

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Шпилевая М.В., Чикин В.В., Носов Н.Ю., Арбузова Н.В.

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА АУТОИММУННЫХ БУЛЛЕЗНЫХ ДЕРМАТОЗОВ: ВОЗМОЖНОСТИ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА (обзор литературы)



https://elibrary.ru/panmjk

ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава РФ, Москва, 119991, Россия

Аутоиммунные буллезные дерматозы представляют собой гетерогенную группу редких заболеваний кожи и слизистых оболочек, характеризующихся продукцией аутоантител, нацеленных на структурные белки эпителиальной ткани и подлежащей базальной мембраны. Появившиеся на рынке за последние два десятилетия высокочувствительные и специфичные тест-системы для иммуноферментного анализа на основе рекомбинантных форм целевых антигенов предоставили новый эффективный инструмент для диагностики ряда аутоиммунных буллезных дерматозов. Цель данной статьи – обобщить информацию о современных наборах для ИФА диагностики буллезных дерматозов. В обзоре описаны диагностические возможности, шкала оценки результата и особенности постановки иммуноферментного анализа для представленных тест-систем. Кроме того, приведена информация о разработке аналогичных диагностических инструментов в Российской Федерации.

Ключевые слова: обзор; рекомбинантные белки; аутоиммунные буллезные дерматозы; иммуноферментный анализ

Для цитирования: Шпилевая М.В., Чикин В.В., Носов Н.Ю., Арбузова Н.В. Лабораторная диагностика аутоиммунных буллезных дерматозов: возможности тест-систем для иммуноферментного анализа (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70 (2): 126-134.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-2-126-134>

EDN: PANMJK

Для корреспонденции: Шпилевая Марина Валентиновна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела лабораторной диагностики инфекций, передаваемых половым путём, и дерматозов; e-mail: aniram1970@list.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России № 056-00003-24-02.

Поступила 23.04.2024

Принята к печати 14.10.2024

Опубликовано 25.01.2025

Shpilevaya M.V., Chikin V.V., Nocos N.Yu., Arbuzova N.V.

LABORATORY DIAGNOSIS OF AUTOIMMUNE BULLOUS DERMATOSES: CAPABILITIES OF TEST SYSTEMS FOR ENZYME IMMUNOASSAY (review of literature)

State Research «Center of Dermatovenereology and Cosmetology», Russian Ministry of Health, Moscow 119991, Russia

Autoimmune bullous dermatoses are a heterogeneous group of rare diseases of the skin and mucous membranes characterized by the production of autoantibodies targeting structural proteins of epithelial tissue and the underlying basal membrane. Highly sensitive and specific immunoassay test systems based on recombinant forms of target antigens that have appeared on the market in the last two decades have provided a new effective tool for the diagnosis of a number of autoimmune bullous dermatoses. The purpose of this article is to summarize information on current ELISA kits for the diagnosis of bullous dermatoses. The review describes the diagnostic capabilities, the result evaluation scale and the specifics of immunoassay staging for the test systems. In addition, information on the development of similar diagnostic tools in the Russian Federation is given.

Key words: review; recombinant proteins; autoimmune bullous dermatoses; enzyme immunoassay

For citation: Shpilevaya M.V., Chikin V.V., Nocos N.Yu., Arbuzova N.V. Laboratory diagnosis of autoimmune bullous dermatoses: capabilities of test systems for enzyme immunoassay (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (2): 126-134 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-2-126-134>

EDN: PANMJK

For correspondence: Shpilevaya M.V., Ph.D., senior researcher State Research «Center of Dermatovenereology and Cosmetology»; e-mail: aniram1970@list.ru

Information about authors:

Shpilevaya M.V., <https://orcid.org/0000-0002-9957-4009>;

Chikin V. V., <https://orcid.org/0000-0002-9688-2727>;

Nocos N.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-3967-8359>;

Arbuzova N. V., <https://orcid.org/0009-0009-9343-7191>.

Conflict of interests. The authors declare absents of conflict of interests.

Funding. The study was carried out within the framework of the state task of the State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology of the Ministry of Health of Russia № 056-00003-24-02.

Received 23.04.2024
Accepted 14.10.2024
Published 00.02.2025

Аутоиммунные буллезные дерматозы (АИБД) – представляют собой гетерогенную группу редких заболеваний кожи и слизистых оболочек, развитие которых обусловлено продукцией аутоантител, связывающихся со структурными белками эпителиальной ткани и подлежащей базальной мембраны [1]. Клинические проявления этих заболеваний могут существенно совпадать, а именно: общим клиническим признаком буллезных дерматозов являются пузыри (буллы) и образующиеся на их месте эрозии. Аналогичные клинические проявления в виде пузырей и эрозий могут также наблюдаться при токсидермиях, синдроме Лайелла, синдроме Стивенса-Джонсона, многоформной эритеме, патогенез которых не связан с продукцией аутоантител. Схожесть клинической картины этих заболеваний делает необходимым использование в их диагностике методов, позволяющих обнаруживать соответствующие аутоантитела. В настоящее время окончательный диагноз буллезного дерматоза устанавливается на основании сочетания клинической картины с выявлением аутоантител к отдельным целевым антигенам. Особенно важна диагностика пузырчатки, которая является дерматозом с потенциально летальным исходом. До появления кортикостероидов от пузырчатки погибали 75% заболевших, обычно в течение 1 года после начала болезни [2].

Выявление аутоантител при буллезных дерматозах возможно с помощью патолого-анатомического исследования биопсийного материала кожи с применением иммунофлюоресцентных методов, а также может быть использована серологическая диагностика. Иммунофлюоресцентное исследование биоптата кожи позволяет выявить отложение и локализацию аутоантител в коже, которая различна при разных заболеваниях. Однако получение биоптата кожи представляет собой инвазивную и сложную процедуру по сравнению с получением образца крови. Поэтому ведущее место в идентификации АИБД занимает серодиагностика, которая является минимально инвазивной, что особенно важно в случаях, когда невозможно получить биоптаты.

