

К вопросу о диагностике врожденного буллезного эпидермолиза

В.И. Альбанова, В.В. Чикин, Р.В. Епишев

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России
107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6

Врожденный буллезный эпидермолиз — большая группа наследственных заболеваний, основным проявлением которых является образование пузырей на коже и слизистых оболочках после незначительной механической травмы. Клиническая картина не всегда позволяет установить точный диагноз болезни. Рассмотрены современные методы лабораторной диагностики врожденного буллезного эпидермолиза — иммунофлуоресцентное антигенное картирование (ИАК), трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) и генетический анализ (молекулярная или ДНК-диагностика), их достоинства и недостатки.

ТЭМ позволяет определять уровень микрорасщепления и характер ультратонких изменений в зоне дермо-эпидермального соединения, однако для проведения исследований требуется дорогостоящее специальное оборудование. Для анализа полученных электронно-микроскопических изображений необходим большой опыт. ИАК позволяет выявить снижение или отсутствие экспрессии белка, с дефектом которого связано развитие болезни, однако возможны ошибочные (ложноположительные или ложноотрицательные) результаты у пациентов со сниженной экспрессией дефектного белка. Генетический анализ играет ключевую роль в пренатальной диагностике. Таким образом, для установления точного диагноза врожденного буллезного эпидермолиза целесообразно использование ИАК, ТЭМ и генетического анализа. Необходимость точной диагностики заболевания связана с тем, что разрабатываемые в настоящее время перспективные методы терапии направлены на лечение больных с определенными формами болезни.

Ключевые слова: врожденный буллезный эпидермолиз, трансмиссионная электронная микроскопия, иммунофлуоресцентное антигенное картирование, молекулярная диагностика, пренатальная диагностика, генетическое консультирование.

Revisited diagnostics of hereditary epidermolysis bullosa

V.I. Albanova, V.V. Chikin, R.V. Epishev

State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Ministry of healthcare of the Russian Federation
Korolenko str., 3, bldg 6, Moscow, 107076, Russia

Hereditary epidermolysis bullosa is a big group of hereditary diseases with the main manifestations in the form of blisters on the skin and mucous coat after slight mechanical injuries. It is not always possible to diagnose this disease based on the clinical picture. The article discusses current laboratory diagnostics methods for hereditary epidermolysis bullosa including immunofluorescence antigen mapping (IFM), transmission electron microscopy (TEM) and genetic analysis (molecular or DNA diagnostics) as well as their advantages and disadvantages.

TEM determines the micro splitting level and nature of ultrafine changes in the area of the dermoepidermal junction; at the same time, such tests need special expensive equipment. Substantial experience is also needed to analyze the resulting submicroscopic images. IFM determines whether expression of the affected protein related to the disease development is reduced or absent; however, invalid (false positive or false negative) results can be obtained in patients with the reduced expression of the affected protein. Genetic analysis plays a key role for prenatal diagnostics.

Therefore, to make an exact diagnosis of hereditary epidermolysis bullosa, it is expedient to apply IFM, TEM and genetic analysis. The need to set an exact diagnosis of the disease is related to the fact that the promising treatment methods being currently developed are aimed at treating patients with certain forms of the disease.

Key words: hereditary epidermolysis bullosa, transmission electron microscopy, immunofluorescence antigen mapping, molecular diagnostics, prenatal diagnostics, genetic consulting.

Corresponding author: epishev@cnikvi.ru. Vestnik Dermatologii i Venerologii 2014; 3: 53—59.

■ Врожденный буллезный эпидермолиз — фенотипически и генетически гетерогенная группа генодерматозов, обусловленных мутациями в генах, ответственных за синтез структурных белков кожи, обеспечивающих интраэпидермальные или дермоэпидермальные связи. Поскольку заболевание может проявиться уже после рождения ребенка, оно является наследственным, и правильнее его называть наследственный буллезный эпидермолиз (НБЭ).

В настоящее время НБЭ включает в себя 4 основные группы и около 30 клинических форм, объединенных одним общим признаком — механической слабостью или хрупкостью эпителиальных структур кожи. К основным группам НБЭ относят простой буллезный эпидермолиз (ПБЭ), пограничный буллезный эпидермолиз (ПогрБЭ), дистрофический буллезный эпидермолиз (ДБЭ) и синдром Киндлер [1].

