ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ І ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

РЕАНИМАЦИЯ РАДИОИММУНОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ АУТОАНТИТЕЛ К ИНСУЛИНУ

А. В. Тимофеев¹ ⊠, Р. Р. Галимов¹, Е. А. Колесникова¹, А. С. Артюхов¹, Ю. С. Скоблов², С. В. Тактаров³

Аутоантитела к инсулину (insulin autoantibodies, IAA) — один из главных серологических маркеров сахарного диабета 1-го типа (СД1) — заболевания, обусловленного аутоиммунным разрушением β-клеток в островках поджелудочной железы. Тестирование на IAA используют в ранней и дифференциальной диагностике СД1 и при скрининге на это заболевание. Лучшие зарубежные клинико-диагностические лаборатории (КДЛ) тестируют IAA с помощью разных вариантов радиоиммунологического анализа (РИА). Операционные параметры РИА — диагностическая чувствительность (ДЧ), диагностическая специфичность (ДС) и диагностическая точность (ДТ) — в среднем составляют, соответственно, 44%, 100% и 81%. К сожалению, в России РИА уже давно не применяют для определения IAA. Все российские КДЛ с этой целью используют тест-системы, основанные на иммуноферментном анализе (ИФА). У этих тест-систем ДЧ, ДС и ДТ в среднем составляют, соответственно, 24%, 87% и 62%, т. е. существенно ниже, чем у тест-систем РИА. Целью нашей работы было воспроизвести метод РИА IAA в КДЛ РДКБ. Метод основан на конкурентном связывании IAA с инсулином и инсулином, меченным 125 I. Тестировали IAA в образцах сывороток пациентов с впервые выявленным СД1 и пациентов без этого заболевания. ДЧ, ДС и ДТ составили, соответственно, 43%, 100% и 73%. Таким образом, операционные параметры воспроизведенного нами метода РИА IAA приближаются к параметрам методов РИА, применяемых в зарубежных КДЛ, и существенно превосходят параметры метода ИФА.

Ключевые слова: аутоантитела к инсулину, сахарный диабет 1-го типа, радиоиммунологический анализ, диагностическая чувствительность, диагностическая точность диагностическая точность

Вклад авторов: А. В. Тимофеев — идея исследования, анализ результатов, редактирование рукописи; Р. Р. Галимов — подбор и подготовка образцов сывороток, выполнение РИА; Е. А. Колесникова — подготовка текста рукописи; А. С. Артюхов — статистическая обработка результатов РИА; Ю. С. Скоблов — мечение инсулина радиоактивным йодом, измерение радиоактивности проб на счетчике участиц; С. В. Тактаров — подготовка образцов сывороток, выполнение РИА.

Соблюдение этических стандартов: исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации (1964 г.) и ее дальнейшими поправками.

🔀 Для корреспонденции: Алексей Валентинович Тимофеев

Ленинский проспект, д. 117, корп. 2, г. Москва, 119571, Россия; alvaltim@gmail.com

Статья получена: 16.09.2025 Статья принята к печати: 16.10.2025 Опубликована онлайн: 26.10.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.049

Авторские права: © 2025 принадлежат авторам. Лицензиат: PHИMУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

REVIVAL OF RADIOIMMUNOASSAY FOR DETERMINATION OF INSULIN AUTOANTIBODIES

Timofeev AV^{1™}, Galimov RR¹, Kolesnikova EA¹, Artyuhov AS¹, Skoblov YuS², Taktarov SV³

Insulin autoantibodies (IAA) represent the major serological marker of type 1 diabetes mellitus (T1D), the disease resulting from autoimmune damage to β-cells in the pancreatic islets. Testing for IAA is used in early and differential diagnosis of T1D, as well as to perform screening for this disorder. The best foreign diagnostic labs perform IAA tests using different radioimmunoassay (RIA) formats. The RIA performance characteristics, i. e. diagnostic sensitivity (DSe), diagnostic specificity (DSp), and diagnostic accuracy (DA), are on average equal to 44%, 100%, and 81%, respectively. Unfortunately, in Russia RIA has not been used to determine IAA for a long time. All Russian labs use the enzyme-linked immunoassay (ELISA)-based test systems for this purpose. DSe, DSp, and DA of ELISA systems are on average 24%, 87%, and 62%, respectively, i.e. considerably lower compared to RIA systems. Our study aimed to reproduce IAA RIA in the diagnostic lab of the RCCH. The method is based on IAA competitive binding to insulin and ¹²⁵I-labeled insulin. Serum samples from patients with new onset T1D and patients without diabetes were tested for IAA. DSe, DSp, and DA were 43%, 100%, and 73%, respectively. Thus, performance characteristics of the reproduced IAA RIA are close to those of RIAs used in foreign labs and are significantly superior to the characteristics of ELISA-based tests.

