best care practice guidelines //BMC medicine. – 2014. – T. 12. – C. 1-23.
- 76.Gudmundsson S. Singer-Berk M, Watts NA et al. Variant interpretation using population databases: Lessons from gnomAD //Human mutation. – 2022. – T. 43. – №. 8. – C. 1012-1030.
- 77.Hammami-Hauasli N., Schumann H., Raghunath M. et al. Some, but Not All, Glycine Substitution Mutations inCOL7A1 Result in Intracellular Accumulation of Collagen VII, Loss of Anchoring Fibrils, and Skin Blistering //Journal of Biological Chemistry. – 1998. – T. 273. – №. 30. – C. 19228-19234.
- 78.Hammersen J. Has C., Naumann-Bartsch N. et al. Genotype, clinical course, and therapeutic decision making in 76 infants with severe generalized junctional epidermolysis bullosa //Journal of Investigative Dermatology. – 2016. – T. 136. – №. 11. – C. 2150-2157.

- 79.Harding K., Williamson D. Wound healing. [Текст] / 75. Harding K., Williamson D. // Medicine. — 2004. — Т 32. — №. 12. — С. 4-7.
- 80.Hartwig B. Borm B., Schneider H. et al. Laminin-5-deficient human keratinocytes: defective adhesion results in a saltatory and inefficient mode of migration //Experimental cell research. — 2007. — Т. 313. — №. 8. — С. 1575-1587.
- 81.Has C. Bauer J.W., Bodemer C. et al. Consensus reclassification of inherited epidermolysis bullosa and other disorders with skin fragility //British Journal of Dermatology. — 2020. — Т. 183. — №. 4. — С. 614-627.
- 82.Has C. Castiglia D., del Rio M. et al. Kindler syndrome: extension of FERMT1 mutational spectrum and natural history //Human mutation. — 2011. — Т. 32. — №. 11. — С. 1204-1212.
- 83.Has C. Molecular genetic assays for inherited epidermolysis bullosa //Clinics in dermatology. — 2011. — Т. 29. — №. 4. — С. 420-426.
- 84.Has C., Fischer J. Inherited epidermolysis bullosa: new diagnostics and new clinical phenotypes //Experimental dermatology. — 2019. — Т. 28. — №. 10. — С. 1146-1152.
- 85.Has C., Kern J. S. Collagen XVII //Dermatologic clinics. — 2010. — Т. 28. — №. 1. — С. 61-66.
- 86.Haynes L. Clinical practice guidelines for nutritional support in children with epidermolysis bullosa including THINC (Tool to HelpIdentify Nutritional Compromise in EB) //London: Great Ormond Street Hospital. — 2007. — Т. 36.
- 87.Henderson J., Ferguson M. W. J., Terenghi G. The feeling of healing //Plastic and Reconstructive Surgery. — 2012. — Т. 129. — №. 1. — С. 223e-224e.
- 88.Hintner H. et al. Immunofluorescence mapping of antigenic determinants within the dermal-epidermal junction in mechanobullous diseases //Journal of Investigative Dermatology. — 1981. — Т. 76. — №. 2. — С. 113-118.
- 89.Hintner H., Wolff K. Generalized atrophic benign epidermolysis bullosa //Archives of Dermatology. — 1982. — Т. 118. — №. 6. — С. 375-384.

