

УДК 57.083.3

# Новый твердофазный иммуносорбент для селективного связывания аутоантител к десмоглеину 3 типа у больных вульгарной пузырчаткой

Т. В. Абрамова\*, М. В. Шпилевая, А. А. Кубанов

Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 107076 Россия

\*E-mail: abramova@cnikvi.ru

Поступила в редакцию 06.03.2020

Принята к печати 06.05.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.10893

**РЕФЕРАТ** Вульгарная пузырчатка – тяжелый аутоиммунный дерматоз, в развитии которого патогенетически значимую роль играют IgG-антитела к структурным компонентам десмосом – десмоглеинам 3 и 1 типов. Базисными препаратами, используемыми в терапии пузырчатки, являются системные глюкокортикостероиды, длительное применение которых приводит к развитию тяжелых осложнений. При стероидорезистентных, тяжелых формах пузырчатки используются адьювантные, в том числе экстракорпоральные, методы терапии. Наиболее эффективным и безопасным из методов экстракорпоральной терапии считается иммуносорбция, основанная на удалении аутоантител из крови больных с помощью иммуносорбентов. Существующие в настоящее время иммуносорбенты не обладают селективностью, их использование увеличивает риск развития инфекционных заболеваний, в связи с чем актуальным представляется создание сорбентов, селективно элиминирующих антитела к десмоглеину 3 типа (Dsg3) из сыворотки крови пациентов с пузырчаткой. Для селективного удаления аутоантител из сыворотки крови больных вульгарной пузырчаткой нами разработан иммуносорбент на основе агарозной матрицы Affigel 15 и рекомбинантного десмоглеина 3 типа человека в качестве лиганда. В экспериментах *in vivo* (на мышах линии Balb/c, в качестве модели пузырчатки) и *in vitro* показано, что созданный иммуносорбент способен направленно элиминировать аутоантитела класса G к десмоглеину 3 типа. Полученные результаты позволяют заключить, что синтезированный селективный иммуносорбент Affigel 15–Dsg3 обладает совокупностью свойств, предопределяющих перспективность разработки твердофазных матриц и их применения в терапии больных вульгарной пузырчаткой.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** аутоантитела, акантолиз, десмоглеин, пузырчатка, лечение, иммуносорбенты.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** ИФА – иммуноферментный анализ; Dsg3 – десмоглеин 3 типа; IgG – иммуноглобулин класса G; Affigel 15 – гель для аффинной хроматографии; ГКС – глюкокортикостероидные препараты; нРИФ – реакция непрямой иммунофлуоресценции; КЛСМ – конфокальная лазерная сканирующая микроскопия.

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время известно несколько десятков аутоиммунных заболеваний, в патогенезе которых ведущая роль принадлежит реакции иммунной системы к собственным антигенам. Одно из тяжелых аутоиммунных буллезных заболеваний – пузырчатка, характеризуется поражением кожи и/или слизистых оболочек. Основными антигенами аутоагрессии при пузырчатке являются трансмембранные гликопротеины десмосом – десмоглеины 3 и 1 типов (Dsg3 и Dsg1) [1–3]. У больных пузырчаткой вырабатываются аутоантитела – иммуноглобулины

класса G (IgG), обладающие высокой тканевой специфичностью и аффинностью к соответствующим им антигенам. Присоединение гуморальных аутоантител к внеклеточному домену белков клеточной адгезии приводит к их повреждению протеолитическими ферментами и нарушению взаимосвязи между расположенными рядом клетками эпителия – акантолизу [4, 5]. Различают разные клинические формы пузырчатки: вульгарную и листовидную [6–8]. У 80–100% больных вульгарной пузырчаткой в сыворотке крови выявляются аутоантитела к Dsg3 [9, 10], появление которых считается ключевым фактором,

способствующим развитию клинического фенотипа вульгарной пузырчатки [11].

