



Рахматов А.Б. ✉, Рахматуллаева С.Н., Абдуллаходжаев К.А.
Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр
дерматовенерологии и косметологии Министерства здравоохранения
Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

К вопросу использования биологических препаратов у пациентов с вульгарной пузырчаткой

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: все авторы внесли существенный вклад в создание статьи.

Подана: 23.11.2023

Принята: 15.12.2023

Контакты: doctor.rakhmatov53@gmail.com

Резюме

При лечении пациентов с вульгарной пузырчаткой использован генно-инженерный биологический препарат ритуксимаб, который позволил повысить терапевтическую эффективность наряду с уменьшением побочных явлений системной кортикостероидной терапии.

Ключевые слова: пузырчатка, диагностика, лечение, биологические препараты

Rahmatov A. ✉, Rahmatullaeva S., Abdulakhadzaev K.
Republican Specialized Scientific-Practical Medical Center of Dermatovenereology
and Cosmetology of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Tashkent,
Uzbekistan

To the Issue of Biological Preparations Using in Patients with Vulgar Pemphigus

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: all authors made significant contributions to the creation of the article.

Submitted: 23.11.2023

Accepted: 15.12.2023

Contacts: doctor.rakhmatov53@gmail.com

Abstract

In the treatment of patients with vulgar pemphigus, a genetically engineered biological drug, rituximab, was used, which allowed to increase therapeutic effectiveness while reducing the side effects of systemic corticosteroid therapy.

Keywords: pemphigus, diagnosis, treatment, biological preparations

■ ВВЕДЕНИЕ

Пузырчатка относится к группе редких и тяжелых аутоиммунных пузырных заболеваний, обусловленных воздействием патогенных аутоантител (класс IgG) на основные десмосомные белки (Dsg1 и Dsg3), которые находятся в коже и слизистых оболочках [1–3, 7, 19, 25]. Указанные антитела направлены против различных белков десмосом, на поверхности которых они прикрепляются, нарушая межклеточную адгезию, и следствием этого является акантолиз (образование пузырей).

Необходимо отметить, что пузырчатка известна еще со времен Гиппократы и создает для дерматологов множество проблем, связанных как с диагностикой, так и с лечением. Заболеваемость пузырчаткой колеблется в пределах от 0,05 до 1,5 на 100 000 населения в год, возникает заболевание в большинстве случаев у людей трудоспособного возраста. Внедрение в терапию пузырчатки системных кортикостероидных препаратов позволило снизить смертность с 90% до 10%. Только необходимо помнить, что длительное использование стероидов приводит к тяжелым побочным явлениям [4, 9, 12].

В основе патогенеза лежит образование повреждающих аутоантител класса IgG к там называемому антигену пузырчатки, который располагается на десмосомах и выполняет основную роль в формировании межклеточных связей между клетками шиповидного слоя. Существует так называемый десмосомальный комплекс, включающий в себя различные белки (десмоглеины, десмоколлины, плакоглобины и др.), который обеспечивает межклеточную адгезию кератиноцитов [18]. Цитоплазматические десмосомы состоят их плакоглобина, плакофиллина и десмоплакина. Цитоплазматические домены кадгерина взаимодействуют с плакоглобином, который связывает промежуточные кератиновые филаменты с десмосомами через десмоплакин. В настоящее время выделены гены трех десмоглеинов и трех десмоколлинов. Десмоглеин-1 обнаруживается преимущественно в верхних отделах эпидермиса и является антигеном-мишенью для листовидной пузырчатки. Десмоглеин-3 располагается преимущественно на кератиноцитах шиповидного слоя эпидермиса и эпителия слизистых оболочек, причем является антигеном-мишенью при вульгарной пузырчатке. При вульгарной и вегетирующей пузырчатке аутоантитела IgG связываются с десмоглеином-3, что приводит к развитию надбазального акантолиза, а при листовидной и себорейной, связанных с десмоглеином-1, акантолиз развивается на уровне зернистого слоя эпидермиса. Следствием акантолиза является образование полостей внутри эпидермиса, в которые проникает тканевая жидкость. Антитела класса IgG у пациентов с пузырчаткой выявляются в участках непораженной кожи методом прямой иммунофлуоресценции, а в сыворотке крови – методом непрямой иммунофлуоресценции [6, 11, 17, 21].