По типу наследования группа НБЭ генетически неоднородна. ПБЭ наследуется преимущественно по аутосомно-доминантному типу, ПогрБЭ — по аутосомно-рецессивному; заболевания из группы ДБЭ — как по аутосомно-доминантному, так и по аутосомно-рецессивному.

НБЭ относится к моногенным заболеваниям, следовательно, для развития доминантной формы достаточно наличия одной копии мутантного гена, а для развития рецессивной требуются две копии. При доминантных формах заболевания больные дети встречаются в каждом поколении, при рецессивных формах больной получает мутантные гены от обоих родителей, фенотипически не имеющих признаков заболевания, но имеющих мутантные гены. При любой форме НБЭ возможны мутации *de novo* (первичные), что не исключает наследственного характера заболевания.

Основным клиническим проявлением НБЭ является появление пузырей и/или эрозий на коже и слизистых оболочках вследствие снижения их резистентности к механическим воздействиям, даже минимальным. Эпителизация эрозивных дефектов при различных формах пограничного и дистрофического буллезного эпидермолиза происходит с формированием рубцовой ткани (чаще атрофической) и милиумов. Клиническим признаком пограничного буллезного эпидермолиза Герлитца является избыточная грануляционная ткань в местах, подвергающихся механическому воздействию (преимущественно вокруг рта и на ногтевых валиках).

В диагностике НБЭ имеют также значение такие признаки, как ониходистрофия, кератозы ладоней и подошв, гипо- и депигментация кожи, анемия. Контрактуры, псевдосиндактилии и отсутствие ногтей — частые проявления тяжело протекающих форм заболевания. К другим, реже встречающимся признакам НБЭ относятся алопеция, гипер- или гипогидроз, карис, частичная или полная адентия, микростомия, ангилоглоссия, затруднение глотания, запоры, поносы.

Некоторые клинические признаки болезни проявляются сразу после рождения, другие же могут

развиваться в более старшем возрасте. Например, формирование рубцовой атрофии, милиумы, псевдосиндактилии, контрактуры, дистрофия ногтей или приобретенная анонихия развиваются через некоторое время (месяцы, годы), признаки поражения желудочно-кишечного тракта появляются при переводе ребенка на твердую пищу. Отсутствие этих признаков в первые месяцы жизни не только не позволяет клинически установить форму НБЭ, но и затрудняет дифференциальную диагностику с другими пузырными заболеваниями, которые могут встречаться у детей.

При проведении дифференциальной диагностики нужно учитывать возраст пациента. У новорожденных и детей первого года жизни следует отличать НБЭ от других врожденных и наследственных заболеваний, таких как врожденная буллезная ихтиозиформная эритродермия, недержание пигмента (синдром Блоха — Сульцбергера), врожденная порфирия, энтеропатический акродерматит, а также от инфекционных заболеваний (эпидемическая пузырчатка новорожденных, эксфолиативный дерматит, буллезное импетиго, кандидоз, герпес, ветряная оспа) и приобретенных неинфекционных (токсическая эритема новорожденных, детский акропустилез эозинофильный пустулезный фолликулит, транзиторный неонатальный пустулезный меланоз). У детей старшего возраста и взрослых она проводится с истинной пузырчаткой, буллезным пемфигоидом, герпетиформным дерматитом Дюринга, приобретенным буллезным эпидермолизом, линейным IgA дерматозом. В проведении дифференциальной диагностики помогают лабораторные исследования — общий и биохимический анализы крови (эозинофилия, диспротеинемия, анемия, лейкоцитоз, увеличение СОЭ), бактериологическое исследование, изменение иммунного статуса, определение содержания эозинофилов в пузырной жидкости.