Лечение пузырчатки направлено на подавление синтеза и элиминацию аутоантител к белкам кератиноцитов. Базисными препаратами при пузырчатке являются системные глюкокортикостероиды, длительное использование которых может привести к развитию тяжелых осложнений, отягчающих состояние больных и ухудшающих прогноз заболевания [12, 13]. Актуальными остаются вопросы терапии при тяжелых и стероидорезистентных формах заболевания. С целью снижения высоких доз системных ГКС назначают адъювантную терапию (цитостатики, экстракорпоральные методы). Различные комбинированные методики, в первую очередь сочетание глюкокортикостероидных препаратов и цитостатиков, позволяют несколько снизить курсовую дозу гормональных средств, однако количество осложнений продолжает оставаться высоким, к тому же иммуносупрессивные препараты усугубляют уже имеющееся иммунодефицитное состояние больных [7, 8, 14, 15].

В последние десятилетия при пузырчатке применяют экстракорпоральные методы терапии, такие, как гемосорбция, плазмаферез, иммуносорбция. Для проведения иммуносорбции используют три вида сорбентов: неселективные, с низкой и с высокой степенью селективности. Неселективные сорбенты (декстрансульфат, триптофан, фенилаланинсодержащие и др.) способны сорбировать такие компоненты плазмы крови, как фибриноген, альбумин, липиды, иммуноглобулины. Сорбенты с низкой селективностью (с иммобилизованным стафилококковым белком А) имеют сродство к определенной фракции белков плазмы. Однако использование неселективных и малоселективных иммуносорбентов приводит к элиминации не только патогенетически значимых аутоантител, но и иных иммуноглобулинов и иммунных комплексов, необходимых для полноценного функционирования иммунной системы, что ограничивает их применение [16–21].

К наиболее эффективным и безопасным методам лечения аутоиммунных заболеваний относится экстракорпоральный метод с использованием специфических иммуносорбентов, обладающих высокой степенью селективности, которые извлекают только определенные белки без изменения концентрации других компонентов плазмы пациента [21].

Цель настоящего исследования – получение твердофазного иммуносорбента, обеспечивающего направленную элиминацию антител к десмоглеину 3 типа из сыворотки крови больных вульгарной пузырчаткой, и оценка эффективности этого сорбента.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Пациенты

Образцы периферической крови получены от 22 больных вульгарной пузырчаткой (основная группа) с активностью 200 и более RU/мл и от 14 здоровых лиц (контрольная группа). Диагноз пузырчатки устанавливали на основании клинического осмотра, результатов лабораторных исследований (цитологического, патоморфологического, иммуногистохимического – реакции непрямой иммунофлуоресценции (ИРИФ) с использованием *ex vivo* конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ)). Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании, работа проведена с соблюдением действующих правовых и этических норм.

### Иммуноферментный анализ для определения антител к десмоглеину 3 типа

Уровень антител к десмоглеину 3 типа в сыворотке крови больных вульгарной пузырчаткой и здоровых лиц определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем Anti-Desmoglein 3 ELISA (IgG) (Euroimmun, Канада). Активность определяли в условных единицах relative units в 1 мл сыворотки (RU/мл).

### Выделение антител класса IgG

Антитела класса IgG выделяли из пула сывороток крови больных пузырчаткой и здоровых лиц методом аффинной хроматографии на белок G-Сефарозе («Биалекса», Россия). Степень чистоты белков оценивали методом денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле [22]. Иммуноглобулины диализовали против фосфатного буферного раствора pH 7.3 и концентрировали ультрацентрифугированием в фильтрах Amicon (Millipore, Франция). Активность антител к Dsg3 определяли в тест-системе Anti-Desmoglein 3 ELISA (IgG). Концентрацию IgG измеряли с использованием набора IgG общий-ИФА-БЕСТ («Вектор-Бест», Россия). Выделенные белки хранили при -20°C.

### Получение аффинного сорбента для связывания антител к Dsg3

Аффинный сорбент создан на основе агарозной матрицы Affigel 15 (Bio-Rad, США) и рекомбинантного Dsg3 человека, полученного в культуре клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [23] (MyBiosource, США).