Keywords: insulin autoantibodies, type 1 diabetes mellitus, radioimmunoassay, diagnostic sensitivity, diagnostic specificity, diagnostic accuracy

Author contribution: Timofeev AV — study concept, analysis of the results, manuscript editing; Galimov RR — selection and preparation of serum samples, RIA; Kolesnikova EA — manuscript writing; Artyuhov AS — statistical processing of the RIA results; Skoblov YuS — labeling of insulin with radioactive iodine, measuring the sample radioactivity with a gamma counter; Taktarov SV — preparation of serum samples, RIA.

Compliance with ethical standards: the study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki (1964) and further amendments.

Correspondence should be addressed: Alexei V. Timofeev

Leninsky prospect, 117, korp. 2, Moscow, 119571, Russia; alvaltim@gmail.com

Received: 16.09.2025 Accepted: 16.10.2025 Published online: 26.10.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.049

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee: Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

¹ Российская детская клиническая больница (РДКБ) — филиал Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

² Институт биоорганической химии имени М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, Москва, Россия

³ Российский университет медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

¹ Russian Children's Clinical Hospital (RCCH) — Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

² Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia

³ Russian University of Medicine of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Сахарный диабет 1-го типа (СД1) обусловлен аутоиммунным разрушением β -клеток в островках поджелудочной железы. Разрушение β -клеток ведет к недостатку инсулина и, как следствие, к гипергликемии и другим тяжелым метаболическим нарушениям, поэтому все больные СД1 нуждаются в пожизненной инсулинотерапии. СД1 поражает преимущественно детей и подростков. Существует наследственная предрасположенность к СД1: риск заболеть у ближайших родственников больных примерно в 40 раз выше [1].

Для СД1 характерен латентный доклинический период (ДКП), на протяжении которого происходит постепенная аутоиммунная деструкция β-клеток [2]. ДКП длится от нескольких месяцев до нескольких лет и заканчивается, когда популяция β-клеток сокращается на 70–80%. В этот момент возникают абсолютный дефицит инсулина, гипергликемия и ее симптомы: происходит манифестация СД1 и начинается клинический период болезни. Примерно у половины больных при манифестации развивается острое осложнение СД1 — диабетический кетоацидоз, приводящий к тяжелым нейрокогнитивным нарушениям, а иногда и к смерти. Основная причина кетоацидоза — запаздывающее назначение инсулинотерапии.

Представление о том, что СД1 — аутоиммунное заболевание, сложилось к началу 1980-х гг. К этому времени уже было показано, что у большинства пациентов с СД1 в сыворотке присутствуют аутоантитела (аутоАТ), связывающиеся со структурами островковых клеток на криостатных срезах поджелудочной железы [3]. Такие аутоАТ получили название «антитела к островковым клеткам» (islet cell antibodies, ICA). Было понятно, что ІСА связываются с некими цитоплазматическими антигенами β-клеток — потенциальными мишенями аутоиммунной реакции. Наиболее вероятным кандидатом в такие антигены казался главный продукт β-клеток инсулин. Эта гипотеза была подтверждена в 1983 г. группой исследователей из США под руководством Джерри Палмера [4]. С помощью РИА Палмер и коллеги обнаружили ІАА у пациентов с впервые выявленным СД1, которым еще не назначили инсулинотерапию, а также у некоторых здоровых родственников больных СД1.

В дальнейшем были открыты аутоАТ и к другим антигенам β -клеток, в частности — к глутаматдекарбоксилазе (glutamic acid decarboxylase antibodies, GADA), тирозинфосфатазе (islet antigen-2 antibodies, IA-2A) и транспортеру цинка 8 (zinc transporter 8 antibodies, ZnT8A) [5]. АутоАТ не играют существенной роли в деструкции β -клеток, но являются ее высокоспецифичными лабораторными маркерами.