Однако на основании только физикального обследования не всегда представляется возможным установить диагноз НБЭ. У взрослых и детей дошкольного возраста в диагностике помогает анамнез (начало заболевания с рождения или первых месяцев жизни, значение механического фактора в развитии пузырей и эрозий, течение без ремиссий, последовательное развитие симптомов, наличие заболевания в семье). Обнаружение определенных специфических клинических признаков некоторых форм НБЭ может указать на данную патологию. Однако в большинстве случаев для уточнения диагноза требуется проведение лабораторного обследования пациентов. Традиционное патоморфологическое исследование биоптата кожи позволяет отличить НБЭ от некоторых заболеваний кожи, например, по уровню образования пузыря от истинной акантолитической пузырчатки. Однако различить клинические формы НБЭ между собой с помощью рутинного патоморфологического исследования кожи невозможно.

После исключения всех других возможных заболеваний для подтверждения диагноза заподозренного буллезного эпидермолиза и установления точного диагноза внутри группы НБЭ могут быть использованы дополнительные методы диагностики: иммунофлуоресцентное антигенное картирование (ИАК), трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ) и генетический анализ (молекулярная или ДНК-диагностика). Некоторые врачи, накопившие большой опыт в клинической диагностике НБЭ, предпочитают использовать генетический анализ для верификации клинически очевидных форм НБЭ (например, генерализованный рецессивный ДБЭ), что в ряде случаев является целесообразным и ведет к сокращению затрат на диагностику [1].

Трансмиссионная электронная микроскопия

До начала использования в практике иммунофлуоресцентного анализа, ТЭМ являлась «золотым» стандартом в диагностике НБЭ, так как позволяла определить уровень образования пузыря и обнаружить ультраструктурные изменения в коже и непосредственно в поврежденных структурах, таких как кератиновые филаменты, десмосомы, полудесмосомы, крепящие (якорные) филаменты, крепящие (якорные) фибриллы, которые при определенных формах НБЭ могут отсутствовать, либо содержаться в коже в недостаточном количестве, либо иметь дефектную структуру. ТЭМ имеет преимущество перед ИАК в силу возможности определения микрорасщеплений и ультратонких изменений в зоне дермо-эпидермального соединения при относительно легких формах НБЭ, где ИАК может давать ложноотрицательные результаты. ТЭМ является единственным немолекулярным методом диагностики, которая может установить изменения в коже больных простым герпетиформным буллезным эпидермолизом Доулинга — Меара, до появления генерализованных сгруппированных пузырных высыпаний, так как позволяет визуализировать аномальные тонофиламенты базальных кератиноцитов [2—4]. Однако в мире насчитывается небольшое количество лабораторий, оснащенных ТЭМ, сотрудники которых имеют опыт работы с биообразцами кожи больных НБЭ, а для проведения исследований требуется дорогостоящее специальное оборудование. Тем не менее, несмотря на высокую стоимость исследований, ТЭМ играет ключевую роль в научных исследованиях [2].

Иммунофлуоресцентное антигенное картирование

ИАК было впервые описано в 1981 году [5]. В основе метода лежит последовательная обработка препарата кожи пациента первичными антителами к структурным белкам кожи и вторичными антителами, мечеными флуоресцирующей меткой, которые связываются с первичными антителами. В связи с тем, что известно большое количество белков, дефекты которых приводят к развитию НБЭ (кератины 5 и 14, плектин, плакофилин-1, десмоплакин,

ламинин-332, $\alpha\beta 4$ -интегрин, коллагены VII и XVII типов, киндлин-1), необходимо определять экспрессию каждого из них. Поэтому для проведения исследования методом ИАК из полученного биоптата кожи изготавливают несколько гистологических препаратов [6]. Метод используется для определения уровня образования пузыря (внутриэпидермально, внутри светлой пластинки базальной мембраны, под плотной пластинкой базальной мембраны). ИАК позволяет также определить, дефицит какого из связывающих структуры дермы и эпидермиса белков наблюдается. ИАК определяет экспрессию структурных белков в зоне дермо-эпидермального соединения, то есть их присутствие, снижение или отсутствие их экспрессии. Для исследований методом ИАК используют первичные и вторичные моноклональные и поликлональные антитела. Этот метод диагностики более распространен, легче выполним и дешевле по сравнению с ТЭМ.