Dsg3 иммобилизовали на матрице Affigel 15 в соответствии с методикой производителя геля [24]. Процесс связывания белка с матрицей контролировали с помощью электрофореза в денатурирующих

условиях. Оставшиеся свободными эфирные группы Affigel 15 блокировали, добавляя 0.1 мл 1 М этаноламин-HCl (pH 8.0) на 1 мл геля.

Процесс сорбции контролировали с использованием матрицы Affigel 15, обработанной сходным образом, но без добавления Dsg3.

### Оценка адсорбционной емкости

В пробирку типа «Эппендорф», содержащую 20 мкл ( $V_c$ ) сорбента, уравновешенного буфером нанесения (20 мМ фосфатно-солевого буфера pH 7.4), добавляли 100 мкл ( $V_{IgG}$ ) фракции IgG из сыворотки крови больных пузырьчаткой с известной активностью ( $C_0$ ). Суспензию инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре и перемешивании (2 об/мин) с последующим осаждением сорбента центрифугированием (3000 об/мин, 1 мин). В супернатанте методом ИФА определяли активность материала после сорбции ( $C_p$ ). Емкость носителя ( $A$ ) рассчитывали по формуле:

$$A = (C_0 - C_p) \times V_{IgG} / V_c \quad (1)$$

### Регенерация сорбента

После каждой процедуры иммуноадсорбции сорбент регенерировали 0.05 М раствором глицинового буфера (pH 2.5). К 20 мкл сорбента добавляли 100 мкл буфера и инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре и перемешивании со скоростью 4 об/мин с последующим осаждением сорбента центрифугированием – 3000 об/мин, 1 мин. Глициновый буфер отмывали трижды буфером нанесения – 20 мМ фосфатно-солевым буфером (pH 7.4).

### Изучение стабильности сорбента в процессе регенерации

Исследовали влияние регенерации на сорбционные свойства иммуносорбента Affigel 15–Dsg3. 100 мкл сыворотки крови больного пузырьчаткой с активностью 200 RU/мл добавляли к 20 мкл сорбента. Суспензии инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре и перемешивании со скоростью 2 об/мин, осаждали центрифугированием (3000 об/мин, 1 мин), супернатант удаляли, регенерировали по описанной методике, затем вносили свежую порцию сыворотки. Процесс повторяли 12 раз, определяя после каждого раза остаточную активность сыворотки в супернатанте.

### Препараты для введения лабораторным животным

Для индукции пузырьчатки у лабораторных животных *in vivo* применяли IgG, выделенный из пула сывороток больных вульгарной пузырьчаткой с активностью антител к Dsg3, равной 12000 RU/мл.

Для предотвращения патогенного эффекта антидесмоглеиновых антител *in vivo* 1 мл IgG с активностью 12000 RU/мл адсорбировали на 500 мкл синтезированного иммуносорбента (30 мин при комнатной температуре и перемешивании, 2 об/мин) с последующим осаждением сорбента центрифугированием (3000 об/мин, 1 мин). В супернатанте определяли активность препарата после сорбции.

Животным контрольной группы вводили IgG, выделенный из пула сывороток крови здоровых лиц, а также стерильный фосфатно-солевой буферный раствор pH 7.3.

Перед введением лабораторным животным все растворы IgG стерилизовали фильтрацией через фильтры Millex (Merck Millipore, США) с размером пор 0.22 мкм.

### Эксперименты на лабораторных животных

Эксперименты проводили в лаборатории биологических испытаний Филиала Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук – питомнике лабораторных животных «Пушино» (Россия, Пушино). Питомник имеет международную аккредитацию AAALACi. Система управления качеством производства лабораторных животных в Питомнике сертифицирована на соответствие международным требованиям ИСО 9001:2008. Все исследования на животных выполняли согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», ГОСТ 53434–2009 Принципы надлежащей лабораторной практики (актуализация 01.03.2018 г.), Постановление локального этического комитета по вопросам биомедицинских исследований Филиала ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (№ 137/17 от 27.12.2017 г.).