На сегодняшний день существует общепринятая клиническая классификация пузырчатки, которую используют дерматологи в своей клинической практике.

Клиническая классификация пузырчатки:

- пузырчатка вульгарная (обыкновенная);
- пузырчатка вегетирующая (тип Ноймана, тип Аллопо);
- пузырчатка листовидная (бразильская, герпетическая, эритематозная);
- пузырчатка паранеопластическая;
- пузырчатка, вызванная лекарственными средствами;
- субкорнеальный пустулез;
- внутриэпидермальный нейтрофильный дерматоз.

Критерии Mahajan
Mahajan criteria

Степень тяжести	Поражение кожи	Поражение СОПР
Легкая	Поражение 10% поверхности тела (или только СОПР)	Поражение только слизистой щек. Жевание и глотание не затруднены
Средняя	Поражение 10–25% поверхности тела с поражением СОПР	Поражена слизистая щек, десен, губ. Затруднен прием твердой пищи
Тяжелая	Поражение 25–50% поверхности тела с поражением СОПР	Обширные поражения СОПР. Затруднен прием полутвердой пищи
Очень тяжелая	Поражение более 50% поверхности тела с поражением СОПР	Обширное поражение СОПР и поражение слизистых оболочек других локализаций

Для определения тяжести патологического процесса при пузырчатке используются критерии Mahajan [17] (см. таблицу).

Вульгарная пузырчатка (ВП) является наиболее часто встречающейся формой пузырчатки с поражением слизистой оболочки полости рта (СОПР) в 80–90% случаев. При ВП, как правило, на коже появляются пузыри с вялой покрывкой, прозрачным или мутным содержимым. Кожные высыпания сопровождаются болезненными ощущениями и в редких случаях зудом кожи. В последующем на месте пузырей образуются обширные эрозии ярко-красного цвета без склонности к эпителизации. Характерным симптомом у пациентов с ВП является распространение эрозий на внешне не измененную кожу при потягивании остатков покрывки пузыря или при потирании периферической части активных очагов, а также эрозии могут возникать на внешне не измененной коже вдали от активных очагов в результате механического давления (варианты симптома Никольского). Если на коже имеется пузырь с сохранной покрывкой, то при надавливании пальцем на его центральную часть элемент будет расширяться по периферии за счет акантолиза (симптом Асбэ-Хансона). У некоторых пациентов выявляется симптом «груши», когда содержимое пузыря оттягивает последний и образуется определенная форма элемента. У пациентов с ВП чаще поражается СОПР, когда появляются пузыри, которые моментально вскрываются за счет постоянного механического воздействия, и формируются ярко-красные эрозии, по периферии которых обнаруживаются обрывки покрывки или толстые («сальные») пленки, которые легко снимаются, обнажая эрозивную поверхность. При генерализации процесса усиливается болезненность эрозий, которые сливаются между собой. На красной кайме губ эрозии, как правило, покрываются желтовато-бурыми или геморрагическими корками.

Диагноз устанавливается на основании клинических проявлений и результатов лабораторных исследований. В качестве лабораторных методов применяют исследование на акантолитические клетки (мазок-отпечаток с поверхности эрозий), патоморфологические и иммуноморфологические исследования. Цитологическое исследование (проба Тцанка, мазок-отпечаток) используется в качестве экспресс-метода для выявления акантолитических клеток, которые характеризуются наличием обильной эозинофильной цитоплазмы и округлого центрально расположенного ядра. Патоморфологическое исследование пузырчатки позволяет выявить акантолиз, который сопровождается образованием внутриэпидермальных пузырей. Для вульгарной пузырчатки характерен морфологический симптом «надгробия» – базальные

кератиноциты, присутствующие на поверхности базальной мембраны, однако утратившие контакты между собой. Практически у всех пациентов с активной формой вульгарной пузырчатки выявляют положительную реакцию при проведении ПИФ, которая является качественной реакцией. Необходимо отметить, что забор биологического материала для проведения ПИФ следует проводить из участка внешне не измененной кожи вне очага поражения во избежание ложноположительных реакций [8]. В коже пациентов с вульгарной пузырчаткой фиксация антител к IgG наблюдается в межклеточных промежутках эпидермального пласта, реакции с антигенами к IgA и IgM – негативные. Такой тест может оставаться положительным в течение нескольких недель и месяцев после эпителизации патологических очагов, что позволяет применять его в случае, когда у пациентов отсутствуют высыпания, например, при лечении пациентов преднизолоном. На фоне лечения стероидами в коже пациентов развивается терапевтический патоморфоз, и при проведении реакции ПИФ фиксация IgG в межклеточных промежутках отсутствует. Для проведения иммуногистохимического исследования применяют парафиновые срезы, растянутые на полилизинных предметных стеклах, полученные из биоптатов кожи, фиксированных в формалине. Аналогично иммунофлуоресцентному исследованию фиксация антител IgG и C3 обнаруживается в межклеточных промежутках эпидермиса [2, 5, 7, 8, 21].

Исследование сыворотки крови методом непрямой иммунофлуоресценции заключается в обнаружении аутоантител класса IgG против молекул адгезии на поверхности кератиноцитов. Необходимо подчеркнуть, что в настоящее время комплекс диагностических мероприятий при ВП пополнен такими методами, как прижизненная конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, оптическая когерентная томография, ультразвуковое дерматосканирование [5].

К серологическим тестам, применяемым для диагностики пузырчатки, относятся иммуноферментный анализ (ИФА) и иммуноблоттинг. В отличие от иммунофлуоресцентного исследования, при котором используют антитела, меченные флюорохромами, при проведении ИФА используют антитела с ферментной меткой, что позволяет учитывать результат реакции антиген – антитело по появлению ферментативной активности или по изменению ее уровня. ИФА является чувствительным и специфичным методом, позволяющим выявлять IgG-анти-Dsg1 и анти-Dsg3-аутоантитела более чем у 90% пациентов с использованием рекомбинантных Dsg1 и Dsg3. Имеются указания о том, что уровень аутоантител к десмоглеинам коррелирует со степенью тяжести заболевания и может использоваться в качестве прогностического метода, а также для мониторинга активности заболевания [25]. ИФА проще в исполнении, чем иммунофлуоресцентный метод, а интерпретация результатов менее субъективна, так что он может заменить непрямую иммунофлуоресценцию в качестве предпочтительного первого диагностического теста при пузырчатке. Преимуществом ИФА над методом непрямой иммунофлуоресценции является возможность дифференцировать с их помощью вульгарную и листовидную пузырчатку благодаря различным профилям аутоантигенов при этих двух формах пузырчатки. Иммуноблоттинг представляет собой метод, определяющий присутствие антител в сыворотке крови к специфическим белкам, предварительно иммобилизированным на нитроцеллюлозной мембране [12].

Лечение пузырчатки основано на применении системных препаратов, которые должны назначаться как можно раньше для достижения терапевтического эффекта,

а затем следует проводить поддерживающую терапию. Иногда лечение занимает многие годы и может продолжаться пожизненно. Системные кортикостероидные средства (ГКС) являются основой лечения пузырчатки, так как обладают мощным противовоспалительным и иммуносупрессивным действием. Введение этих препаратов в 1950-х гг. сопровождалось снижением смертности с 75% до 20% [24].

Говоря о лечении пузырчатки, необходимо указать на пульс-терапию данного дерматоза, так как этот метод применяется исключительно в случаях невозможности применения общепринятых методов лечения ГКС, когда контроль над заболеванием у пациента, получающего преднизолон более 1 мг на 1 кг массы тела в сутки, не достигается. В этих случаях применяют метилпреднизолон (1 г в сутки внутривенно) и дексаметазон (300 мг в сутки внутривенно), оба препарата в течение трех последовательных дней. Преимущество пульс-терапии заключается в том, что она позволяет быстрее снизить дозу преднизолона, минимизируя побочные эффекты [22]. Наиболее значимыми из них являются артериальная гипертензия, сахарный диабет, кожные и системные инфекции, язвенная болезнь желудка, остеопороз, глаукома, катаракта и другие. Для сведения к минимуму побочных эффектов в настоящее время не рекомендуется превышать суточную дозу преднизолона 1,5 мг на кг массы тела, так как при более высоких дозах имеется риск развития сепсиса как основной причины смертности при данном дерматозе [14].

Помимо ГКС возможно назначение адъювантной терапии, что способствует уменьшению дозы либо преодолению резистентности к стероидным препаратам [9, 20].