Для правильной постановки диагноза методом ИАК нужно иметь достаточный опыт получения биообразцов кожи, причем одним из требований к получению биообразцов является наличие свежего (не более 24 часов) пузыря на коже. Пузырь может быть как появившимся спонтанно, так и индуцированным намеренно, например с помощью трения кожи. Биопсию проводят на границе видимо здоровой кожи и свежего пузыря или в зоне трения (через 30 мин. после его окончания). Полученный биоптат сразу же подвергается заморозке жидким азотом или помещается в физиологический раствор (0,9% NaCl) на срок не более 24 часов. Для более продолжительного хранения используют специальную транспортную среду Michel. В таком состоянии биообразцы кожи могут сохраняться в течение нескольких недель [7]. В качестве транспортной среды нельзя использовать формалин, так как диагностические антитела, используемые при ИАК, повреждаются формалином.

J.-D. Fine и соавт. рекомендуют использовать ИАК как первичный диагностический метод, подтверждающий диагноз НБЭ [2]. Однако, так как этот метод является полуколичественным, он может давать ошибочные (ложноположительные или ложноотрицательные) результаты у пациентов со сниженной экспрессией дефектного белка. В таких случаях применяют ТЭМ [8]. При сравнительном исследовании ТЭМ и ИАК для диагностики НБЭ было показано, что метод ИАК является более чувствительным (97% против 71% у ТЭМ) и специфичным (100% против 81% у ТЭМ) [9]. Следует учитывать, что с помощью ТЭМ определяются структурные нарушения, то есть повреждения кератиноцитов, отсутствие или уменьшение крепящих (якорных) фибрилл, а ИАК — дефицит определенных белков.

Генетический анализ (молекулярная или ДНК-диагностика)

Генетический анализ является оптимальным методом для определения типа наследования и специфичности

ческих мутаций имеющихся у больных НБЭ, а также наиболее точным методом для верификации различных клинических форм простого, пограничного и дистрофического НБЭ. Поиск известных мутаций является первичным диагностическим подходом, особенно в семьях больных НБЭ с аутосомно-доминантным типом наследования (например, мутации в генах, отвечающих за синтез кератин-5 и -14 при ПБЭ и коллагена VII типа при доминантном ДБЭ), в силу того, что данные мутации, как правило, идентичны в семье, страдающей данным заболеванием. Также имеются данные, что поиск неизвестных мутаций может быть осуществлен с использованием ДНК-амплификационного метода и секвенированием РНК дефектных генов [10—13].

В некоторых ситуациях не представляется возможным выполнение биопсии кожи (например, новорожденному или при отсутствии условий для ее проведения) для исследования методами ИАК и ТЭМ, в таких случаях прибегают к использованию генетического анализа. Поиск генетических мутаций — длительная и затратная методика, ее стоимость значительно снижается, если клинически определена форма заболевания, так как сужается поиск дефектного гена. Поиск также сокращается, если установлен генетический дефект или форма НБЭ у прямых родственников больного ребенка [14].

Генетический анализ играет ключевую роль в пренатальной диагностике и является важным инструментом научно-исследовательской деятельности. В перспективе генетический анализ будет служить основой для построения тактики лечения. Немаловажная роль генетическому анализу отводится в перспективном направлении лечения — геномной терапии, где основой является определение специфической мутации при различных клинических формах НБЭ. На сегодняшний день считается, что генетическое исследование не является первичным диагностическим методом у пациентов с буллезным эпидермолизом, поскольку определение мутации не влияет на тактику лечения. Но даже в настоящее время без него не обойтись, если в семье, где имеется ребенок с НБЭ, планируется беременность и предполагается проведение пренатальной диагностики заболевания.