Для серологической диагностики буллезных дерматозов может быть использована непрямая иммунофлюоресцентная микроскопия с использованием сыворотки пациента или иммуноферментный анализ (ИФА). В настоящее время в серологической диагностике АИБД все чаще применяются системы ИФА на основе рекомбинантных форм целевых антигенов. Помимо идентификации специфичных аутоантител, ИФА позволяет количественно оценить их уровень, обеспечивая мониторинг течения заболевания и эффективность проводимой терапии. Исследование проводят с использованием коммерческих наборов для определения аутоантител, наблюдаемых при АИБД, а именно: антител к десмоглеину первого типа (Dsg1) и третьего типа (Dsg3) при вульгарной или листовидной пузырчатке; к энвоплакину при паранеопластической пузырчатке; к белкам BP180 и BP230 при пемфигоидных заболеваниях; к коллагену VII типа при приобретённом буллезном эпидермолизе. Поскольку

не существует международных эталонных сывороток для определения уровня аутоантител, ассоциированных с АИБД, в большинстве тест-систем результаты представляются в условных единицах, которые являются относительной мерой концентрации антител в образце крови пациента.

Цель данной статьи – обобщить информацию об имеющихся на российском рынке коммерческих лабораторных системах для иммуноферментной диагностики аутоиммунных буллезных дерматозов с описанием их диагностических возможностей, шкалы оценки результата и особенностей постановки ИФА для каждой тест-системы. В обзоре также приведена информация о разработке аналогичных диагностических инструментов в Российской Федерации. Изучение вопроса о возможности создания российских аналогов с целью импортозамещения актуально в ситуации нарастающего дефицита и увеличения стоимости зарубежных диагностических систем.

Обзор основан на публикациях, посвящённых разработке тест-систем для иммуноферментной диагностики буллезных дерматозов, включающих исследования последних 10 лет. Поисковая работа выполнена с использованием международных научных баз данных PubMed, Scopus, Elsevier.

Обобщённая информация о доступных на российском рынке тест-системах для иммуноферментной диагностики аутоиммунных буллезных дерматозов – как имеющих регистрационное удостоверение, так и предназначенных только для лабораторного использования, а также их диагностические характеристики представлены в таблице.

ИФА тест-системы для обнаружения аутоантител к десмоглеинам 1 и 3 типов. Десмоглеины 1-го и 3-го (Dsg1 и Dsg3) типов являются гликопротеинами семейства десмосомных кадгеринов - молекул клеточной адгезии [3, 5].

Это трансмембранные белки с С-концевым цитоплазматическим доменом, трансмембранным участком и внеклеточным фрагментом, состоящим из пяти экстрацеллюлярных субдоменов [3, 4, 6]. Тест-системы для ИФА на основе рекомбинантных белков – аналогов экстрацеллюлярных доменов десмоглеинов 1-го и 3-го типов позволяют эффективно дифференцировать вульгарную (определение аутоантител к Dsg3) и листовидную (определение аутоантител к Dsg1) пузырчатку [7, 8].

Первыми коммерчески доступными тестами стали «Mesacup-2 test Desmoglein 1» и «Mesacup-2 test Desmoglein 3», производимые компанией MBL (Medical and Biological Laboratories Co.Ltd., Япония). Тест-системы основаны на непрямом ИФА. Для поиска аутоантител используются рекомбинантные белки-аналоги внеклеточных доменов Dsg1 и Dsg3, продуцируемые клетками CHO (Chinese hamster ovary) [9]. Уровень антител в сыворотке крови оценивается введёнными авторами индексом «условные единицы» - U/ml (Unit value/ml). Для количественной оценки данного

индекса тест-системы включают калибраторы 0 и 100 U/ml. Значение индекса ≥ 20 свидетельствует о наличии антител к соответствующему десмоглеину. Диапазон

измерений тест-систем составляет 5-150 U/ml, а чувствительность и специфичность - 100% для определения Dsg1 и 95,8% для определения Dsg3 [10].

Тест-системы для иммуноферментной диагностики аутоиммунных буллёзных дерматозов, представленные на российском рынке

Диагностические маркеры	Заболевание	Диагностическая тест-система (производитель)	Чувствительность	Специфичность (%)	Литература	Регистрационное удостоверение (при наличии)
Анти-Dsg1	Листовидная пузырчатка	Mesacup-2 test Desmoglein 1 (MBL, Япония)	100%	95,8	[9, 10]	For in vitro diagnostic use
		Euroimmun (Германия)	100%	97,9	[4, 11]	ФСЗ 2010/07326 от 05.07.2010
		Fine Test (Южная Корея)	0,469 МЕ/мл		[12]	For research use only
Анти-Dsg3	Вульгарная пузырчатка	Mesacup-2 test Desmoglein 3 (MBL, Япония)	100%	95,8	[9, 10]	For in vitro diagnostic use
		Euroimmun (Германия)	100%	97,9	[4, 11, 12]	ФСЗ 2010/07326 от 05.07.2010
		Fine Test (Южная Корея)	0,469 МЕ/мл		[12]	For research use only
		Cloud-Clone Corp (США)	0,71 нг/мл		[14]	For research use only
		AssayGenie (Дублин-Лондон)	0,469 IU/ml		[15]	For research use only
Анти-энвоплакин	Паранеопластическая пузырчатка	Euroimmun (Германия)	91,3%	95,7	[16]	ФСЗ 2010/07326 от 05.07.2010
Анти-BP180	Буллёзный пемфигоид	(MBL, Япония)	59 - 60%	98 - 99	[18]	
		Euroimmun (Германия)	75,5 - 94,3%	86 - 98,8	[19, 21]	ФСЗ 2010/07326 от 05.07.2010
Анти-BP230	Буллёзный пемфигоид	(MBL, Япония)	59 - 60%	98 - 99	[19, 20]	For research use only
		Euroimmun (Германия)	36,7 - 61,6	86,0 - 98,8	[21]	ФСЗ 2010/07326 от 05.07.2010
Анти - Col 7	Приобретённый буллёзный эпидермолиз	Euroimmun (Германия)	82,2%	98,6	[27-28]	ФСЗ 2010/07326 от 05.07.2010
Анти- tTG	Целиакия Герпетиформный дерматит Дюринга	Euroimmun (Германия)	95,7%	98	[31-33]	ФСЗ 2010/07326 от 05.07.2010
		Orgentec Diagnostika (Германия)	100%	96,7	[34]	ФСЗ 2012/11754 от 20.03.2012
Анти -Gliadin	Целиакия Герпетиформный дерматит Дюринга	Euroimmun (Германия)	82,3%	95,9	[31]	ФСЗ 2010/07326 от 05.07.2010
		Orgentec Diagnostika (Германия)	70%	100	[34]	ФСЗ 2012/11754 от 20.03.2012
Анти- Dsg1, Анти- Dsg3, Анти- BP230, Анти- BP180, Анти - Col 7	Мультивариантная тест-система (определение 5 диагностических маркеров)	Mesacup anti-skin profile test (MBL, Япония)	Соответствует чувствительности каждого моноантигенного ИФА	Соответствует специфичности каждого моноантигенного ИФА	[23]	For research use only
Анти- Dsg1, Анти- Dsg3, Анти- BP230, Анти- BP180, Анти - Col 7, Анти-энвоплакин	Мультивариантная тест-система (определение 6 диагностических маркеров)	Dermatology Profile Elise Euroimmun (Германия)	Соответствует чувствительности каждого моноантигенного ИФА	Соответствует специфичности каждого моноантигенного ИФА	[35]	For research use only