Тестирование на аутоАТ применяют для решения следующих задач:

– ранняя диагностика СД1 в ДКП;

Таблица 1. Операционные параметры разных тестов на IAA по данным IASP [7]

Метод	дч, %		ДС, %		Al	JC .	ДТ, %		. N _{кдл}
	Me	IQR	Ме	IQR	Me	IQR	Me	IQR	кди
РИА	44,0	20–56	100,0	99–100	0,811	0,73-0,835	81,1	73–83,5	13
ИПАМЛ	46,0	40–51	98,9	97–99	0,804	0,784–0,842	80,4	78,4–84,2	11
ЭХЛА	53,0	16–58	97,2	92–99	0,774	0,606-0,824	77,4	60,6–82,4	10
ИФА*	24,0	24–30	87,3	83–90	0,624	0,616–0,629	62,4	61,6–62,9	6
ИХЛА	11,0	9–14	66,1	56–76	0,254	0,243-0,265	25,4	24,3–26,5	2

Примечание: AUC — площадь под кривой операционной характеристики теста (area under receiver operating curve); $N_{KДЛ}$ — число КДЛ-участниц IASP; Me — медиана (median); IQR — межквартильный размах (interquartile range).* — все КДЛ-участницы IASP применяли тест-системы, изготовленные в этих КДЛ (коммерческие тест-системы не использовали).

- подтверждение диагноза СД1 при нечеткой клинической картине заболевания;
- дифференциальный диагноз между СД1 и другими типами и вариантами СД;
- скрининг на ДКП СД1 в группах риска (например, у ближайших родственников больных) и среди населения.

Последняя задача имеет особое значение по двум причинам. Во-первых, обнаружение маркеров аутоиммунной деструкции β-клеток говорит о высокой вероятности манифестации СД1 и дает возможность пациентам и их родителям к ней подготовиться, а врачам своевременно назначить инсулинотерапию и предупредить кетоацидоз и его последствия. Во-вторых, скрининг выявляет пациентов, которым показана медикаментозная профилактика СД1 с помощью препаратов, подавляющих аутоиммунную реакцию против β-клеток, например с помощью теплизумаба [6]. Программы скрининга уже много лет проводят в европейских странах, США, Канаде, Австралии, Израиле [7], а в конце 2024 г. такая программа стартовала и в России в НМИЦ эндокринологии [8]. Тесты на аутоАТ являются основным инструментом скрининга, причем важнейшее место среди них занимает тест на ІАА, поскольку именно эти аутоАТ появляются уже в начале ДКП и служат самыми ранними индикаторами аутоиммунной реакции против β-клеток [9].

В разных КДЛ для тестирования ІАА применяют разные методы. Наиболее распространены РИА, ИПАМЛ (иммунопреципитация антигена, меченного ЭХЛА люциферазой); (электрохемилюминесцентный анализ); ИФА и ИХЛА (иммунохемилюминесцентный анализ). Операционные параметры этих методов — диагностическая чувствительность (ДЧ), диагностическая специфичность (ДС) и диагностическая точность (ДТ) — сильно различаются. Сравнительную оценку операционных параметров разных методов периодически проводят в рамках международной Программы стандартизации тестов на аутоАТ (Islet Autoantibody Standardization Program, IASP) [10]. КДЛ, участвующие в IASP, получают наборы сывороток пациентов с впервые выявленным СД1 и сывороток здоровых доноров крови; каждая КДЛ тестирует IAA во всех сыворотках своим методом. Результаты двух раундов IASP, проведенных в 2018 и 2020 гг., представлены в табл. 1. Как видно, наилучшими ДЧ и ДС и максимальной ДТ обладает метод РИА, второе место по ДТ занимает ИПАМЛ, ИФА находится на четвертом месте, а ИХЛА вообще не имеет ДТ (его AUC < 0,5). Неудовлетворительные операционные параметры ИФА и ИХЛА объясняются тем, что в этих методах антиген (инсулин) сорбируется на твердой фазе — пластике или магнитных частицах, что приводит к нарушению его конформации и экранировке антигенных детерминант.