Пренатальная диагностика

Как известно, до настоящего времени не разработано эффективных методов терапии НБЭ, поэтому особенно важное значение на стадии планирования семьи, находящейся в группе риска наследования данной патологии, приобретает пренатальная диагностика и генетическое консультирование. Первое сообщение о пренатальной диагностике одной из наиболее тяжелых форм НБЭ (летального генерализованного ПогрБЭ Герлитца) было опубликовано еще в 1980 г. [15]. Для проведения диагностики был использован биоптат кожи плода, полученный во время фетоскопии во втором триместре беременности (на 16-й неделе). Для постановки диагноза в то время ис-

пользовали световую микроскопию и ТЭМ, но данные о НБЭ ограничивались только тяжелыми формами пограничного и рецессивного дистрофического буллезного эпидермолиза. Недостатками проведения такой манипуляции являлись необходимость использования седативных препаратов и местной анестезии, а также травматичность введения трубки фетоскопа в полость матки, что повышало риск преждевременного прерывания беременности [16].

Усовершенствование молекулярных методов диагностики позволило проводить пренатальную диагностику на основании анализа фетальной ДНК, которую можно получить из амниотической жидкости и/или ворсин хориона. Биопсия ворсин хориона и амниоцентез позволяют существенно снизить риск преждевременного прерывания беременности по сравнению с фетоскопией, а также провести данный вид диагностики в первом триместре (до 11 недель беременности). Дородовая диагностика возможна только в том случае, когда ее планируют заранее. До наступления беременности нужно установить точно генетический дефект у болеющего члена семьи. Если дефектный ген уже известен, то поиск такой же поломки у плода занимает всего несколько дней, что создает возможность проведения аборта в безопасные для беременной женщины сроки. Трудностью в диагностике может являться мозаицизм, при котором у ребенка могут присутствовать две и более генетически различные популяции клеток [17, 18].

Одним из важных недостатков обоих методов пренатальной диагностики (биопсии кожи плода и анализа фетальной ДНК) является их применение при уже состоявшейся беременности. А при выявлении мутаций, характерных для НБЭ, единственный путь предотвращения данного заболевания — прерывание беременности [19]. Это поднимает этические вопросы морали и нравственности для многих пар, находящихся в группе риска по появлению больных детей. Кроме того, многие пары не будут рассматривать прерывание беременности как выход из сложившейся ситуации из-за религиозных и личных убеждений.

Преимплантационная генетическая диагностика

Преимплантационная генетическая диагностика (ПГД) является перспективным альтернативным методом наряду с вышеперечисленными, кроме того, метод может быть частью экстракорпорального оплодотворения, выявляя тем самым различные отклонения развития эмбриона еще на стадии бластоцисты. Суть данного метода заключается в оплодотворении овоцита (незрелой яйцеклетки) *in vitro*, что ведет к образованию эмбриона. Когда эмбрион достигает стадии 8- или 12-клеточного субъекта, производится отщепление одной клетки для дальнейшего генетического анализа. Если генетический анализ указывает на нормальный генотип — эмбрион подсаживают в матку, иначе

его утилизируют [20]. Для ПГД также возможно использование полярных телец, являющихся побочным продуктом мейотического деления, не требующихся для дальнейшего развития [21].

При успешном подсаживании эмбриона и установлении состоявшейся беременности пробу ворсинчатого хориона для подтверждения или опровержения диагноза НБЭ предлагают всем супружеским парам, проходящим ПГД на сроке до 11 недель беременности, что позволяет уточнить наличие состоявшейся беременности и отсутствие наследственных аномалий, так как ПГД производится до наступления клинической беременности [22].

Впервые метод преимплантационной генетической диагностики был успешно применен в 1990 г. [23]. С тех пор в литературе описано несколько случаев применения преимплантационной генетической диагностики у больных НБЭ [24—26].

В связи с тем, что метод преимплантационной генетической диагностики технологически сложен и занимает много времени для определения искомой мутации, был разработан упрощенный метод преимплантационного генетического гаплотипирования (ПГГ). Данный метод позволяет проверять эмбрионы на наличие большой группы мутаций, которые не поддаются выявлению при помощи обычных ДНК-тестов. Суть метода заключается в многократной репликации ДНК, позволяющей довести ее концентрацию до пригодных для определения искомого мутаций посредством стандартных протоколов ПЦР-диагностики [27]. При ПГГ сокращается риск ошибочных результатов, а эффективность постановки диагноза возрастает до 95% [28]. Метод был разработан в 2005 г. А. Hellani и соавт. [29] и усовершенствован Р. Renwick и соавт. [30].