Компания Euroimmun (Medizinische Labordiagnostika AG, Germany) при создании аналогичных систем для ИФА использовала в качестве целевых антигенов экстрацеллюлярные фрагменты Dsg1 и Dsg3, экспрессированные в клеточной линии человека НЕК293 [4, 11]. Чувствительность созданных тест-систем - 100% - была аналогична таковым фирмы MBL, а специфичность оказалась несколько выше - 97,9% [12]. Уровень активности антител в исследуемом образце оценивается в

сравнительных единицах – relative units в мл (RU/ml). Для количественной характеристики активности антител тест-система включает набор калибраторов, на основе значений оптической плотности которых строится калибровочный график. Как и в тест-системах фирмы MBL, значение активности ≥ 20 RU/ml свидетельствует о наличии антител к определяемому десмоглеину. Диапазон измерений наборов составлял 2-200 RU/ml. Считается, что установленные в тест-системах MBL и

Euroimmun уровни активности аутоантител к Dsg1 или Dsg3 коррелируют с активностью заболевания и могут служить прогностическим средством для оценки его тяжести, а также быть индикатором перехода между двумя формами пузырчатки [7, 8].

В настоящее время тест-системы ИФА для количественного определения уровня антител к десмоглеинам 1-го и 3-го типа предлагаются также фирмами Fine Test (Южная Корея) [13] и Cloud-Clone Corp (США) [14], которые позиционируют себя как производители данных тест-систем, а для определения уровня антител только к десмоглеину 3-го типа - AssayGenie (Дублин-Лондон) [15].

Cloud-Clone Corp предлагает набор для непрямого качественного и количественного ИФА, аналогичный системам MBL и Euroimmun. Набор включает лиофилизированный стандарт для построения калибровочного графика. Единицей измерения концентрации аутоантител являются нг/мл. Диапазон определения: 1,56-100 нг/мл. Чувствительность: 0,71 нг/мл. Длительность анализа 2,5 часа.

Тест-системы Fine Test и AssayGenie идентичны и предназначены для количественного определения концентрации антидесмоглеиновых антител методом сэндвич ИФА. В качестве антигена для сорбции и меченая биотином использованы рекомбинантные Dsg 1 или Dsg 3 человека. Уровень аутоантител определяется по калибровочным графикам в условных единицах. Интервал обнаружения 0,781 – 50 UE/мл, чувствительность метода 0,781 UE/мл. Время выполнения исследования 4 часа.

В тест-системах Fine Test, Cloud-Clone Corp и AssayGenie рассматривается проведение количественного анализа, так как критерии для качественного анализа отсутствуют. Для определения диагностически значимого количества аутоантител необходимо построение калибровочного графика как минимум из 4 точек и дополнительно – постановка отрицательного контроля. Это значительно сокращает количество лунок для тестируемых образцов. Возникают также вопросы сопоставления количественных результатов определения, выраженных в нг/мл в одних тест-системах и условных единицах (Relative Units, RU, или International Units, IU) - в других.

ИФА тест-системы для обнаружения аутоантител при паранеопластической пузырчатке. Тест-система ИФА для диагностики паранеопластической пузырчатки производства компании Euroimmun [16] создана на основе рекомбинантного N-концевого фрагмента энвоплакина, экспрессированного в клетках *E. coli*. Как во всех наборах Euroimmun, имеются калибратор, положительный и отрицательный контроли. Показатель оптической плотности (ОП) калибратора определяет верхний предел референсного диапазона (пороговое значение) для здоровых людей, рекомендованный Euroimmun. Значения выше порогового считаются положительными, ниже — отрицательными. Помимо качественной интерпретации, возможна полуколичественная оценка результатов путем расчета коэффициента (R) как отношения значения ОП исследуемого образца к значению ОП калибратора. Результаты интерпретируются следующим образом: $R < 1,0$ - результат отрицательный, $R \geq 1,0$ - результат положи-

тельный. Нижний предел обнаружения антител к энвоплакину предложенным методом $R = 0,07$. При специфичности 95,7% чувствительность метода составляет 91,3% [16]. Концентрация антител коррелирует с активностью заболевания и может использоваться для мониторинга эффективности лечения. ИФА для обнаружения антител к энвоплакину на основе N-концевого фрагмента энвоплакина не только идентифицирует циркулирующие аутоантитела против энвоплакина при паранеопластической пузырчатке, но и способствует её дифференциальной диагностике от буллезного пемфигоида, вульгарной и листовидной пузырчаток.

ИФА тест-системы для обнаружения аутоантител к VP180 и VP230 при буллезном пемфигоиде. При буллезном пемфигоиде аутоантитела специфичны к двум полудесмосомальным белкам, VP180 и VP230 [17]. VP180 представляет собой трансмембранную молекулу, аутоантитела к которой реагируют с её внеклеточным неколлагеновым доменом NC16A. VP230 является внутриклеточным компонентом гемидесмосомы, и основная иммуногенная мишень аутоантител - глобулярный C-концевой домен данной молекулы.

Для обнаружения аутоантител против VP180 было разработано несколько методов ИФА с использованием рекомбинантных форм VP180, чаще всего его внеклеточного домена NC16A [18-20], полученного путем бактериальной экспрессии в клетках *E. coli*.

Широкое распространение получили коммерческие тест-системы для качественного определения концентрации аутоантител при буллезном пемфигоиде методом непрямого ИФА двух производителей – MBL и Euroimmun. Тест-система MBL основана на рекомбинантном антигене NC16A в виде белка, слитого с глутатион-S-трансферазой - (GST)-NC16A [18]. В тест-системе Euroimmun используемый рекомбинантный белок включает четыре копии домена (NC16A-4X), слитые с полигистидиновой меткой для усиления экспрессии [21]. Получившийся белок имеет такой же размер, как белок, слитый с GST.