- 90.Horn H. M., Priestley G.C., Eady R.A.et al. The prevalence of epidermolysis bullosa in Scotland //British Journal of Dermatology. – 1997. – T. 136. – №. 4. – C. 560-564.
- 91.Hovnanian A., Duquesnoy P., Blanchet-Bardon C. et al. Genetic linkage of recessive dystrophic epidermolysis bullosa to the type VII collagen gene //The Journal of clinical investigation. – 1992. – T. 90. – №. 3. – C. 1032-1036.
- 92.Huilaja L., Hurskainen T., Autio-Harmainen H. et al. Glycine substitution mutations cause intracellular accumulation of collagen XVII and affect its post-translational modifications //The Journal of Investigative Dermatology. – 2009. – T. 129. – №. 9. – C. 2302-2306.
- 93.Hut P. H. L., vd Vlies P., Jonkman M.F. et al. Exempting homologous pseudogene sequences from polymerase chain reaction amplification allows genomic keratin 14 hotspot mutation analysis //Journal of investigative dermatology. – 2000. – T. 114. – №. 4. – C. 616-619.
- 94.Igoucheva O., Kelly A., Uitto J., et al. Protein therapeutics for Junctional Epidermolysis bullosa: incorporation of recombinant $\beta 3$ chain into laminin 332 in $\beta 3$ -/-keratinocytes in vitro //Journal of investigative dermatology. – 2008. – T. 128. – №. 6. – C. 1476-1486.
- 95.Jankowski M., Wertheim-Tysarowska K., Jakubowski R. et al. Novel KRT 14 mutation causing epidermolysis bullosa simplex with variable phenotype //Experimental Dermatology. – 2014. – T. 23. – №. 9. – C. 684-687.
- 96.Järvikallio A., Pulkkinen L., Uitto J. Molecular basis of dystrophic epidermolysis bullosa: mutations in the type VII collagen gene (COL7A1) //Human mutation. – 1997. – T. 10. – №. 5. – C. 338-347.
- 97.Kang T.W.6 Lee J.S., Kim S.E., et al. Novel and recurrent mutations in Keratin 5 and 14 in Korean patients with Epidermolysis bullosa simplex //Journal of dermatological science. – 2010. – T. 57. – №. 2. – C. 90-94.
- 98.Kawasaki H., Sawamura D., Iwao F., et al. Squamous cell carcinoma developing in a 12-year-old boy with nonHallopeau–Siemens recessive dystrophic

- epidermolysis bullosa //British Journal of Dermatology. – 2003. – T. 148. – №. 5. – C. 1047-1050.
99. Keast D. H., Fraser C. Treatment of chronic skin ulcers in individuals with anemia of chronic disease using recombinant human erythropoietin (EPO): a review of four cases //Ostomy/wound management. – 2004. – T. 50. – №. 10. – C. 64-70.
 100. Keast D.H., Bowering C.K., Evans A.W., et al. Contents: MEASURE: A proposed assessment framework for developing best practice recommendations for wound assessment //Wound Repair and Regeneration. – 2004. – T. 12. – C. s1-s17.
 101. Kelly-Mancuso G. et al. Junctional epidermolysis bullosa incidence and survival: 5-year experience of the Dystrophic Epidermolysis Bullosa Research Association of America (DebRA) nurse educator, 2007 to 2011 //Pediatric Dermatology. – 2014. – T. 31. – №. 2. – C. 159-162.
 102. Kern J. S., Grüninger G, Imsak R et al. Forty-two novel COL7A1 mutations and the role of a frequent single nucleotide polymorphism in the MMP1 promoter in modulation of disease severity in a large European dystrophic epidermolysis bullosa cohort //British Journal of Dermatology. – 2009. – T. 161. – №. 5. – C. 1089-1097.
 103. Kern J. S., Kohlhase J, Bruckner-Tuderman L. et al. Expanding the COL7A1 mutation database: novel and recurrent mutations and unusual genotype–phenotype constellations in 41 patients with dystrophic epidermolysis bullosa //Journal of investigative dermatology. – 2006. – T. 126. – №. 5. – C. 1006-1012.
 104. Kho Y.C., Rhodes L.M., Robertson S.J. et al. Epidemiology of epidermolysis bullosa in the antipodes: the Australasian Epidermolysis Bullosa Registry with a focus on Herlitz junctional epidermolysis bullosa //Archives of dermatology. – 2010. – T. 146. – №. 6. – C. 635-640.

105. Kiecolt-Glaser J. K., Marucha P., Malarkey W. et al. Slowing of wound healing by psychological stress //The Lancet. – 1995. – T. 346. – №. 8984. – C. 1194-1196.
106. Kiritsi D., Has C., Bruckner-Tuderman L. Laminin 332 in junctional epidermolysis bullosa //Cell adhesion & migration. – 2013. – T. 7. – №. 1. – C. 135-141.
107. Kiritsi D., Kern J.S., Schumann H. et al. Molecular mechanisms of phenotypic variability in junctional epidermolysis bullosa //Journal of medical genetics. – 2011. – T. 48. – №. 7. – C. 450-457.
108. Knaup J., Verwanger T., Gruber C. et al. Epidermolysis Bullosa—a group of skin diseases with different causes but commonalities in gene expression //Experimental dermatology. – 2012. – T. 21. – №. 7. – C. 526-530.
109. Küttner V. et al. Global remodelling of cellular microenvironment due to loss of collagen VII //Molecular systems biology. – 2013. – T. 9. – №. 1. – C. 657.
110. Landrum M. J., Chitipiralla S, Brown GR, et al. ClinVar: improvements to accessing data //Nucleic acids research. – 2020. – T. 48. – №. D1. – C. D835-D844.
111. Lanschützer C., Laimer M., Pohla-Gubo G. et al. Life with epidermolysis bullosa (EB): etiology, diagnosis, multidisciplinary care and therapy. – Springer Science & Business Media, 2009. — C. 333.
112. Lee J.Y.W. Liu L., Hsu C.K. et al. Mutations in KLHL24 add to the molecular heterogeneity of epidermolysis bullosa simplex //Journal of Investigative Dermatology. – 2017. – T. 137. – №. 6. – C. 1378-1380.
113. Lee M., Chen Q, Wang H et al. ITGB4-associated junctional epidermolysis bullosa without pylori atresia but profound genito-urinary involvement //Acta Dermato-Venereologica. – 2015. – T. 95. – №. 1. – C. 112-113.

114. Lee S. E. et al. Intravenous allogeneic umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell therapy in recessive dystrophic epidermolysis bullosa patients //JCI insight. – 2021. – T. 6. – №. 2.
115. Levin L.E. et al. Characterization of wound microbes in epidermolysis bullosa: Results from the epidermolysis bullosa clinical characterization and outcomes database //Pediatric dermatology. – 2021. – T. 38. – №. 1. – C. 119-124.
116. Lin Z., Li S., Feng C. et al. Stabilizing mutations of KLHL24 ubiquitin ligase cause loss of keratin 14 and human skin fragility //Nature genetics. – 2016. – T. 48. – №. 12. – C. 1508-1516.
117. Mazzanti, Gobello T., Posteraro P. et al. 180-kDa bullous pemphigoid antigen defective generalized atrophic benign epidermolysis bullosa: report of four cases with an unusually mild phenotype //British Journal of Dermatology. – 1998. – T. 138. – №. 5. – C. 859-866.
118. McGrath J.A., Ashton G.H., Mellerio J.E. et al. Moderation of phenotypic severity in dystrophic and junctional forms of epidermolysis bullosa through in-frame skipping of exons containing non-sense or frameshift mutations //Journal of investigative dermatology. – 1999. – T. 113. – №. 3. – C. 314-321.
119. McGrath J.A., Schofield O.M., Mayou B.J. et al. Epidermolysis bullosa complicated by squamous cell carcinoma: report of 10 cases //Journal of cutaneous pathology. – 1992. – T. 19. – №. 2. – C. 116-123.
120. McKenna K.E., Walsh M.Y., Bingham E.A. Epidermolysis bullosa in Northern Ireland //British Journal of Dermatology. – 1992. – T. 127. – №. 4. – C. 318-321.
121. McMillan J.R., McGrath J.A., Pulkkinen L. et al. Immunohistochemical analysis of the skin in junctional epidermolysis bullosa using laminin 5 chain specific antibodies is of limited value in predicting the underlying gene mutation //British Journal of Dermatology. – 1997. – T. 136. – №. 6. – C. 817-822.