Использование ПГГ-метода позволяет в несколько раз сократить время обнаружения искомой мутации, а также финансовые затраты по сравнению с ПГД.

Неинвазивные методы пренатальной диагностики

Все вышеперечисленные методы пренатальной диагностики являются инвазивными и в той или иной степени могут повлиять на развитие плода и на течение беременности. В связи с этим идет постоянный поиск новых методов, снижающих риск инвазивного воздействия [31].

Среди таких методов можно выделить метод ультразвуковой диагностики, который позволяет визуализировать некоторые особенности развития плода при ограниченном количестве тяжелых патологий, а также другие структуры содержимого матки, которые могут быть идентификаторами некоторых врожденных заболеваний. К таким показателям можно отнести особенности фенотипа плодного яйца: размеры носовой кости, воротниковой области, желточного мешка [32—34].

К перспективному методу неинвазивной пренатальной диагностики относится определение ДНК эмбриона

(фетальной ДНК) в кровяном русле матери. Метод находится на уровне доклинических испытаний. Определено, что главным источником фетальной ДНК в плазме крови матери является плацента. Считается, что фетальная ДНК в крови матери находится как в свободном виде (внеклеточная фетальная ДНК), так и в ядре клеток (ядерная фетальная ДНК). Сложностью данного метода является незначительное содержание фетальной ДНК в крови матери (примерно 1 ядерная фетальная ДНК на 1 мл крови). Внеклеточная фетальная ДНК состоит в основном из коротких фрагментов (< 200 пар), что еще более усложняет процесс ее поиска [35]. Кроме того, для ее выделения требуется не целая кровь, а только плазма. Качественная оценка внеклеточной фетальной ДНК может дать важную информацию о плоде. На сегодняшний день накоплен большой опыт диагностики фетальной ДНК при наследственной патологии с изменением числа хромосом — анеуплоидий, таких как синдром Дауна (трисомия 21 хромосомы), синдром Эдвардса (трисомия 18 хромосомы), синдром Шерещевского — Тернера (моносомия по X-хромосоме у женщин), синдром Клайнфельтера (дополнительная X-хромосома у мужчин) и др. Достоверность определения таких аномалий составляет до 99,9%, а риск ложноположительных результатов — менее 0,1% [36—41].

Учитывая, что обнаружение и изучение внеклеточной фетальной ДНК весьма затруднено, вызывает большой интерес изучение эпигенетических факторов, влияющих на фетальную ДНК, и выявление эпигенетических маркеров обоих родителей для использования в неинвазивной пренатальной диагностике НБЭ [42].

Заключение

Таким образом, на основании только клинической картины не всегда даже опытному дерматологу представляется возможным установить диагноз НБЭ и определить клиническую форму заболевания, особенно в первый год жизни больного. Необходимость точной диагностики связана с тем, что разрабатываемые в настоящее время перспективные методы терапии (генная и белковая терапия, пересадка культур клеток) направлены на лечение больных с определенными формами заболевания.

Для уточнения группы и формы НБЭ прибегают к лабораторным методам диагностики. Оптимальным диагностическим методом является ИАК, так как он более доступен и не занимает продолжительного времени для выявления экспрессии структурных белков. К ТЭМ прибегают как к дополнительному методу в случаях, когда не удается установить изменения в зоне дермо-эпидермального соединения с использованием ИАК. Использование генетического анализа — дорогостоящее и занимающее, как правило, длительное время исследование, не оказывающее существенного влияния на тактику терапии. Вместе с тем он, безусловно, необходим как неотъемлемая часть пренатальной диагностики. ■