Тест-системы MBL содержат положительный и отрицательный контроли. Для определения уровня аутоантител к BP180 сравниваются значения оптических плотностей (ОП) в лунках с исследуемым образцом и отрицательным контролем. Если ОП образца $< 2,1 \times$ ОП отр. контроля - результат исследования отрицательный; если ОП образца $\geq 2,1 \times$ ОП отр. контроля - результат положительный. Чувствительность и специфичность тест-систем составляют 59-60% и 98-99% соответственно [19,20]. Единицей обнаружения аутоантител являются Международные Единицы - МЕ (International Units, IU). Пороговое значение обнаружения аутоантител 9 МЕ/мл.

Тест-система компании Euroimmun основана на использовании тетрамерного белка NC16A-4X. Уровень активности антител в исследуемом образце оценивается в сравнительных единицах (RU/ml). Состав тест-системы и метод регистрации результатов аналогичны таковым для определения антител к десмоглеинам. ИФА с VP180 - NC16A-4X имеет чувствительность 75,5-94,3% и специфичность 86-98,8% [21,22]. Уровни антител к VP180, определяемые с помощью тетрамерной тест-системы, коррелируют с активностью заболевания, что важно для принятия решений о лечении у

пациентов без видимых поражений кожи [22].

Тест-наборы ИФА для определения антител против ВР230 разработаны теми же компаниями и имеют сходный дизайн. Планшеты компании MBL сорбированы N-концевыми и C-концевыми рекомбинантными белками человека [21], клонированными и экспрессированными в клетках *E. coli*. Чувствительность такой иммуноферментной системы составляет 59-60%, специфичность варьируется в интервале 98-99% [23].

Планшеты компании Euroimmun сорбированы фрагментом C-концевого глобулярного домена ВР230, экспрессированного также в системе *E. coli* [24]. Чувствительность и специфичность метода варьируются в интервалах 36,7–61,6% и 86,0–98,8% соответственно [21-22].

Достаточно широкие диапазоны чувствительности и специфичности ИФА, о которых сообщается в исследованиях, объясняют следующими причинами: разные методы определения порогового значения тест-систем; различие в количестве исследуемых сывороток; выборка пациентов буллезным пемфигоидом (длительность и тяжесть заболевания, оказываемое лечение); разная длина и источники получения рекомбинантных белков [25].

Многие исследователи отмечают, что при одновременном исследовании сывороток с использованием двух тест-систем – на определение антител к ВР230 и ВР180 чувствительность и специфичность ELISA возрастают до 84,6-97% и 88-100% соответственно [21,22].

Известна также очень редкая форма буллезного пемфигоида – анти-ламинин- γ 1/анти-p200-пемфигоид. У этих пациентов аутоантитела вырабатываются к белку p200, который представляет собой γ 1-ламинин.

ИФА тест-системы для обнаружения аутоантител к коллагену VII типа при приобретенном буллезном эпидермолизе. Высокочувствительную и специфичную диагностику приобретенного буллезного эпидермолиза позволяет проводить доступная коммерческая система ИФА Col7-NC1 (Euroimmun). Диагностика основана на качественном определении аутоантител IgG к коллагену VII типа (Col7). Молекула Col7 представляет собой тример, каждая цепь которого состоит из коллагенового домена, фланкированного неколлаженовыми доменами NC1 на аминоконце и NC2 - на карбокси-конце. Мажорные иммуногенные эпитопы находятся в домене NC1, а минорные - в домене NC2 [26].

В тест-системе Euroimmun Col7-NC1 планшеты сорбированы рекомбинантным NC1-Col7, экспрессированным на поверхности клеток НЕК293 [27]. Пороговое значение тест-системы 20 RU/ml; чувствительность и специфичность 82,2% и 98,6% соответственно [28].

ИФА для обнаружения аутоантител к коллагену VII типа полезен для подтверждения диагноза ПБЭ, дифференциации его от случаев анти-ламинин- γ 1/анти-p200-пемфигоида и для помощи в принятии решений о лечении. Уровень циркулирующих антител коррелируют с активностью заболевания [29].

ИФА тест-системы для обнаружения ауто-

антител к герпетиформному дерматиту (болезни Дюринга). Герпетиформный дерматит (болезнь Дюринга) — кожное проявление целиакии, поражающее около 10% пациентов с этим заболеванием. Для него характерно образование пузырей в зоне базальной мембраны кожи. Мишенью циркулирующих аутоантител IgA при этом являются тканевая трансглутаминаза (tTG) [30] и деамидированный глиадин [30]. Поскольку основная глютенчувствительная энтеропатия часто связана с селективным дефицитом IgA, для диагностики показано дополнительное определение антител класса IgG. Компания Euroimmun производит тест-системы ИФА для диагностики анти-tTG и анти-глиадиновых аутоантител - «Anti-tissue Transglutaminase ELISA (IgA)» [31] и «Europlus Anti-Gliadin (GAF-3X) ELISA (IgA)» [32,33].

Эпидермальная трансглутаминаза [30] - фермент, экспрессируемый в шиповатом слое эпидермиса. Соответствующий рекомбинантный белок, сорбируемый в лунки планшетов, экспрессируется в клеточной линии насекомых *Spodoptera frugiperda* Sf9. Тест-система позволяет проводить качественное и количественное определения аутоантител класса IgA, а при необходимости – IgG.

Глиадин - белок, входящий в состав глютена, вызывает воспалительные, иммунологические и аутоиммунные реакции у людей с глютеносенситивностью. В диагностике используются тесты, содержащие в качестве антигенов линейные дезамидированные пептиды глиадина, что делает метод чувствительнее и специфичнее. Рекомбинантный полипептид, к которому определяются антитела, представляет собой «дизайнерский антиген» - тример слитого пептида [31], который вызывает положительную реакцию почти исключительно у пациентов с целиакией и герпетиформным дерматитом Дюринга. Одна пептидная последовательность - основной эпитоп дезамидированного глиадина, тогда как вторая патофизиологически значима для целиакии [32]. ДНК, кодирующая слитые пептиды, экспрессирована в клетках *E. coli*.

Состав обеих тест-систем и метод регистрации результатов аналогичны таковым для определения антител к десмоглеинам. Активность антител в исследуемом образце оценивается в сравнительных единицах в мл (RU/ml). Значение активности ≥ 20 RU/ml (в случае глиадина ≥ 25 RU/ml) свидетельствует о наличии антител к соответствующему белку. Чувствительность и специфичность тест-системы «Anti-tissue Transglutaminase ELISA (IgA)» составляют 95,7% и 98% соответственно [32]. В случае дефицита в исследуемом образце антител IgA, можно определять IgG [33]. Чувствительность тест-системы для определения IgG выше – 99,7%. Чувствительность и специфичность тест-системы «Europlus Anti-Gliadin (GAF-3X) ELISA (IgA)» составляют 82,3% и 95,9% соответственно [31].

Для диагностики анти-tTG и анти-глиадиновых аутоантител на российском рынке также зарегистрированы тест-системы для непрямого ИФА компании Orgentec Diagnostika GmbH (Германия). [34] Антигенами для сорбции являются высокоочищенные рекомбинантные белки человеческого происхождения:

тканевая трансглутаминаза и деамидированные пептиды глинаина (DGP). В связи с отсутствием международного стандарта определения анти-tTG и анти-DGP антител, метод прокалиброван в арбитражных единицах (U/ml). Диапазон измерения в обоих случаях составляет 0-200 U/ml, чувствительность - 1 U/ml. Для определения анти-tTG диапазон измерения 0-200 U/ml, чувствительность 100%, специфичность 96,7%. Для определения анти-DGP диапазон измерения 0-1000 U/ml, чувствительность 70%, специфичность 100%.

Мультивариантные тест-системы ИФА.

В 2016 году компания MBL создала новую тест-систему ИФА для более быстрого обнаружения антител IgG к десмоглеину 1, десмоглеину 3, антигенам буллезного пемфигоида BP180, BP230 и коллагену XVII типа «Mesacup anti-skin profile test» (ASPT) [12, 23]. Аутоантитела к перечисленным антигенам можно обнаружить одновременно в одном анализе, поскольку каждое определяется в отдельной лункке с сорбированным соответствующим рекомбинантным антигеном. Согласно инструкциям производителя, время анализа до момента снятия результатов 1 час 45 минут и один образец сыворотки может быть протестирован на одном стрипе, содержащем восемь лунок: пять для аутоантигенов и три для положительного и отрицательного контролей. Диагностическая чувствительность метода варьировалась от 59,6% (к BP180 при буллезном пемфигоиде) до 92,5% (для обыкновенной пузырчатки), а специфичность от 97,5% (к BP180) до 100% (при всех остальных исследуемых дерматозах). В 2016 году были опубликованы аналогичные исследования по использованию системы многовариантного иммуноферментного анализа для диагностики аутоиммунных буллезных заболеваний, созданной под руководством департамента дерматологии г. Любек (Германия) [35]. Мультивариантный ИФА – Dermatology Profile ELISA - включает 6 различных рекомбинантных иммунодоминантных антигенов – мишеней

ней аутоиммунных буллезных дерматозов: BP180, BP230, коллаген VII типа, десмоглеин 1, десмоглеин 3 и энвоплакин, каждый из которых вносится в отдельную лунку (см. рисунок). Время анализа до момента снятия результатов 1 час 45 мин. Полуколичественная оценка проводится на основе общего калибратора и антигенспецифического фактора.

Метод разрабатывался на основе индивидуальных ИФА систем для определения антител против десмоглеина 1, десмоглеина 3, энвоплакина, BP180, BP230 и col17. Для валидации многовариантного ИФА использовали панель сывороток пациентов с хорошо охарактеризованными аутоиммунными буллезными дерматозами и панель контрольных сывороток, полученных от здоровых доноров и от пациентов с невоспалительными заболеваниями кожи. Диагностическая чувствительность метода варьировалась от 85,7% (для паранеопластической пузырчатки) до 100% (для обыкновенной пузырчатки), а специфичность от 97,3% (для буллезного пемфигоида) до 100% (при приобретенном буллезном эпидермолизе). При сравнении многовариантного ИФА и прямой иммунофлуоресцентной микроскопии (золотой стандарт диагностики АИБД), согласованные результаты наблюдались для 94% больных пузырчаткой и 71% больных пемфигоидом. При традиционном многоэтапном диагностическом подходе совпадение результатов отмечено для 91% больных пузырчаткой, 88% больных буллезным пемфигоидом и 93% здоровых доноров.

По мнению авторов, отсутствие реактивности в многовариантном ИФА может быть связано с охватом неполного спектра целевых антигенов АИБД и игнорированием реактивности аутоантител класса IgA.

Несмотря на отмеченную информативность и скорость выполнения анализа, мультивариантные тест-системы ИФА в настоящее время отсутствуют на коммерческом рынке. Заявленный разработчиками оптимизм не был поддержан клиническими дерматологами [36], основное замечание которых заклю-

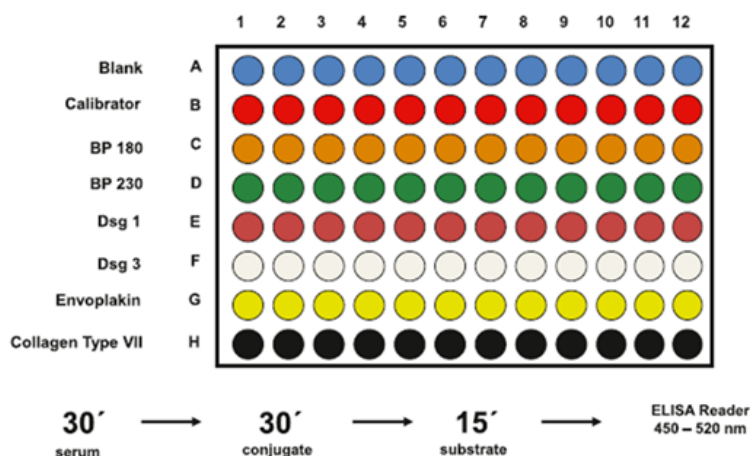


Схема расположения антигенов на планшете для мультивариантного ИФА.