122. Mellerio J. E. Infection and colonization in epidermolysis bullosa //Dermatologic clinics. – 2010. – T. 28. – №. 2. – C. 267-269.
123. Mellerio J.E., Robertson S.J., Bernardis C. et al. Management of cutaneous squamous cell carcinoma in patients with epidermolysis bullosa: best clinical practice guidelines //British Journal of Dermatology. – 2016. – T. 174. – №. 1. – C. 56-67.
124. Micallef L., Vedrenne N., Billet F. et al. The myofibroblast, multiple origins for major roles in normal and pathological tissue repair //Fibrogenesis & tissue repair. – 2012. – T. 5. – №. Suppl 1. – C. S5.
125. Nagy N., Almaani N., Tanaka A. et al. HB-EGF induces COL7A1 expression in keratinocytes and fibroblasts: possible mechanism underlying allogeneic fibroblast therapy in recessive dystrophic epidermolysis bullosa //Journal of investigative dermatology. – 2011. – T. 131. – №. 8. – C. 1771.
126. Nakano A., Chao S-C., Pulkkinen L. et al. Laminin 5 mutations in junctional epidermolysis bullosa: molecular basis of Herlitz vs non-Herlitz phenotypes //Human genetics. – 2002. – T. 110. – C. 41-51.
127. Nakano A., Lestringant G.G., Paperna T. et al. Junctional epidermolysis bullosa in the Middle East: clinical and genetic studies in a series of consanguineous families //Journal of the American Academy of Dermatology. – 2002. – T. 46. – №. 4. – C. 510-516.
128. Ng Y.Z., Pourreya C., Salas-Alanis J.C. et al. Fibroblast-derived dermal matrix drives development of aggressive cutaneous squamous cell carcinoma in patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa //Cancer research. – 2012. – T. 72. – №. 14. – C. 3522-3534.
129. Nguengang Wakap S., Lambert D.M., Olry A. et al. Estimating cumulative point prevalence of rare diseases: analysis of the Orphanet database //European journal of human genetics. – 2020. – T. 28. – №. 2. – C. 165-173.

130. Nyström A., Velati D., Mittapalli V.R. et al. Collagen VII plays a dual role in wound healing //The Journal of clinical investigation. – 2013. – T. 123. – №. 8. – C. 3498-3509.
131. Odorisio T., Di Salvio M., Orecchia A. et al. Monozygotic twins discordant for recessive dystrophic epidermolysis bullosa phenotype highlight the role of TGF- β signalling in modifying disease severity //Human molecular genetics. – 2014. – T. 23. – №. 15. – C. 3907-3922.
132. Ogawa M., LaRue A.C., Drake C.J. Hematopoietic origin of fibroblasts/myofibroblasts: Its pathophysiologic implications //Blood. – 2006. – T. 108. – №. 9. – C. 2893-2896.
133. Pacho F., Zambruno G., Calabresi V. et al. Efficiency of translation termination in humans is highly dependent upon nucleotides in the neighbourhood of a (premature) termination codon //Journal of Medical Genetics. – 2011. – T. 48. – №. 9. – C. 640-644.
134. Papanikolaou M. Onoufriadis A., Mellerio J.E. et al. Prevalence, pathophysiology and management of itch in epidermolysis bullosa //British Journal of Dermatology. – 2021. – T. 184. – №. 5. – C. 816-825.
135. Parente M. G. Chung L.C., Ryyänen J. et al. Human type VII collagen: cDNA cloning and chromosomal mapping of the gene //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1991. – T. 88. – №. 16. – C. 6931-6935.
136. Pasmooij A.M., Pas H.H., Jansen G.H. et al. Localized and generalized forms of blistering in junctional epidermolysis bullosa due to COL17A1 mutations in the Netherlands //British Journal of Dermatology. – 2007. – T. 156. – №. 5. – C. 861-870.
137. Pasmooij A.M.G., van Zalen S., Nijenhuis A.M. et al. A very mild form of non-Herlitz junctional epidermolysis bullosa: BP180 rescue by outsplicing of mutated exon 30 coding for the COL15 domain //Experimental dermatology. – 2004. – T. 13. – №. 2. – C. 125-128.

138. Petrof G., Abdul-Wahab A., McGrath J. A. Cell therapy in dermatology //Cold Spring Harbor perspectives in medicine. – 2014. – T. 4. – №. 6. – C. a015156.
139. Petrof G., Abdul-Wahab A., Proudfoot L. et al. Serum levels of high mobility group box 1 correlate with disease severity in recessive dystrophic epidermolysis bullosa //Experimental dermatology. – 2013. – T. 22. – №. 6. – C. 433-435.
140. Petrof G., Lwin S.M., Martinez-Queipo M. et al. Potential of systemic allogeneic mesenchymal stromal cell therapy for children with recessive dystrophic epidermolysis bullosa //The Journal of investigative dermatology. – 2015. – T. 135. – №. 9. – C. 2319.
141. Petrof G., Martinez-Queipo M., Mellerio J.E. et al. Fibroblast cell therapy enhances initial healing in recessive dystrophic epidermolysis bullosa wounds: results of a randomized, vehicle-controlled trial //British Journal of Dermatology. – 2013. – T. 169. – №. 5. – C. 1025-1033.
142. Pohla-Gubo G., Hintner H. Epidermolysis bullosa care in Austria and the Epidermolysis Bullosa House Austria //Dermatologic clinics. – 2010. – T. 28. – №. 2. – C. 415-420.
143. Pope E., Lara-Corrales I., Mellerio J. et al. A consensus approach to wound care in epidermolysis bullosa //Journal of the American Academy of Dermatology. – 2012. – T. 67. – №. 5. – C. 904-917.
144. Posthauer M. E. The role of nutrition in wound care //Advances in skin & wound care. – 2006. – T. 19. – №. 1. – C. 43-52.
145. Prodinger C. et al. Epidermolysis bullosa: Advances in research and treatment //Experimental dermatology. – 2019. – T. 28. – №. 10. – C. 1176-1189.
146. Pulkkinen L., Uitto J. Mutation analysis and molecular genetics of epidermolysis bullosa //Matrix biology. – 1999. – T. 18. – №. 1. – C. 29-42.

147. Rao R., Mellerio J., Groves R. et al. Immunofluorescence antigen mapping for hereditary epidermolysis bullosa //Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology. – 2012. – T. 78. – C. 692.
148. Rugg E.L., Horn H., Smith F. et al. Epidermolysis bullosa simplex in Scotland caused by a spectrum of keratin mutations //Journal of investigative dermatology. – 2007. – T. 127. – №. 3. – C. 574-580.
149. Ruzzi L., Pas H., Posteraro P. et al. A homozygous nonsense mutation in type XVII collagen gene (COL17A1) uncovers an alternatively spliced mRNA accounting for an unusually mild form of non-Herlitz junctional epidermolysis bullosa //Journal of investigative dermatology. – 2001. – T. 116. – №. 1. – C. 182-187.
150. Ryyänen J., Sollberg S., Olsen D.R. et al. Transforming growth factor- β up-regulates type VII collagen gene expression in normal and transformed epidermal keratinocytes in culture //Biochemical and biophysical research communications. – 1991. – T. 180. – №. 2. – C. 673-680.
151. Sait H., Srivastava S., Saxena D. Integrated Management Strategies for Epidermolysis Bullosa: Current Insights //International Journal of General Medicine. – 2022. – C. 5133-5144.
152. Sakai L.Y., Keene DR, Morris NP et al. Type VII collagen is a major structural component of anchoring fibrils //The Journal of cell biology. – 1986. – T. 103. – №. 4. – C. 1577-1586.
153. Sasaki M., Abe R., Fujita Y. et al. Mesenchymal stem cells are recruited into wounded skin and contribute to wound repair by transdifferentiation into multiple skin cell type //the Journal of immunology. – 2008. – T. 180. – №. 4. – C. 2581-2587.
154. Schultz G. S. et al. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management //Wound repair and regeneration. – 2003. – T. 11. – C. S1-S28.

155. Sebastiano V., Zhen H.H., Haddad B. et al. Human COL7A1-corrected induced pluripotent stem cells for the treatment of recessive dystrophic epidermolysis bullosa //Science translational medicine. – 2014. – T. 6. – №. 264. – C. 264ra163-264ra163.
156. Sherry S.T., Ward M.H., Kholodov M. et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation //Nucleic acids research. – 2001. – T. 29. – №. 1. – C. 308-311.
157. Shinkuma S., Guo Z., Christiano A. M. Site-specific genome editing for correction of induced pluripotent stem cells derived from dominant dystrophic epidermolysis bullosa //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2016. – T. 113. – №. 20. – C. 5676-5681.
158. Simpson B., Tarango C., Lucky A. W. Clinical algorithm to manage anemia in epidermolysis bullosa //Pediatric Dermatology. – 2018. – T. 35. – №. 5. – C. e319-e320.
159. Singer A. J., Clark R. A. F. Cutaneous wound healing //New England journal of medicine. – 1999. – T. 341. – №. 10. – C. 738-746.
160. Snauwaert J.J., Yuen W.Y., Jonkman M.F. et al. Burden of itch in epidermolysis bullosa //British Journal of Dermatology. – 2014. – T. 171. – №. 1. – C. 73-78.
161. Sorg H., Tilkorn D.J., Hager S. et al. Skin wound healing: an update on the current knowledge and concepts //European surgical research. – 2017. – T. 58. – №. 1-2. – C. 81-94.
162. South A. P., Li Q., Uitto J. Next-generation sequencing for mutation detection in heritable skin diseases: the paradigm of pseudoxanthoma elasticum //Journal of Investigative Dermatology. – 2015. – T. 135. – №. 4. – C. 937-940.
163. Stenson P.D., Mort M, Ball EV et al. The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies //Human genetics. – 2017. – T. 136. – C. 665-677.

164. Tadini G., Gualandri L., Colombi M. et al. The Italian registry of hereditary epidermolysis bullosa //Giornale Italiano di Dermatologia e Venereologia. – 2005. – T. 140. – №. 4. – C. 359-372.
165. Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors //cell. – 2006. – T. 126. – №. 4. – C. 663-676.
166. Takeichi T., Nanda A., Liu L. et al. Impact of next generation sequencing on diagnostics in a genetic skin disease clinic //Experimental Dermatology. – 2013. – T. 22. – №. 12. – C. 825-831.
167. Tasanen K., Floeth M., Schumann H. et al. Hemizyosity for a glycine substitution in collagen XVII: unfolding and degradation of the ectodomain //Journal of investigative dermatology. – 2000. – T. 115. – №. 2. – C. 207-212.
168. Tefferi A. Anemia in adults: a contemporary approach to diagnosis //Mayo Clinic Proceedings. – Elsevier, 2003. – T. 78. – №. 10. – C. 1274-1280.
169. Titeux M., Mejía J.E., Mejlumian L. et al. Recessive dystrophic epidermolysis bullosa caused by COL7A1 hemizyosity and a missense mutation with complex effects on splicing //Human Mutation. – 2006. – T. 27. – №. 3. – C. 291-292.
170. Titeux M., Pendaries V., Tonasso L., et al. A frequent functional SNP in the MMP1 promoter is associated with higher disease severity in recessive dystrophic epidermolysis bullosa //Human mutation. – 2008. – T. 29. – №. 2. – C. 267-276.
171. Titeux M., Pendaries V., Zanta-Boussif M.A. et al. SIN retroviral vectors expressing COL7A1 under human promoters for ex vivo gene therapy of recessive dystrophic epidermolysis bullosa //Molecular Therapy. – 2010. – T. 18. – №. 8. – C. 1509-1518.
172. Tolar J., Ishida-Yamamoto A., Riddle M. et al. Amelioration of epidermolysis bullosa by transfer of wild-type bone marrow cells //Blood, The

- Journal of the American Society of Hematology. – 2009. – T. 113. – №. 5. – C. 1167-1174.
173. Tracy L. E., Minasian R. A., Caterson E. J. Extracellular matrix and dermal fibroblast function in the healing wound //Advances in wound care. – 2016. – T. 5. – №. 3. – C. 119-136.
 174. Tschachler E. Balasubramanian M., Humphreys N. et al. Intronic ITGA3 mutation impacts splicing regulation and causes interstitial lung disease, nephrotic syndrome, and epidermolysis bullosa //Journal of Investigative Dermatology. – 2016. – T. 136. – C. 1056e1059.
 175. Uitto J., Bauer E. A., Moshell A. N. Symposium on epidermolysis bullosa: molecular biology and pathology of the cutaneous basement membrane zone. Jefferson Medical College, Philadelphia, Pennsylvania, October 4 and 5, 1991 //The Journal of Investigative Dermatology. – 1992. – T. 98. – №. 3. – C. 391-395.
 176. Uitto J., Bruckner-Tuderman L., Christiano A. et al. Progress toward treatment and cure of epidermolysis bullosa: summary of the DEBRA International Research Symposium EB2015 //Journal of Investigative Dermatology. – 2016. – T. 136. – №. 2. – C. 352-358.
 177. Uitto J., Has C., Vahidnezhad H. et al. Molecular pathology of the basement membrane zone in heritable blistering diseases: The paradigm of epidermolysis bullosa //Matrix Biology. – 2017. – T. 57. – C. 76-85.
 178. Vahidnezhad H., Youssefian L., Saeidian A. et al. Gene-targeted next generation sequencing identifies PNPLA1 mutations in patients with a phenotypic spectrum of autosomal recessive congenital ichthyosis: the impact of consanguinity //Journal of Investigative Dermatology. – 2017. – T. 137. – №. 3. – C. 678-685.
 179. Vahlquist A., Tasanen K. Epidermolysis bullosa care in Scandinavia //Dermatologic clinics. – 2010. – T. 28. – №. 2. – C. 425-7, xv.

180. Väisänen L., Has C., Franzke C. et al. Molecular mechanisms of junctional epidermolysis bullosa: Col15 domain mutations decrease the thermal stability of collagen XVII //Journal of investigative dermatology. – 2005. – T. 125. – №. 6. – C. 1112-1118.
181. Van den Akker P.C., Jonkman M.F., Rengaw T. et al. The international dystrophic epidermolysis bullosa patient registry: an online database of dystrophic epidermolysis bullosa patients and their COL7A1 mutations //Human mutation. – 2011. – T. 32. – №. 10. – C. 1100-1107.
182. Van den Akker P.C., Van Essen A.J., Kraak M.M. et al. Long-term follow-up of patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa in the Netherlands: Expansion of the mutation database and unusual phenotype–genotype correlations //Journal of dermatological science. – 2009. – T. 56. – №. 1. – C. 9-18.
183. Van Der Kooi-pol M.M., de Vogel C.P., Westerhout-Pluister G.N. et al. High anti-staphylococcal antibody titers in patients with epidermolysis bullosa relate to long-term colonization with alternating types of Staphylococcus aureus //J. Invest. Dermatol. – 2013. – T. 133. – C. 50.
184. Van der Kooi-Pol M.M., Duipmans J.C., Jonkman M.F. et al. Host–pathogen interactions in epidermolysis bullosa patients colonized with Staphylococcus aureus //International Journal of Medical Microbiology. – 2014. – T. 304. – №. 2. – C. 195-203.
185. Van Scheppingen C., Lettinga A.T., Duipmans J.C. et al. Main problems experienced by children with epidermolysis bullosa: a qualitative study with semi-structured interviews //Acta dermato-venereologica. – 2008. – T. 88. – №. 2. – C. 143-150.
186. Varki R., Sadowski S., Pfendner E. et al. Epidermolysis bullosa. I. Molecular genetics of the junctional and hemidesmosomal variants //Journal of medical genetics. – 2006. – T. 43. – №. 8. – C. 641-652.