Литература

1. Fine J.-D. Inherited epidermolysis bullosa. *Orphanet J Rare Dis* 2010; 5: 12.
2. 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. *J Am Acad Dermatol* 2008; 58 (6): 931—950.
3. Anton-Lamprecht I., Schnyder U.W. Epidermolysis bullosa herpetiformis Dowling-Meara: a report of a case and pathomorphogenesis. *Dermatologica* 1982; 164: 221—235.
4. Eady R.A., Dopping-Hepenstal P.J. Transmission electron microscopy for the diagnosis of epidermolysis bullosa. *Dermatol Clin* 2010; 28: 211—222.
5. Pohla-Gubo G, Cepeda-Valdes R, Hintner H. Immunofluorescence mapping for the diagnosis of epidermolysis bullosa. *Dermatol Clin* 2010; 28: 201—210.
6. Cepeda-Valdés R, Pohla-Gubo G, Borbolla-Escoboza JR et al. Immunofluorescence mapping for diagnosis of congenital epidermolysis bullosa. *Actas Dermosifiliogr*. 2010; 101(8): 673—682.
7. Intong L.R., Murrell D.F. How to take skin biopsies for epidermolysis bullosa. *Dermatol Clin* 2010; 28: 197—200.
8. Solovan C., Ciolan M., Olariu L. The biomolecular and ultrastructural basis of epidermolysis bullosa. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat* 2005; 14: 127—135.
9. Yiasemides E., Walton J., Marr P. et al. A comparative study between transmission electron microscopy and immunofluorescence mapping in the diagnosis of epidermolysis bullosa. *Am J Dermatopathol* 2006; 28: 387—394.
10. Castiglia D., Zambruno G. Molecular testing in epidermolysis bullosa. *Dermatol Clin* 2010; 28: 223—229.
11. Varki R., Sadowski S., Pfender E., Uitto J. Epidermolysis bullosa. I. Molecular genetics of the junctional and hemidesmosomal variants. *J Med Genet* 2006; 43: 641—652.
12. Varki R., Sadowski S., Uitto J., Pfender E. Epidermolysis bullosa. II. Type VII collagen mutations and phenotype-genotype correlations in the dystrophic subtypes. *J Med Genet* 2007; 44: 181—192.
13. 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. *J Dermatol Sci* 2009; 56: 9—18.
14. Nischler E., Klaussegger A., Hüttner C. et al. Diagnostic pitfalls in newborns and babies with blisters and erosions. *Dermatol Res Pract* 2009; 2009: 320403.
15. Rodeck C.H., Eady R.A., Gosden C.M. Prenatal diagnosis of epidermolysis bullosa letalis. *Lancet* 1980; 1: 949—952.
16. Fassihi H., McGrath J.A. Prenatal diagnosis of epidermolysis bullosa. *Dermatol Clin* 2010; 28 (2): 231—237.
17. Pasmooij A.M., Pas H.H., Bolling M.C., Jonkman M.F. Revertant mosaicism in junctional epidermolysis bullosa due to multiple correcting second-site mutations in LAMB3. *J Clin Invest* 2007; 117 (5): 1240—1248.
18. Pasmooij A.M., Pas H.H., Deviaene F.C. et al. Multiple correcting COL17A1 mutations in patients with revertant mosaicism of epidermolysis bullosa. *Am J Hum Genet* 2005; 77 (5): 727—740.
19. Alfirovic Z., Sundberg K., Brigham S. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; (3): CD003252.
20. Renwick P., Ogilvie C.M. Preimplantation genetic diagnosis for monogenic diseases: overview and emerging issues. *Expert Rev Mol Diagn* 2007; 7: 33—43.
21. Svetlakov A.V., Markova E.V., Kazantseva O.M. et al. Voprosy mediko-geneticheskogo konsul'tirovaniya pri preimplantatsionnoy geneticheskoy diagnostike. *Medical Genetics* 2008; 7 (12): 16—24. [Светлаков А.В., Маркова Е.В., Казанцева О.М. и др. Вопросы медико-генетического консультирования при преимплантационной генетической диагностике. *Медицинская генетика* 2008; 7 (12): 16—24.]
22. Devroey P., Van Steirteghem A. A review of ten years experience of ICSI. *Hum Reprod Update* 2004; 10: 19—28.
23. Handyside A.H., Kontogianni E.H., Hardy K. et al. Pregnancies from biopsied human preimplantation embryos sexed by Y-specific DNA amplification. *Nature* 1990; 344: 768—770.
24. Cserhalmi-Friedman P.B., Tang Y., Adler A. et al. Preimplantation genetic diagnosis in two families at risk for recurrence of Herlitz junctional epidermolysis bullosa. *Exp Dermatol* 2000; 9: 290—297.