Принимая во внимание сходный характер распределения десмоглеинов – основных антигенов при пузырьчатке у неонатальных мышшей и человека [25], для создания экспериментальной модели и последующей оценки эффективности сорбции аутоантител к Dsg3 *in vivo* были выбраны неонатальные самцы мышшей инбредной линии BALB/c в возрасте до 24 ч от рождения со статусом SPF (specified pathogen free).

В серии экспериментов проводили: клиническое наблюдение с определением эрозий и/или пузырей на кожных покровах мышшей; получали аутопсийный материал (биопаты кожи) мышшей для последующего морфологического (выявление акантолиза) и иммуногистохимического (определение фиксированных IgG в коже) исследования.

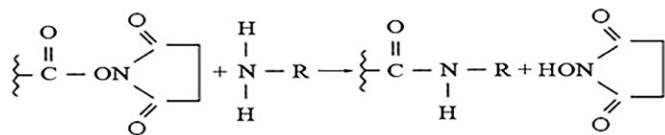


Рис. 1. Схематическое изображение связи Affigel 15 с первичной аминогруппой белка

### Морфологическое исследование

При морфологическом исследовании срезы биоптатов кожи толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином в устройстве Leica Autostainer XL ST5010 (Германия). Полученные гистологические препараты изучали с помощью светового микроскопа Leica DM4000B (Германия).

### Иммуногистохимическое исследование

Для проведения иммуногистохимического исследования (реакции непрямой иммунофлуоресценции, нРИФ) на срезы наносили первичные антитела – кроличьи поликлональные антитела к IgG человека (Rabbit polyclonal antibodies) (Cell Marque antibody, США), инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре, после чего срезы промывали (3 раза по 5 мин) в растворе фосфатно-солевого буфера с добавлением Tween-20. На следующем этапе наносили вторичные антитела – антитела козы против IgG кролика (Goat anti-Rabbit) (Epitomics, США), меченные флуорохромом (Alexa Fluor 488), инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре, отмывали, как описано выше, подсушивали и заключали под покровное стекло в среду, содержащую нуклеотидспецифичный флуорохром DAPI (4,6-диамино-2-фенилиндола) (Alexa Fluor 405).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Выделение IgG

Описанными методами получены две фракции IgG: из пула сывороток крови больных пузырчаткой с активностью 15000 RU/мл и из пула сывороток крови здоровых лиц с активностью менее 10 RU/мл. Концентрация IgG в обеих фракциях составляла 140 мг/мл.

### Получение и оценка эффективности аффинного сорбента для удаления антител к Dsg3

Affigel 15 – агарозный и полиакриламидный гель, 15-членные гидрофильные спейсеры которого модифицированы присоединением N-оксисукцинимидов, представляет собой комплементарную аффинную среду для быстрого, высокоэффективного связывания с лигандами, имеющими первичные аминогруппы (рис. 1).

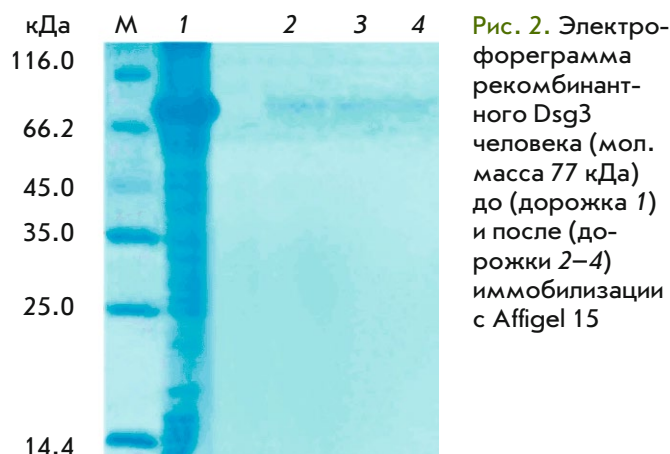


Рис. 2. Электрофореграмма рекомбинантного Dsg3 человека (молекулярная масса 77 кДа) до (дорожка 1) и после (дорожки 2–4) иммобилизации с Affigel 15

Affigel 15 образует стабильную амидную связь с первичными аминогруппами белков, изоэлектрическая точка которых  $pI \leq 6.5$ . Одним из таких белков является рекомбинантный десмоглеин 3 типа человека (Dsg3), у которого  $pI = 5.7$ . Иммобилизация Dsg3 на аффинном носителе осуществляется через первичные аминогруппы белка.

Процесс иммобилизации Dsg3 контролировали методом электрофореза по разнице между добавленным количеством белка и количеством остаточного белка в первых трех объемах смыва буфера с сорбента после процедуры иммобилизации (рис. 2).

Присутствие следов Dsg3 в буфере смыва свидетельствует о связывании основного количества белка с агарозной матрицей.

Таким образом, создан иммуносорбент на основе агарозной матрицы и рекомбинантного Dsg3 человека в качестве лиганда для селективного удаления аутоантител из сыворотки крови больных вульгарной пузырчаткой [26].

### Оценка адсорбционной емкости

Для определения емкости синтезированного аффинного сорбента и немодифицированной матрицы Affigel 15 по отношению к антидесмоглеиновым IgG, а также для построения экспериментальной изотермы адсорбции провели серию исследований методом аффинной хроматографии восьми индивидуальных сывороток крови больных пузырчаткой со стартовой активностью антител к Dsg3 в интервале 40–1100 RU/мл с последующим определением адсорбционной емкости по формуле (1) (табл. 1)

На основании экспериментально полученной изотермы сорбции, отражающей зависимость адсорбции от равновесной активности сыворотки, показано, что сорбционная емкость селективного иммуносорбента составляет 3500 RU/мл и значительно превышает сорбционную емкость немодифицированной матрицы Affigel 15, равную 400–450 RU/мл (рис. 3).



**Таблица 1.** Экспериментальные значения изотермы сорбции антидесмоглеинового IgG из пула сывороток крови больных пузырчаткой на иммуносорбенте Affigel 15–Dsg3 и на немодифицированной матрице

Начальная активность сыворотки $C_0$ , RU/мл	Affigel 15–Dsg3		Affigel 15	
	равновесная активность $C_p$ , RU/мл	адсорбционная емкость $A$ , RU/мл	равновесная активность $C_p$ , RU/мл	адсорбционная емкость $A$ , RU/мл
40	20	100	100	50
120	20	500	500	350
320	40	1400	1400	400
400	40	1800	1800	400
480	80	2000	2000	375
800	100	3500	3500	450
1000	300	3500	4000	400
1100	400	3500	3500	425

Таким образом, экспериментально показана высокая сорбционная емкость полученного иммуносорбента для связывания аутоантител к Dsg3 человека из сыворотки крови больных вульгарной пузырчаткой.

**Изучение стабильности сорбента в процессе регенерации**

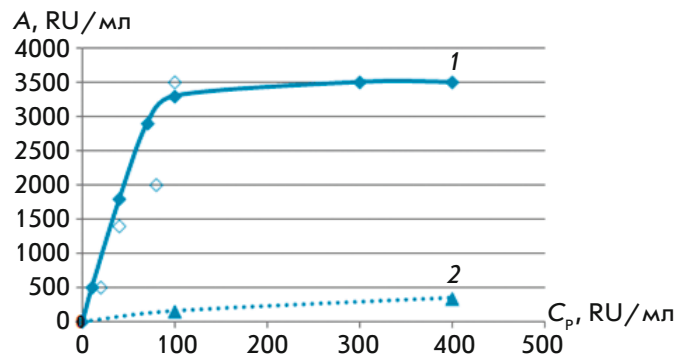
Проведено 12 циклов хроматографии сыворотки крови больного пузырчаткой с активностью 200 RU/мл с промежуточной регенерацией. Проведение первых шести циклов не выявило изменения сорбционных характеристик синтезированного иммуносорбента. В течение последующих шести циклов наблюдалось снижение сорбционной способности с первоначальных 60 до 40% (рис. 4).

Таким образом, экспериментально показана стабильность синтезированного иммуносорбента и его пригодность для многократного использования.

**Оценка эффективности селективного иммуносорбента *in vivo***

Для определения эффективности иммуноадсорбции сравнивали развитие симптомов пузырчатки у лабораторных животных, которым вводили фракции IgG из пула сывороток крови больных (активность антител к Dsg3 12000 RU/мл) и этот же препарат после хроматографии на синтезированном иммуносорбенте. Остаточная активность после хроматографии составила 2600 RU/мл. В экспериментах *in vivo* использовали следующие препараты: № 1 – IgG с активностью 15000 RU/мл; № 2 – IgG с активностью 2600 RU/мл после взаимодействия с иммуносорбентом; № 3 – IgG, выделенный из пула сывороток крови здоровых лиц [27, 28].

Указанные препараты вводили четырем группам мышей (по 10 особей в каждой) интраперитонеально двукратно по 30 мкл с интервалом 24 ч: группа


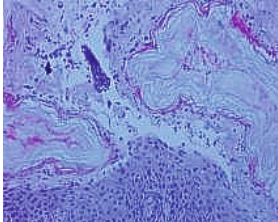
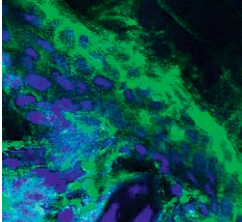

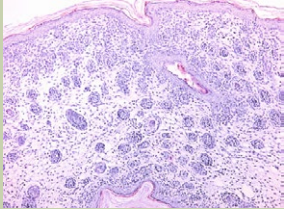
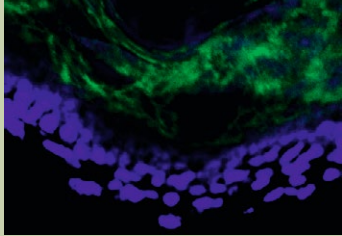


**Рис. 3.** Изотермы сорбции антидесмоглеинового IgG из пула сывороток крови больных пузырчаткой на иммуносорбенте Affigel 15–Dsg3 (1) и на немодифицированной матрице Affigel 15 (2)



**Рис. 4.** Изменение сорбционной активности иммуносорбента Affigel 15–Dsg3 в течение 12 циклов хроматографии с промежуточной регенерацией

Таблица 2. Оценка выраженности признаков пузырчатки у экспериментальных животных

Метод исследования/ группа	Клиническая картина	Морфологическое исследование	Иммуногистохимическое исследование (ИРИФ)
А	 Эрозии в абдоминальной области.	 Супраэпидермальный акантолиз (окраска гематоксилин-эозином, ×200).	 Фиксация IgG в межклеточных промежутках эпидермиса (×20).
Б	 Отсутствие высыпаний на кожных покровах.	 Эпидермис без изменений с хорошо выраженными слоями, признаков акантолиза не наблюдается. Дерма не изменена, отмечаются слабые признаки воспаления, представленные скудной лимфоцитарной инфильтрацией в глубоких отделах дермы (окраска гематоксилин-эозином, ×200).	 Четкой фиксации депозитов IgG в эпидермисе не отмечается. Выявляется незначительная диффузная инфильтрация IgG в верхних отделах дермы (×20).

А – препарат № 1; группа Б – препарат № 2; группа В – препарат № 3; группа Г – стерильный фосфатно-солевой буферный раствор. Группы В и Г рассматривали как контрольные.

Развитие симптомов пузырчатки (клинические, морфологические, иммуногистохимические) во всех группах животных оценивали в течение 48 ч после последней инъекции.

У мышей группы А после инъекций препарата № 1 наблюдались единичные эрозии в абдоминальной области, положительный симптом Никольского. При морфологическом исследовании аутопсийного материала кожи мышей выявлялся патогномичный признак пузырчатки – супрабазальный акантолиз. При иммуногистохимическом исследовании криосрезов кожи мышей данной группы обнаружена выраженная фиксация IgG в межклеточных промежутках эпидермиса на большем его протяжении с формированием четкой структуры «сетки» (средняя интенсивность свечения IgG составляла 1008.6 усл. ед.) (табл. 2).

У мышей группы Б введение препарата № 2, полученного от больных пузырчаткой, после взаимодействия с иммуносорбентом Affigel 15–Dsg3, не приводило к появлению клинических и морфологических

признаков пузырчатки. При исследовании аутопсийного материала мышей методом ИРИФ наблюдалась диффузная фиксация IgG в межклеточных промежутках надбазальных слоев эпидермиса без формирования четкой структуры «сетки» (интенсивность свечения – 380.5 усл. ед.) (табл. 2).

В контрольных группах лабораторных животных (В, Г) клинические, морфологические признаки пузырчатки не определялись. Проведение иммуногистохимического исследования аутопсийного материала мышей не выявило фиксации IgG в эпидермисе.

Таким образом, в экспериментах *in vivo* подтверждена эффективность использования селективного иммуносорбента Affigel 15–Dsg3 для снижения активности аутоантител в сыворотках крови больных пузырчаткой. Применение иммуносорбента приводило к уменьшению содержания антител к Dsg3 в образцах сывороток крови больных пузырчаткой и предотвращало развитие клинических, патоморфологических, иммуногистохимических признаков заболевания у лабораторных животных.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе агарозной матрицы Affigel 15 и рекомбинантного Dsg3 человека в качестве лиганда синтези-

рован иммуносорбент Affigel 15–Dsg3, позволяющий селективно удалять антитела (IgG) к структурному компоненту десмосом – десмоглеину 3 типа, играющему патогенетическую роль в развитии вульгарной пузырчатки. Сорбционная емкость полученного иммуносорбента составляет 3500 RU/мл при емкости немодифицированной матрицы Affigel 15, не превышающей 450 RU/мл. Созданный иммуносорбент характеризуется стабильностью, что делает его пригодным для многократного использования. Клиническая эффективность сорбента подтверждена в экспериментах *in vivo*: аутореактивные антитела к десмоглеину 3 типа после хроматографии на Affigel 15–Dsg3 теряют способность индуцировать

клинические, морфологические и иммуногистохимические признаки пузырчатки у лабораторных животных. Таким образом, синтезированный селективный иммуносорбент Affigel 15–Dsg3 обладает совокупностью свойств, делающих его перспективным для разработки твердофазных матриц, применяемых в терапии больных вульгарной пузырчаткой. ●

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (Соглашение о субсидии № 075-15-2019-1942 от 24.12.2019, уникальный идентификатор проекта RFMEF160719X0325).*

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Amagai M. // J. Dermatol. Sci. 1999. V. 20. № 2. P. 92–102.
- Махнева Н.В., Белецкая Л.В. // Вестник дерматологии и венерологии. 2009. № 2. С. 25–38.
- Garrod D.R., Merritt A.J., Nie Z. // Curr. Opin. Cell. Biol. 2002. V. 14. P. 537–545.
- Матушевская Е.В., Кубанова А.А., Самсонов В.А. // Вестник дерматологии и венерологии. 1995. № 5. С. 28–33.
- Grando S.A. // Autoimmunity. 2012. V. 45. № 1. P. 7–35.
- Самцов А.В., Белоусова И.Э. Буллезные дерматозы: Монография. СПб.: ООО «Издательско-полиграфическая компания «Коста», 2012. 144 с.
- Joly P., Bernard P., Bedane C., Prost C., Ingen-Housz-Oro S. // Ann. Dermatol. Venereol. 2011. V. 138. № 3. P. 252–258.
- Hertl M., Jedlickova H., Karpati S., Marinovic B., Uzun S., Yayli S., Mimouni D., Borradori L., Feliciani C., Ioannides D., et al. // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2015. V. 29. № 3. P. 405–414.
- Кубанов А.А., Знаменская Л.Ф., Абрамова Т.В., Свищенко С.И. // Вестник дерматологии и венерологии. 2014. № 6. С. 121–130.
- Cozzani E., Di Zenzo G., Riva S., Calabresi V., Sera F., Drosera M., Parodi A. // Eur. J. Dermatol. 2013. V. 23. № 1. P. 40–48.
- Amagai M., Hashimoto T., Shimizu N., Nishikawa T. // J. Clin. Invest. 1994. V. 94. P. 59–67.
- Решетникова Т.Б., Лыкова С.Г., Спицына А.В., Макарова Я.Ю. // Сибирский мед. журн. 2004. № 4. С. 13–17.
- Уфимцева М.А., Бочкарев Ю.М., Гурковская Е.П., Пухтинская П.С., Николаева К.И., Лесная О.Д. // Вестник дерматологии и венерологии. 2016. № 3. С. 56–61.
- Кубанов А.А., Абрамова Т.В. // Вестник дерматологии и венерологии. 2014. № 4. С. 19–27.
- Теплюк Н.П., Лепехова А.А. // Рос. журн. кожных и венерических болезней. 2014. № 2. С. 13–16.
- Гребенников В.А., Белявский А.Д., Каминский М.Ю. // Вестник дерматологии. 1990. № 5. С. 33–38.
- Грандо С.А., Глухенький Б.Т., Романенко А.Б. // Вестник дерматологии и венерологии. 1988. № 7. С. 6–11.
- Lüftl M., Stauber A., Mainka A., Klingel R., Schuler G., Hertl M. // Br. J. Dermatol. 2003. V. 149. № 3. P. 598–605.
- Schmidt E., Klinker E., Opitz A., Herzog S., Sitaru C., Goebeler M., Mansouri Taleghoni B., Bröcker E.B., Zillikens D. // Br. J. Dermatol. 2003. V. 148. P. 1222–1229.
- Eming R., Hertl M. // Autoimmunity. 2006. V. 39. № 7. P. 609–616.
- Keller F., Wagner K., Faber U., Scholle J., Neumayer H.H., Maiga M., Schultze G., Offermann G., Molzahn M. // Klin. Wochenschr. 1983. V. 61. № 22. P. 1115–1122.
- Laemmli U.K. // Nature. 1970. V. 227. P. 680–685.
- Kelermann S., Leistler B., Haubruck H., Liedvogel B. // Immunologia. 1998. № 17. P. 37–59.
- <https://www.bio-rad.com/ru-ru/product/affi-gel-10-affigel-15-resins?ID=0c33dfad-5e63-4b20-ad44-1f393ef94f29>
- Wu H., Wang Z.H., Yan A., Lyle S., Fakharzadeh S., Wahl J.K., Wheelock M.J., Ishikawa H., Uitto J., Amagai M., et al. // N. Engl. J. Med. 2000. V. 343. № 1. P. 31–35.
- Кубанова А.А., Кубанов А.А., Карамова А.Э., Абрамова Т.В. Пат. на изобретение № 2622005 от 08.06.2017 Российская Федерация, МПК G01N 33/53 (2006.01). Способ получения селективного иммуносорбента для удаления антител-IgG к десмоглеину 3 типа из сыворотки крови больных пузырчаткой / заявл. 2015150126 от 24.11.2015; опублик. 29.05.2017. Бюл. № 16; приоритет 24.11.2015. – 16 с.; ил.
- Кубанов А.А., Карамова А.Э., Рог К.В., Абрамова Т.В., Смольяникова В.А., Мурашев А.Н., Бондаренко Д.А. // Вестник дерматологии и венерологии. 2015. № 4. С. 76–83.
- Кубанова А.А., Кубанов А.А., Карамова А.Э., Абрамова Т.В. Пат. на изобретение № 2613718 от 21.03.2017 Российская Федерация, МПК G09B 23/28 (2006.01). Способ моделирования пузырчатки у мышей методом введения иммуноглобулинов класса G / заявл. 2015150125 от 24.11.2015; опублик. 21.03.2017. Бюл. № 9; приоритет 24.11.2015. – 11 с.; ил.