Препаратом первой линии является ритуксимаб (мабтера) – химерное моноклональное антитело против CD20, которое истощает как нормальные, так и патогенные В-лимфоциты и используется в тяжелых и рефрактерных случаях пузырчатки [4, 13, 23]. После введения ритуксимаба наблюдается быстрое и устойчивое истощение циркулирующих и тканевых В-лимфоцитов, которое сохраняется в течение 6–12 месяцев. Проведенные исследования показали, что ритуксимаб приводит к полной и стойкой ремиссии у большинства пациентов с ВП в течение 3–4 месяцев [15, 26]. Ритуксимаб может назначаться пациентам, принимающим преднизолон и иммуносупрессивные препараты; снижение дозы и приостановка приема последних должны быть ускорены из-за повышенного риска присоединения инфекций [10]. Европейское общество дерматовенерологов в 2020 г. включило ритуксимаб в клинические рекомендации по ведению пациентов с вульгарной пузырчаткой в качестве терапии первой линии [16]. Влияние этих рекомендаций на результаты комбинированного лечения пациентов с вульгарной пузырчаткой с применением системных ГКС и ритуксимаба в отечественных работах ранее не изучалось.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка эффективности применения ритуксимаба у пациентов с вульгарной пузырчаткой.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находилось 6 пациентов (мужчин – 4, женщин – 2) в возрасте от 28 до 52 лет. Всем пациентам на основании клинических и лабораторных данных был выставлен диагноз вульгарной пузырчатки. Были проведены

гистологические и иммунофлуоресцентные исследования биоптата кожи. Количественный уровень цитокиновых молекул изучали в сыворотке крови пациентов с пузырчаткой с помощью ИФА тест-систем, с определением оптической плотности в сыворотке крови с помощью спектрофотометра «BioSan».

Клиническое наблюдение

Пациент У., 1967 года рождения, житель Ташкента, поступил в клинику РСНПМЦДВиК МЗ РУз 15 мая 2023 г. с жалобами на высыпания на коже волосистой части головы, лица, туловища, верхних и нижних конечностей, а также на слизистой полости рта. Субъективно: болезненность и чувство жжения в очагах поражений.

Anamnesis morbi. Считает себя больным в течение 6 месяцев, причем возникновение своего заболевания ни с чем не связывает. Высыпания начали появляться после прибытия из Саудовской Аравии (паломничество). По поводу своего заболевания наблюдался у частно практикующих врачей без заметного эффекта, что вынудило пациента обратиться в консультативную поликлинику РСНПМЦДВиК МЗ РУз. Пациент был проконсультирован специалистом, наряду с проведением специальных диагностических анализов (клетки Тцанка обнаружены в коже и СОПР), госпитализирован в отделение с диагнозом «вульгарная пузырчатка» (L10.0).

Status localis. Кожно-патологический процесс носит островоспалительный, распространенный и симметричный характер. Высыпания локализуются на коже волосистой части головы, лица, слизистой полости рта, носа, половых органов, туловища, верхних и нижних конечностей. Элементы поражения представлены везикулами и пузырями. На коже слизистой ротовой полости имеются эрозии красно-розового цвета с четкими границами, фестончатыми краями, размером от 2 мм до 1 см. На поверхности очагов имеется налет белого цвета. На коже волосистой части головы, лица, туловища пузырьные элементы вялые, легко вскрывающиеся, появляются на внешне здоровой коже, размеры эрозий от 4×5 см до размеров детской ладони, легко кровоточащие и покрытые серозно-геморрагическими корками. На поверхности эрозий в области носа и волосистой части лица имеются наслоения серозных корок. Симптомы «груши» и Никольского (во всех положениях) – положительные.

Проведенные лабораторно-инструментальные исследования и заключения смежных специалистов. Общий анализ крови: лимфоциты – 18,3% [19,0–37,0], моноциты – 14,8% [3,0–11,0]; концентрация С-реактивного белка – 20,5 мг/л [3,0–8,0]; ИФА на определение антител IgG к десмоглеину-1 – 21,0 нг/мл [12,0 нг/мл]; ИФА на определение антител IgG к десмоглеину-3 – 20,5 нг/мл [12,0 нг/мл]; ИФА-исследование на ANA IgG – ss-DNA – 36,9 пг/мл [25]; ИФА-исследование на IgG – ds-DNA – 32,1 МЕ/мл [25]; ИФА на общий IgE – 255 МЕ/мл (взрослые 0–100). В микологическом исследовании (ПИФ) из очагов поражения на гладкой коже груди обнаружены дрожжевые грибы.

Гистологическое исследование. Незначительный гиперкератоз, местами отслойка рогового слоя, неравномерный акантоз, чередующийся с участками уплощенного эпидермиса, акантолизис клеток шиповатого слоя с образованием внутриэпидермальных пузырей. В сосочковом слое дермы отмечается отек, коллагеновые волокна набухшие, вокруг сосудов определяются лимфогистиоцитарные инфильтраты с содержанием эозинофилов и нейтрофилов, придатки кожи сохранены. Заключение: подобная морфологическая картина соответствует диагнозу пузырчатки (рис. 1–3).

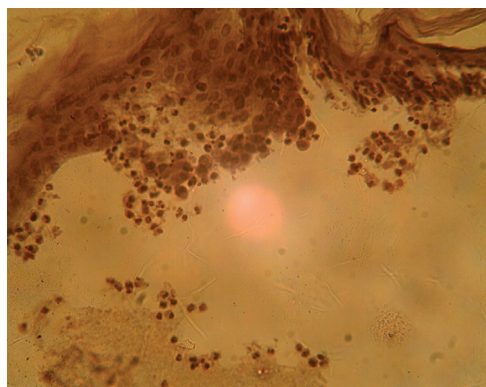


Рис. 1. Внутриэпидермальный пузырь с акантолитическими клетками (окраска гематоксилин-эозин, ув. 400)
Fig. 1. Intraepidermal bubble with acantholytic cells (haematoxylin-eosin staining, x400)



Рис. 2. Внутриэпидермальный пузырь с акантолитическими клетками (окраска гематоксилин-эозин, ув. 100)
Fig. 2. Intraepidermal bubble with acantholytic cells (haematoxylin-eosin staining, x100)

Консультация терапевта: гипертоническая болезнь, ожирение III степени, хронический гастрит, дефицит витамина D.

Проведенное в стационаре лечение:

- Sol Prednisoloni 1,0 ml 30 mg на вес 80 мг в день – 240 mg (7:00 – 120 мг, 4 амп.; 9:00 – 90 мг – 3 амп., 11:00 – 60 мг, 2 амп.) + Sol Natrii chloridi 0,9% 100 ml в/в ежедневно 3 раза в день № 40;
- Sol Fosfocin-Neo 4,0 gr + Sol Natrii chloride 0,9% 100 ml в/в № 7;
- Sol Reosorbilacti 200 ml в/в ежедневно № 30;
- Sol Panangini 10 ml + Sol Natrii chloride 0,9% 100 ml в/в капельно ежедневно № 30;
- Sol Acidi ascorbinici 5% 2,0 ml в/м ежедневно № 30;
- Sol Magnesium sulfatis 25% 5,0 ml в/м ежедневно № 20;
- Sol Mabthera (rituximab) 1000 mg в/в капельно медленно № 2;
- наружно: Ung Fatiderm-M, Ung Hydrotenei, Sprey Ocsicorti, Sol Methyleni coerulei на очаги, Cream Neodermi.

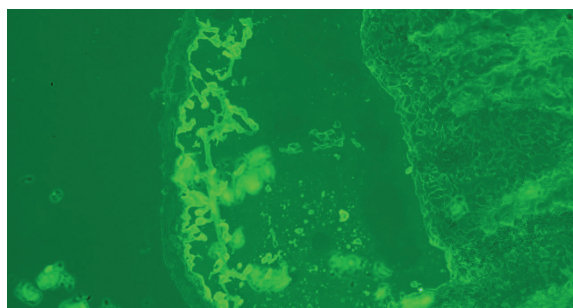


Рис. 3. Прямая иммунофлуоресценция очага с наличием свечения IgG на уровне шиповидного слоя эпидермиса (ув. 200)
Fig. 3. Direct immunofluorescence of a nidus with the presence of IgG luminescence at the level of the spiny layer of the epidermis (x200)



Рис. 4. Пациент до лечения ритуксимабом
Fig. 4. Patient before retuximab treatment



Рис. 5. Пациент через 2 недели после приема ритуксимаба (получил 2 вливания препарата по 1000 мг)
Fig. 5. Patient 2 weeks after retuximab treatment (received 2 infusions of 1000 mg)

Пациент получил курс лечения, после чего высыпания на пораженных очагах стали постепенно эпителизоваться с образованием вторичных гиперпигментных пятен (рис. 4, 5). Пациент был выписан с клиническим улучшением кожно-патологического процесса для дальнейшего лечения и наблюдения в КВД по месту жительства. Рекомендовано снижение системной кортикостероидной терапии до полной отмены в течение 2–4 месяцев, а также продолжить инъекции ритуксимаба в дозировке 1000 мг на 14-й день наблюдения и по 500 мг препарата на 13-й и 18-й месяцы наблюдения.

Следует указать, что при лечении всех 6 пациентов с установленным диагнозом «вульгарная пузырчатка» тактика была одинакова: сочетание системных кортикостероидных препаратов с биологическим препаратом (ритуксимаб), так как до обращения в РСНПМЦДВиК МЗ РУз пациенты находились на поддерживающей стероидной терапии (10–20 мг преднизолона). Доза системного кортикостероида повышалась до 50–60 мг преднизолона с параллельным введением 1000 мг ритуксимаба в/в, а затем доза стероидов быстро уменьшалась до полной ее отмены с продолжением введения биологического препарата. Подобная тактика позволяла устранять нежелательные побочные эффекты системной кортикостероидной терапии.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время большинство пациентов, страдающих различными формами пузырчатки, в частности вульгарной, принимают патогенетическое лечение в виде системных кортикостероидных препаратов, которые назначаются в высоких суточных дозировках (1,5–2 мг препарата на 1 кг массы пациента) и в течение длительного

срока, со снижением до определенной поддерживающей дозы, вследствие чего практически у всех пациентов развиваются в большей или меньшей степени выраженные побочные явления, которые качественно изменяют характер жизни пациентов, а иногда приводят к летальному исходу. В связи с этим поиск новых, эффективных и безопасных лекарственных препаратов является весьма актуальным, тем более что в доступной литературе имеются сообщения об эффективности использования ритуксимаба у пациентов с вульгарной пузырчаткой [4, 15, 16, 26]. Применение ритуксимаба направлено на связывание с антигеном CD20, располагающимся на В-лимфоцитах, инициирующее иммунологические реакции, опосредующие лизис В-клеток [4].

Необходимо накапливать собственные данные по применению ритуксимаба у пациентов с вульгарной пузырчаткой, что позволит установить реальные сроки и дозы применения данного генно-инженерного биологического препарата при указанном тяжелом дерматозе. Анализ литературы и собственные предварительные данные указывают на высокую эффективность и безопасность ритуксимаба при лечении пациентов с вульгарной пузырчаткой.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При лечении пациентов с вульгарной пузырчаткой рекомендуется применение биологических препаратов, в частности ритуксимаба, что позволит в определенной степени заменить системную кортикостероидную терапию, тем самым устранить серьезные побочные осложнения последней. Хорошая переносимость и эффективность биологического препарата ритуксимаба позволяют с оптимизмом рассматривать общее лечение вульгарной пузырчатки.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Potekaev N.N., L'vov A.N. (ed.) *Dermatologiya Fitcpatrika v klinicheskoy praktike*. Moskva. Izdatel'stvo Panfilova. 2015; 1168 p. (in Russian)
2. Kolas Ju.V., Lukyanau A.M. Bullezyne dermatozy: diagnosticheskoe znachenie opredeleniya autoantitel metodom immunofermentnogo analiza. *Zdravoohranenie (Minsk)*. 2014;3:55–61. (in Russian)
3. Mahneva N.V., Davidenko E.B., Beleckaja L.V. On the problems of diagnosis and differential diagnosis of autoimmune pemphigus. *Al'manah klinicheskoy mediciny*. 2014;34:9–14. (in Russian)
4. Murashkin N.N., Oprjatin L.A., Vasilenko A.A. Rituximab in the treatment of a child with pemphigus vulgaris: clinical observation. *Voprosy sovremennoj pediatrii*. 2022;21(5):407–413. (in Russian)
5. Tkachenko S.B., Tepljuk N.P., Minnibaev M.T., Allenova A.S. Modern methods of differential diagnosis of true pemphigus and bullous pemphigoid. *Ross zhurn kozh ven bol*. 2015;3:17–22. (in Russian)
6. Ahmed A.R., Carrozzo M., Caux F. Monopathogenic vs multipathogenic explanations of pemphigus pathophysiology. *Exp Dermatol*. 2016;25(11):839–846.
7. Amagai M., Bologna J.L., Jorizzo J.L., Schaffer J.V. *Pemphigus*. In: *Dermatology*. Philadelphia. Elsevier. 2012;1:469–471.
8. Aoki V., Sousa J.J., Fukumori L.M. Direct and indirect immunofluorescence. *Anais Bras Dermatol*. 2010;85(4):490–500.
9. Atzmony L., Hodak E., Leshem Y.A. The role of adjuvant therapy in pemphigus: a systematic review and meta-analysis. *J Amer Acad Dermatol*. 2015;73(2):264–271.
10. Behzad M., Mobs C., Kneisel A. Combined treatment with immunoadsorption and rituximab leads to fast and prolonged clinical remission in difficult-to-treat pemphigus vulgaris. *Brit J Dermatol*. 2012;166(4):844–852.
11. Di Zenzo G., Lullo G.D., Corti D. Pemphigus autoantibodies generated through somatic mutations target the desmoglein-3 cis-interface. *J Clin Invest*. 2012;122(10):3781–3790.
12. Hertl M. *Autoimmune diseases of the skin pathogenesis, diagnosis, management*. Springer-Verlag. Wien. 2011; 594 p.
13. Huang A., Madan R.K., Levitt J. Future therapies for pemphigus vulgaris: rituximab and beyond. *J Amer Acad Dermatol*. 2016;74(4):746–753.
14. Frew J.W., Martin L.K., Murrell D.F. Evidence-based treatments in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *Clinics Dermatol*. 2011;29(4):599–606.
15. Joly P., Maho-Vaillant M., Prost-Squarcioni C. First-line rituximab with short-term prednisone versus prednisone alone for the treatment of pemphigus: a prospective, multicenter, parallel group, open-label randomized trial. *Lancet*. 2017;389(10083):2031–2040.

16. Joly P., Horvath B., Patsatsi A. Updated S2K guidelines on the management of pemphigus vulgaris and foliaceus initiated by the European academy of dermatology and venereology (EADV). *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020;34(9):1900–1913.
17. Lakshmi M.J.D., Jaisankar T.J., Rajappa M. Correlation of antimuscarinic acetylcholine receptors antibody titers and antidesmoglein antibody titers with the severity of disease in patients with pemphigus. *J Amer Acad Dermatol.* 2017;76(5):895–902.
18. Mindorf S., Dettmann I.M., Kruger S. Routine detection of serum antidesmocollin autoantibodies is only useful in patients with atypical pemphigus. *Exp Dermatol.* 2017;26(12):1267–1270.
19. Oliveira L.A., Marquart-Filho A., Trevalato G. Anti-Desmoglein 1 and 3 Autoantibody Levels in Endemic Pemphigus Foliaceus and Pemphigus Vulgaris from Brazil. *Clin Lab.* 2016;62(7):1209–1216.
20. Olszewska M., Kolacinska-Strasz Z., Sulej J. Efficacy and safety of cyclophosphamide, azathioprine and cyclosporine as adjuvant drugs in pemphigus vulgaris. *Amer J Clin Dermatol.* 2007;8(2):85–92.
21. Payne A.S., Ishii K., Kacir S. Genetic and functional characterization of human pemphigus vulgaris monoclonal autoantibodies isolated by phage display. *J Clin Invest.* 2005;115(4):888–899.
22. Rao P.N., Lakshmi T.S. Pulse therapy and its modifications in pemphigus: a six-year study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2003;69(5):329–333.
23. Sharma V.K., Bhari N., Gupta S., Sahni K. Clinical efficacy of rituximab in the of pemphigus: a retrospective study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2016;82(4):389–394.
24. Tavakolpour S. Current and future treatment options for pemphigus: is it time to move towards more effective treatments. *Int Immunopharmacol.* 2017;53:133–142.
25. Van Beek N., Zillikens D., Schmidt E. Diagnosis of autoimmune bullous diseases. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2018;16(9):1977–1091.
26. Werth V.P., Joly P., Mimouni D. Rituximab versus Mycophenolate Mofetil in patients with Pemphigus vulgaris. *N Engl J Med.* 2021;384(24):2295–2305.