25. Fassihi H., Grace J., Lashwood A. et al. Preimplantation genetic diagnosis of skin fragility-ectodermal dysplasia syndrome. *Br J Dermatol* 2006; 154: 546—550.
26. Thornhill A.R., Pickering S.J., Whittock N.V. et al. Preimplantation genetic diagnosis of compound heterozygous mutations leading to ablation of plakophilin-1 (PKP1) and resulting in skin fragility ectodermal dysplasia syndrome: a case report. *Prenat Diagn* 2000; 20: 1055—1062.
27. Renwick P., Trussler J., Lashwood A. et al. Preimplantation genetic haplotyping: 127 diagnostic cycles demonstrating a robust, efficient alternative to direct mutation testing on single cells. *Reprod Biomed Online*. 2010; 20 (4): 470—476.
28. Van de Velde H., De Rycke M., De Man C. et al. The experience of two European preimplantation genetic diagnosis centres on human leukocyte antigen typing. *Hum Reprod* 2009; 24 (3): 732—740.
29. Hellani A., Coskun S., Tbakhi A. et al. Clinical application of multiple displacement amplification in preimplantation genetic diagnosis. *Reprod Biomed Online* 2005; 10: 376—380.
30. Renwick P.J., Trussler J., Ostad-Saffari E. et al. Proof of principle and first cases using preimplantation genetic haplotyping — a paradigm shift for embryo diagnosis. *Reprod Biomed Online* 2006; 13: 110—119.
31. Norwitz E.R., Levy B. Noninvasive Prenatal Testing: The future is now. *Rev Obstet Gynecol* 2013; 6 (2): 48—62.
32. Dolan C.R., Smith L.T., Sybert V.P. Prenatal detection of epidermolysis bullosa letalis and pyloric atresia in a fetus by abnormal ultrasound and elevated a-fetoprotein. *Am J Med Genet* 1993; 47: 395—400.
33. Sonek J. First trimester ultrasonography in screening and detection of fetal anomalies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2007; 145: 45—61.
34. Karetnikova N.A., Goncharova E.A., Stygar A.M. et al. Current possibilities of genetic pathology diagnosis in early pregnancy. *Russian Journal of Human Reproduction* 2010; 2: 82—86. [Каретникова Н.А., Гончарова Е.А., Стыгар А.М. и др. Современные возможности пренатальной диагностики генетической патологии в ранние сроки беременности. *Проблемы репродукции* 2010; (2): 82—86.]
35. Lo Y.M., Chan K.C., Sun H. et al. Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus. *Sci Transl Med* 2010; 2 (61): 61ra91.
36. Sparks A.B., Wang E.T., Struble C.A. et al. Selective analysis of cell-free DNA in maternal blood for evaluation of fetal trisomy. *Prenat Diagn* 2012; 32 (1): 3—9.
37. Sparks A.B., Struble C.A., Wang E.T. et al. Non-invasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206 (4): 319.e1-9.
38. Ashoor G., Syngelaki A., Wagner M. et al. Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206 (4): 322.e1-5.
39. Norton M., Brar H., Weiss J. et al. Non-invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter, prospective, cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 207 (2): 137.e1-8.
40. Nicolaidis K.H., Syngelaki A., Ashoor G. et al. Non-invasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 207: 374.e1-6.
41. Ashoor G., Syngelaki A., Nicolaidis K.H. et al. Trisomy 13 detection in the first trimester of pregnancy using a chromosome-selective cell-free DNA analysis method. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41 (1): 21—25.
42. Tounta G., Kolialexi A., Papanтониou N. et al. Non-invasive prenatal diagnosis using cell-free fetal nucleic acids in maternal plasma: progress overview beyond predictive and personalized diagnosis. *EPMA J* 2011; 2 (2): 163—171.

об авторах:

В.И. Альбанова — ведущий научный сотрудник отдела дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

В.В. Чикин — к.м.н., старший научный сотрудник отдела дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

Р.В. Епишев — младший научный сотрудник отдела дерматологии ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, Москва

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье