



Рис. 2. Ассоциация полиморфизмов гена *PLAUR* с уровнем uPAR в сыворотке крови. Приведены значения *p*, полученные с помощью дисперсионного анализа

диагностики и лечения новой коронавирусной инфекции на разных этапах развития болезни» № 0908.002, номер ЦИТИС (Центр информационных технологий и систем органов исполнительной власти) 121061800142-0 и при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-60029.

Литература

1. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. *Nature*, 2021; 600 (7889): 472–477.
2. Zarkasi K.A., Abdul Murad N.A., Ahmad N., Jamal R., Abdullah N. Coronary heart disease in type 2 diabetes mellitus: genetic factors and their mechanisms, gene-gene, and gene-environment interactions in the Asian populations. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2022; 19 (2): 647. doi: 10.3390/ijerph19020647
3. Balta G., Altay C., Gurgey A. *PAI-1* gene 4G/5G genotype: A risk factor for thrombosis in vessels of internal organs. *Am. J. Hematol.*, 2002; 71 (2): 89–93.
4. Guo X., Chen Z., Xia Y., Lin W., Li H. Investigation of the genetic variation in ACE on the structural recognition by the novel coronavirus (SARS-CoV-2). *J. Transl. Med.*, 2020; 18 (2): 321.

DOI 10.52727/2078-256X-2022-18-4-420-421

Биочип для мультиплексного обнаружения биомаркеров изолированных и множественных аутоиммунных эндокринных заболеваний

Е.Н. Савватеева¹, М.Ю. Юкина², Н.Ф. Нуралиева², В.В. Соколова¹,
М.А. Филиппова¹, Е.А. Трошина², Д.А. Грядун¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии Минздрава России, г. Москва, Россия

Большинство аутоиммунных эндокринных заболеваний являются тяжелыми инвалидизирующими патологиями, манифестирующими на протяжении всей жизни пациента, как правило, комбинацией поражений различных эндокринных желез, что требует комплексной комбинированной терапии. Более того, при данных

нозологиях необходима сложная и в то же время своевременная диагностика, так как многие из них являются потенциально опасными для жизни в отсутствие лечения. Для выявления множественных аутоиммунных заболеваний требуется проведение регулярного дорогостоящего скрининга. В подавляющем большинстве случаев

подобные исследования не проводятся вовсе или ограничиваются небольшим спектром антител.

Цель. Разработка метода мультиплексного иммуноанализа для одновременного выявления аутоантител, характеризующих различные аутоиммунные эндокринопатии, такие как аутоиммунные полигландулярные синдромы 1 и 2 типа (АПС-1 и АПС-2), аутоиммунные заболевания щитовидной железы, сахарный диабет 1 типа, аутоиммунная надпочечниковая недостаточность.

Материал и методы. Разработан гидрогелевый биочип, позволяющий выявлять аутоантитела, ассоциированные с аутоиммунными заболеваниями эндокринного генеза. Биочип включает девять иммобилизованных белков, позволяющих проводить мультиплексное выявление как специфичных для АПС-1 аутоантител к интерферону ω (IFN- ω), IFN- α -2a, интерлейкину 22 (IL-22), так и органоспецифических аутоантител к 21-гидроксилазе (21-ОН), глутаматдекарбоксилазе (GAD-65), цитоплазматическому антигену островковых клеток (ICA), тирозинфосфатазе (IA2), тиреоглобулину (Tg), тиреопероксидазе (ТРО). Процедура анализа включала инкубирование на биочипе образца сыворотки крови, при которой в гидрогелевых элементах происходило образование специфичных бинарных иммунных комплексов иммобилизованных аутоантигенов с аутоантителами, находящимися в образце сыворотки крови, с последующей детекцией комплексов с использованием флуоресцентно-меченных антивидовых антител против иммуноглобулинов человека класса G. Регистрацию флуоресценции элементов биочипа проводили с использованием универсального аппаратно-программного комплекса для анализа биочипов (ИМБ РАН, Россия).

Результаты. Разработанный метод апробирован с использованием 206 образцов сыворотки крови от взрослых пациентов с АПС-1 ($n = 18$), АПС-2 ($n = 39$), изолированными аутоиммунными ($n = 50$) или неаутоиммунными ($n = 71$) эндокринными патологиями, а также от здоровых доноров ($n = 28$). Метод позволил вы-

явить АПС-1 в 18 из 18 случаев (специфичность 99,5 % и чувствительность 100 %). Показано, что для АПС-1 характерно наличие по крайней мере двух специфических аутоантител, в то время как у 89 % пациентов с АПС-1 выявлен характерный триплет аутоантител (IFN- ω + IFN- α -2a + IL22). При этом у пациентов с АПС-2 антицитокиновые антитела обнаружены не были. Совпадение с методом ИФА при детекции органоспецифических аутоантител (21-ОН, GAD-65, ICA, IA2, Tg, ТРО) у пациентов как с изолированными, так и с множественными эндокринопатиями составило от 88,8 до 97,6 %. Установлены различия в частотах выявления аутоантител среди групп здоровых доноров и пациентов с неаутоиммунными, изолированными аутоиммунными и множественными аутоиммунными эндокринопатиями.

Заключение. В дополнение к тестам на аутоантитела к антигенам ткани щитовидной и панкреатической желез, включенным в алгоритм обследования пациентов с аутоиммунными эндокринными заболеваниями и индивидуумов из группы риска, созданный биочип позволяет выявлять аутоантитела к цитокинам, а также к ферменту стероидогенеза 21-ОН. Обнаружение аутоантител к цитокинам значимо при обследовании родственников больных АПС-1, при атипичном течении аутоиммунных полигландулярных синдромов, а также при отсутствии возможности проведения генетического обследования. Кроме того, поскольку в России в настоящее время все еще отсутствует возможность рутинного определения антител к 21-ОН для диагностики аутоиммунной надпочечниковой недостаточности, созданный биочип в данных условиях может быть единственным инструментом подтверждения аутоиммунной природы заболевания. Таким образом, разработанный гидрогелевый биочип является эффективным методом диагностики и прогнозирования развития аутоиммунных эндокринопатий в группах риска.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Фонда научно-технологического развития Югры № 2022-05-01/2022.