187. Venugopal S.S., Yan W., Frew J.W. et al. A phase II randomized vehicle-controlled trial of intradermal allogeneic fibroblasts for recessive dystrophic epidermolysis bullosa //Journal of the American Academy of Dermatology. – 2013. – T. 69. – №. 6. – C. 898-908.
188. Vindevoghel L., Kon A., Lechleider R.J. et al. Smad-dependent transcriptional activation of human type VII collagen gene (COL7A1) promoter by transforming growth factor- β //Journal of Biological Chemistry. – 1998. – T. 273. – №. 21. – C. 13053-13057.
189. Vozdvizhensky S. I., Albanova V. I. Surgical treatment of contracture and syndactyly of children with epidermolysis bullosa //British journal of plastic surgery. – 1993. – T. 46. – №. 4. – C. 314-316.
190. Wagner J.E., Ishida-Yamamoto A., McGrath J.A. et al. Bone marrow transplantation for recessive dystrophic epidermolysis bullosa //New England Journal of Medicine. – 2010. – T. 363. – №. 7. – C. 629-639.
191. Wertheim-Tysarowska K., Ołdak M., Giza A., et al. Novel sporadic and recurrent mutations in KRT5 and KRT14 genes in Polish epidermolysis bullosa simplex patients: further insights into epidemiology and genotype–phenotype correlation //Journal of Applied Genetics. – 2016. – T. 57. – C. 175-181.
192. Wertheim-Tysarowska K., Sota J., Kutkowska-Kaźmierczak A. et al. Coexistence of KRT14 and KRT5 mutations in a Polish patient with epidermolysis bullosa simplex //British Journal of Dermatology. – 2014. – T. 170. – №. 2. – C. 468-469.
193. Wessagowit V., Kim S.C., Woong Oh S et al. Genotype–phenotype correlation in recessive dystrophic epidermolysis bullosa: when missense doesn't make sense. – 2005 – T.123 – №.4 – C. 863–866.
194. Wong T., Gammon L., Liu L. et al. Potential of fibroblast cell therapy for recessive dystrophic epidermolysis bullosa //Journal of Investigative Dermatology. – 2008. – T. 128. – №. 9. – C. 2179-2189.

195. Woo K. Y. Exploring the effects of pain and stress on wound healing //Advances in skin & wound care. – 2012. – T. 25. – №. 1. – C. 38-44.
196. Woo K. Y. Meeting the challenges of wound-associated pain: anticipatory pain, anxiety, stress, and wound healing //Ostomy/wound management. – 2008. – T. 54. – №. 9. – C. 10-12.
197. Woodley D.T., Hou Y., Martin S. et al. Characterization of molecular mechanisms underlying mutations in dystrophic epidermolysis bullosa using site-directed mutagenesis //Journal of Biological Chemistry. – 2008. – T. 283. – №. 26. – C. 17838-17845.
198. Woodley D.T., Keene D.R., Atha T. et al. Injection of recombinant human type VII collagen restores collagen function in dystrophic epidermolysis bullosa //Nature medicine. – 2004. – T. 10. – №. 7. – C. 693-695.
199. Wright J. T., Fine J. D., Johnson L. B. Oral soft tissues in hereditary epidermolysis bullosa //Oral surgery, oral medicine, oral pathology. – 1991. – T. 71. – №. 4. – C. 440-446.
200. Yancey K. B., Hintner H. Non-herlitz junctional epidermolysis bullosa //Dermatologic clinics. – 2010. – T. 28. – №. 1. – C. 67-77.
201. Youssefian L., Vahidnezhad H., Barzegar M. et al. The Kindler syndrome: a spectrum of FERMT1 mutations in Iranian families //The Journal of investigative dermatology. – 2015. – T. 135. – №. 5. – C. 1447-1450.
202. Yu J., Vodyanik M.A., Smuga-Otto K. et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells //science. – 2007. – T. 318. – №. 5858. – C. 1917-1920.
203. Zidorio A.P.C., Dutra E.S., Leão D.O. et al. Nutritional aspects of children and adolescents with epidermolysis bullosa: literature review //Anais brasileiros de dermatologia. – 2015. – T. 90. – C. 217-223.