В горизонтальных рядах сорбированы рекомбинантные формы иммунодоминантных антигенов – мишеней шести аутоиммунных буллезных дерматозов. Сыворотка каждого пациента вносится в вертикальный ряд. На планшете возможен анализ двенадцати образцов сыворотки. Под схемой панели показана длительность каждого этапа ИФА.

BP – буллезный пемфигоид; Dsg – десмоглеин (цит. по V. van Beek и соавт. [35]).

чается в том, что анализ крови методом ИФА полезен для подтверждения заболевания, но не для его диагностики при отсутствии клинических данных.

Помимо описанных диагностических систем, в специализированных лабораториях доступны нестандартизированные тест-системы ИФА, содержащие набор рекомбинантных антигенов для определения таких редких параметров, как: наличие IgE-антител против BP180 NC16A [37-38], реактивность сыворотки крови против десмоколлина [39], ламинина $\gamma 1$ [40], реактивность IgA-антител против эктодомена BP180 [41], диагностика полноразмерного BP180 [42] и различных других форм BP180 [43], а также ламинина 332 [44]. Использование данных наборов обеспечивает предварительное скрининговое исследование редких АИБД и сокращает время для постановки диагноза.

Таким образом, анализ данных литературы свидетельствует, что появившиеся на рынке за последние два десятилетия высокочувствительные и специфичные системы ИФА на основе рекомбинантных антигенов все чаще применяются в серологической диагностике АИБД. Отличаясь простотой исполнения, быстротой получения и объективностью оценки результата, метод позволяет идентифицировать и количественно измерять уровень аутоантител, который в ряде случаев коррелирует с активностью заболевания и может служить прогностическим средством для оценки его тяжести. Каждая представленная в обзоре тест-система отличается высокими значениями диагностических характеристик и содержит все необходимые для постановки анализа реагенты. Одновременно следует отметить уникальность каждой тест-системы по видам и источникам получения рекомбинантных целевых антигенов и определяемому ими диапазону чувствительности; качественной и/или количественной оценке предоставляемого результата; единицам измерения активности аутоантител. Представленный обзор может помочь определиться с выбором тест-системы, максимально соответствующей требованиям потребителя. Отмеченное в обзоре отсутствие единого стандарта единиц измерения связано с невозможностью создания банка стандартных сывороток в связи с редкой встречаемостью описанных аутоиммунных заболеваний. К недостаткам описанных тест-систем в настоящее время можно отнести сложность поставки и высокую стоимость. Последние два качества зарубежных тест-систем делают актуальной задачу по их импортозамещению.

С этой целью в Российской Федерации проводились работы по созданию иммуноферментных тест-систем для диагностики вульгарной пузырчатки как потенциально летального дерматоза. Для изучения аутоиммунного ответа к десмоглеину 3 типа были созданы две лабораторные тест-системы [45 - 47]. В первой тест-системе в качестве антигена использовали рекомбинантный белок, воспроизводящий два начальных домена EC1-EC2 экстрацеллюлярного фрагмента Dsg3, который был синтезирован в клетках дрожжей *S. cerevisiae*. Экспериментальная тест-система показала специфичность 85% при определении уровня аутоантител в сыворотке крови пациентов с вульгарной пузырчаткой [45, 46]. Вторая

тест-система [47] основывалась на рекомбинантных антигенах, воспроизводящих полноразмерный фрагмент Dsg3 или его отдельные домены EC1, EC2 и EC4, которые были получены экспрессией в клетках млекопитающих (линия CHO). Данная система позволила установить дифференцированный аутоиммунный ответ на отдельные домены Dsg3 у пациентов с вульгарной пузырчаткой.

Таким образом, анализ современной научной и научно-технической литературы, посвященной ИФА-диагностике АИБД, свидетельствует о совершенствовании и активном внедрении данного метода серологической диагностики, а также о возможности разработки российских аналогов подобных тест-систем.

ЛИТЕРАТУРА (П. П. 1 - 44, 47 С. М. REFERENCES)

45. Свирщевская, Е.В., Матушевская Е.В., Дзугцева И.Р., Лысенко А.А. Разработка иммуноферментной тест-системы на основе дрожжевого рекомбинантного десмоглеина 3 для серодиагностики вульгарной пузырчатки. *Вестник дерматологии и венерологии*, 2005; (3): 4-10.
46. Матушевская Е.В., Свирщевская Е.В., Дзугцева И.Р., Тогоева Л.Т., Лапшина Т.П. Изменение уровня антител к десмоглеину-3 в сыворотках крови больных пузырчаткой до и после лечения. *Вестник дерматологии и венерологии*, 2005; (6): 12-6.

REFERENCES

1. Egami S., Yamagami J., Amagai M. Autoimmune bullous skin diseases, pemphigus and pemphigoid. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2020; 145: 1031-47. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.02.013.
2. Bystry J.C., Steinman N.M. The adjuvant therapy of pemphigus. An update. *Arch. Dermatol.* 1996; 132 (2): 203-12. DOI: 10.1001/archderm.1996.03890260105016.
3. Hegazy M., Perl A.L., Svoboda S.A., Green K.J. Desmosomal cadherins in health and disease. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2022; 17: 47-72. DOI: 10.1146/annurev-pathol-042320-092912.
4. Saschenbrecker S., Karl I., Komorowski L., Probst C., Dähnrich C., Fechner K. et al. Serological diagnosis of autoimmune bullous skin diseases. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1-18. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01974.
5. Schmidt E., Kasperkiewicz M., Joly P. Pemphigus. *Lancet.* 2019; 394: 882-94. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)31778-7.
6. Harrison O.J., Brasch J., Lasso G., Katsamba P.S., Ahlsen G., Honig B. et al. Structural basis of adhesive binding by desmocolins and desmogleins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2016; 113: 7160-5. DOI: 10.1073/pnas.1606272113.
7. van Beek N., Zillikens D., Schmidt E. Diagnosis of autoimmune bullous diseases. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 2018; 16(9): 1077-91. DOI: 10.1111/ddg.13637.
8. Kasperkiewicz M., Ellebrecht C.T., Takahashi H., Yamagami J., Zillikens D., Payne A.S. et al. Pemphigus. *Nat. Rev. Dis. Primers* 2017; (3): 17026. DOI: 10.1038/nrdp.2017.26.
9. Fujio Y., Kojimab K., Hashiguchib M., Wakui M., Murata M., Amagai M. et al. Validation of chemiluminescent enzyme immunoassay in detection of autoantibodies in pemphigus and pemphigoid. *Journal of Dermatological Science.* 2017; 85 (3): 208-15. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2016.12.007.
10. Futei Y., Amagai M., Sekiguchi M., Nishifuji K., Fujii Y., Nishikawa T. Use of domain-swapped molecules for conformational epitope mapping of desmoglein 3 in pemphigus vulgaris. *J. Invest. Dermatol.* 2000; 115 (5): 829-834. DOI: 10.1046/j.1523-1747.2000.00137.x.
11. Schmidt E., Dähnrich C., Rosemann A., Probst C., Komorowski L., Saschenbrecker S. et al. Novel ELISA systems for antibodies to desmoglein 1 and 3: correlation of disease activity with serum autoantibody

- levels in individual pemphigus patients. *Exp. Dermatol.* 2010; 9 (5): 458–63. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2010.01069.x.
12. Yang A., Xuan R., Melbourne W., Tran K., Murrell D.F. Validation of the BIOCHIP test for the diagnosis of bullous pemphigoid, pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *J. Eur. Acad. Dermatology Venereol.* 2020; 34 (1): 153–60. DOI: 10.1684/ejd.2015.2692.
 13. Human anti-DSG3 antibody (anti-desmoglein-3 antibody) ELISA kit. Available at: <https://www.fn-test.com/product/eh4171/> (accessed April 2024).
 14. Enzyme-linked immunosorbent assay kit for anti-desmoglein 3 antibody (Anti-DSG3). Available at: <https://www.cloud-clone.com/products/SEA444Hu.html> (accessed April 2024).
 15. Assay Genie. Human Anti-DSG3 antibody (anti-Desmoglein-3 antibody) ELISA Kit. Available at: <https://www.assaygenie.com/human-anti-dsg3-antibody-anti-desmoglein-3-antibody-elisa-kit/> (accessed April 2024).
 16. Probst C., Schlumberger W., Stöcker W., Recke A., Schmidt E., Hashimoto T. et al. Development of ELISA for the specific determination of autoantibodies against envoplakin and periplakin in paraneoplastic pemphigus. *Clin. Chim. Acta.* 2009; 410 (1-2): 13-8. DOI: 10.1016/j.cca.2009.08.022.
 17. Keller J.J., Kittridge A.L., Debanne S.M., Korman N.J. Evaluation of ELISA testing for BP180 and BP230 as a diagnostic modality for bullous pemphigoid: a clinical experience. *Arch. Dermatol. Res.* 2016; 308 (4): 269–72.
 18. Kobayashi M., Amagai M., Kuroda-Kinoshita K., Hashimoto T., Shirakata Y., Hashimoto Koji. et al. BP180 ELISA using bacterial recombinant NC16a protein as a diagnostic and monitoring tool for bullous pemphigoid. *J. Dermatol. Sci.* 2002; 30 (3): 224-32. DOI: 10.1016/s0923-1811(02)00109-3.
 19. Sitaru C., Dähnrich C., Probst C., Komorowski L., Blöcker I., Schmidt E. et al. Enzyme-linked immunosorbent assay using multimers of the 16th non-collagenous domain of the BP180 antigen for sensitive and specific detection of pemphigoid autoantibodies. *Exp. Dermatol.* 2007; 16 (9): 770-7. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2007.00592.x.
 20. Tampoia M., Lattanzi V., Zucano A., Villalta D., Filotico R., Fontana A. et al. Evaluation of a new ELISA assay for detection of BP230 autoantibodies in bullous pemphigoid. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2009; 1173: 15- 20. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04630.x.
 21. Esmaili N., Mortazavi H., Kamyab-Hesari K., Aghazadeh N., Daneshpazhoo M., Khani S. et al. Diagnostic accuracy of BP180 NC16a and BP230-C3 ELISA in serum and saliva of patients with bullous pemphigoid. *Clin. Exp. Dermatol.* 2015; 40 (3): 324–30.
 22. Chanprapaph K., Thadanipon K. Anti-BP180 and anti-BP230 enzyme-linked immunosorbent assays for diagnosis and disease activity tracking of bullous pemphigoid: A prospective cohort study. *Asian Pacific J. Allergy Immunol.* 2021; 39 (4): 272-8. DOI: 10.12932/AP-231118-0446.
 23. Horváth O., Rita Varga R., Kaneda M., Schmidt E., Thomas Ruzicka T., Sárdy M. Diagnostic performance of the "MESACUP anti-skin profile test" *Eur. J. Dermatol.* 2016; 26 (1): 56-63. DOI: 10.1684/ejd.2015.2692.
 24. Damoiseaux J., van Rijsingen M., Warnemünde N., Dähnrich C., Fechner K., Tervaert J.W. Autoantibody detection in bullous pemphigoid: clinical evaluation of the Europlus dermatology mosaic. *J. Immunol. Methods.* 2012; 382 (1-2): 76-80. DOI: 10.1016/j.jim.2012.05.007.
 25. Charneux J., Lorin J., Vitry F., Antonicelli F., Reguiaz Z., Barbe C. et al. Usefulness of BP230 and BP180-NC16a enzyme-linked immunosorbent assays in the initial diagnosis of bullous pemphigoid: a retrospective study of 138 patients. *Arch. Dermatol.* 2011; 47 (3): 286-91. DOI: 10.1001/archdermatol.2011.23.
 26. Koga H., Prost-Squarcioni C., Iwata H., Jonkman M.F., Ludwig R.J., Bieber K. Epidermolysis bullosa acquisita: The 2019 Update. *Front Med. (Lausanne)* 2018; 5: 362. DOI: 10.3389/fmed.2018.00362.
 27. Chen M., Chan L.S., Cai X., O'Toole E. A., Sample J. C., Woodley D. T. Development of an ELISA for rapid detection of anti-type VII collagen autoantibodies in epidermolysis bullosa acquisita. *Journal of Investigative Dermatology.* 1997; 108 (1): 68-72. DOI: 10.1111/1523-1747.ep12285634.
 28. Holsche M.M., van Beek N., Hashimoto T., Zenzo G.D., Zillikens D., Prost-Squarcioni C. et al. Diagnosis of epidermolysis bullosa acquisita: multicentre comparison of different assays for serum anti-type vii collagen reactivity. *Acta Derm. Venereol.* 2021; 101 (3): 971. DOI: 10.2340/00015555-3774.
 29. Seta V., Aucouturier F., Bonnefoy J., Roux-Villet L. C., Pendaries V., Alexandre M. et al. Comparison of 3 type VII collagen (C7) assays for serologic diagnosis of epidermolysis bullosa acquisita (EBA). *J. Am Acad. Dermatol.* 2016; 74 (6): 1166-72. DOI: 10.1016/j.jaad.2016.01.005.
 30. Hietikko M., Hervonen K., Tuire I., Salmi T., Huhtala H., Laurila K. et al. Ex vivo culture of duodenal biopsies from patients with dermatitis herpetiformis indicates that transglutaminase 3 antibody production occurs in the gut. *Acta Derm. Venereol.* 2018; 98 (3): 366-72. DOI: 10.2340/00015555-2849.
 31. Prause C., Probst C., Komorowski L., Dähnrich C., Schlumberger W., Richter T. et al. The new anti-GAF(3X) ELISA for highly reliable serologic diagnosis of childhood coeliac disease. Wissenschaftliche Präsentation auf dem 10th International Workshop on Autoantibodies and Autoimmunity (IWAA), Mexiko, 2008.
 32. Rose C., Dähnrich C., Probst C., Stöcker W., Schlumberger W., Zillikens D. Anti-GAF(3X) ELISA (IgG) in combination with anti-tTG-ELISA (IgA) identifies 100% of celiac disease patients with dermatitis herpetiformis Dühring and positive intestinal biopsy (March III). Abstract zum 6. International Congress on Autoimmunity in Porto, Portugal, 2008.
 33. Euroimmun Anti-tissue Transglutaminase ELISA (IgA) Test instruction. Available at: <https://www.intimaktur.co.id/uploads/files/produk/ifu/20210712164420-ifu-anti-tissue-transglutaminase-elisa-iga.pdf> (accessed April 2024).
 34. Test instruction Anti-Tissue-Transglutaminase Orgentec Diagnostika GmbH (Germany). Available at: <https://www.orgentec.com/en/products/alegria/autoimmune+disease+diagnostics/gastroenterology+diagnostics/Anti-Tissue-Transglutaminase.html> (accessed April 2024).
 35. van Beek N., Dähnrich C., Johannsen N., Lemcke S., Goletz S., Hübner F. et al. Prospective studies on the routine use of a novel multivalent enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of autoimmune bullous diseases. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2016; 76 (5): 889–894.e5. DOI: 10.1016/j.jaad.2016.11.002.
 36. Mutasim M.D. Practice Update. Novel multivalent ELISA effective for the diagnosis of autoimmune blistering diseases. Accessible via Google: <https://www.practiceupdate.com/content/novel-multivalent-elisa-effective-for-the-diagnosis-of-autoimmune-blistering-diseases/48603> (accessed April 2024).
 37. van Beek N., Luttmann N., Huebner F., Recke A., Karl I., Schulze F.S. et al. Correlation of serum levels of IgE autoantibodies against BP180 with bullous pemphigoid disease activity. *JAMA Dermatol.* 2017; (5391): 30–8. DOI: 10.1001/jamadermatol.2016.3357.
 38. Hashimoto T., Ohzono A., Teye K., Numata S., Hiroyasu S., Tsuruta D. et al. Detection of IgE autoantibodies to BP180 and BP230 and their relationship to clinical features in bullous pemphigoid. *Br. J. Dermatol.* 2017; 77 (1): 141–51. DOI: 10.1111/bjd.15114.
 39. Ishii N., Teye K., Fukuda S., Uehara R., Hachiya T., Koga H. et al. Anti-desmoglein autoantibodies in nonclassical pemphigus. *Br. J. Dermatol.* 2015; 173 (1): 59–68. DOI: 10.1111/bjd.13711.
 40. Groth S., Recke A., Vafia K., Ludwig R. J., Hashimoto T., Zillikens D. et al. Development of a simple enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of autoantibodies in anti-p200 pemphigoid. *Br. J. Dermatol.* 2011; 164 (1): 76–82. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2010.10056.x.
 41. Csorba K., Schmidt S., Florea F., Ishii N., Hashimoto T., Hertl M. et al. Development of an ELISA for sensitive and specific detection of IgA autoantibodies against BP180 in pemphigoid diseases. *Orphanet. J. Rare Dis.* 2011; 6: 31. DOI: 10.1186/1750-1172-6-31.
 42. Izumi K., Nishie W., Mai Y., Wada M., Natsuga K., Ujii H. et al. Autoantibody profile differentiates between inflammatory and non-inflammatory bullous pemphigoid. *J. Invest. Dermatol.* 2016; 136 (11): 2201–10. DOI: 10.1016/j.jid.2016.06.622.
 43. Yasukochi A., Teye K., Ishii N., Hashimoto T. Clinical and immunological studies of 332 Japanese patients tentatively diagnosed as anti-BP180-type mucous membrane pemphigoid: a novel BP180 C-terminal domain enzyme-linked immunosorbent assay. *Acta Derm. Venereol.* 2016; 96: 762–7. DOI: 10.2340/00015555-2407.
 44. Bernard P., Antonicelli F., Bedane C., Joly P., Le Roux-Villet C., Duvert-Lehembre S. et al. Prevalence and clinical significance of anti-laminin 332 autoantibodies detected by a novel enzyme-linked immunosorbent assay in mucous membrane pemphigoid. *JAMA Dermatol.* 2013; 149 (5): 533–40. DOI: 10.1001/jamadermatol.2013.1434.

45. Svirshcevsckaya E.V., Matushevskaya E.V., Dzutseva I.R., Lysenko A.A. Development of an immunoenzyme test system based on yeast recombinant desmoglein 3 for serodiagnosis of vesicular vesicular vulgar disease. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2005; (3): 4-10. (in Russian)
46. Matushevskaya E.V., Svirshcevsckaya E.V., Dzutseva I.R., Togoeva L.T., Lapshina T.P. Serum antidesmoglein-3 antibodies in patients with pemphigus before and after therapy. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2005; (6): 12-6. (in Russian)
47. Kubanov A.A., Deryabin D.G., Shpilevay M.V., A.E. Karamova A.E., Nikonorov A.A., Larina E. N. et al. Analysis of the specificity of auto-reactive antibodies to individual fragments of the extracellular domain of desmoglein 3 in patients with pemphigus vulgaris. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021; 171 (4): 475-9. DOI: 10.1007/s10517-021-05254-9.