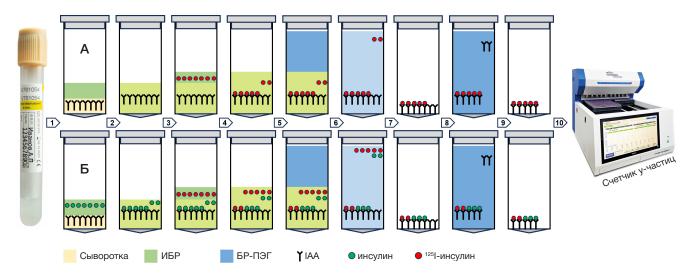


Рис. 1. Процедура РИА IAA 1. Образцы сывороток (75 мкл) внесли в две серии 1,7-мл конических пробирок Эппендорф (Costar 3207, Corning). В пробирки серии А добавили по 75 мкл 0,23M инкубационного буферного раствора (ИБР) pH 7,4 следующего состава: NaH,PO, (Sigma-Aldrich, REF S-0751) 0,014M; Na, HPO, (Panreac, REF 141677) 0,067M; NaCl (Sigma-Aldrich, REF S-9625) 0,15M; бычий сывороточный альбумин (CDH, REF TC1546) 0,05%; Твин-20 (Panreac, REF 162312) 0,05%. В пробирки серии Б добавили по 75 мкл ИБР с рекомбинантным человеческим инсулином (Insulin Reference Standard, Eli Lilly, США) в концентрации 9 x 10⁻³ ЕД/мл. 2. Пробирки обеих серий встряхивали на вихревом смесителе и инкубировали 30 мин на орбитальном шейкере ELMI-ST3 (ЕІті, Латвия) при скорости вращения платформы 250 об./мин при комнатной температуре. За время этой инкубации сывороточные IAA связывались с инсулином. 3. В пробирки обеих серий добавили по 100 мкл ИБР с рекомбинантным человеческим инсулином, меченным 1251 (1251-инсулин), в концентрации 7,5 × 10-6 ЕД/мл. Кроме того, по 100 мкл ИБР с 125 инсулином внесли в две пробирки для подсчета общей радиоактивности (РА). Препарат 125 инсулина был изготовлен в ИБХ путем монойодирования инсулина по тирозину А14 с помощью хлорамина-Т в качестве окислителя, очищен гель-фильтрацией на колонке с Сефадексом G-15. Для йодирования использовали натрия йодид 125I (А/О ИЗОТОП, РФ). В конечном счете получили стабилизированный препарат 125I-инсулина со следующими радиохимическими характеристиками: общая РА — 352 кБк, удельная РА — 58 ТБк/ммоль, радиохимическая чистота — 92%. 4. Все пробирки закрыли крышками и инкубировали 7 сут. в холодильнике при +4 °C. За время инкубации сывороточные IAA связывались с инсулином и 125І-инсулином, и устанавливалось равновесие между связыванием ІАА с меченым и немеченым лигандами. 5. Во все пробирки, кроме пробирок для подсчета общей РА, внесли по 500 мкл буферного раствора рН 8,6 с полиэтиленгликолем (БР-ПЭГ) следующего состава: Трис 0,05М (Sigma-Aldrich REF 7-9 Tris base T13,78); ПЭГ-8000 (Polyethylenglycol 8000 BioChemica AppliChem REF A2204.0500) 14%. БР-ПЭГ был предварительно охлажден до 0°C. 6, 7. Пробирки встряхивали на вихревом смесителе и центрифугировали на центрифуге Бекман G-2-21 при 2000 g 30 мин при +4°C. Надосадочную жидкость удаляли аспиратором. В результате получили преципитат, содержащий комплексы ІАА с меченым и немеченым инсулином, а также ІАА, не связавшиеся с инсулином. 8, 9. Во все пробирки, кроме пробирок для подсчета общей РА, внесли по 1000 мкл БР-ПЭГ с 11% ПЭГ-8000, предварительно охлажденного до 0 °C. Пробирки встряхивали на вихревом смесителе и центрифугировали на центрифуге Бекман G-2-21 при 3000 g 30 мин при +4 °C. Надосадочную жидкость удаляли аспиратором. В результате получили преципитат, содержащий комплексы IAA с меченым и немеченым инсулином. 10. Измерили РА во всех пробирках (в том числе в пробирках для подсчета общей РА) на γ-спектрометре Wizard (PerkinElmer, США) при продолжительности измерения 1 мин

К сожалению, в России в настоящее время во всех без исключения КДЛ для тестирования ІАА используют коммерческие тест-системы ИФА. Их операционные параметры гораздо хуже, чем у тест-систем, применяемых в КДЛ — участницах IASP. Например, у широко применяемой тест-системы Orgentec Anti-Insulin (Orgentec Diagnostika GmbH, REF ORG520, Германия) ДЧ = 4%, ДС = 95,6%, ДТ = 50%, т. е. эта тест-система не имеет клинической ценности [11]. Недавно на российском рынке появилась система ИХЛА Maglumi IAA (Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd; КНР), но в инструкции по эксплуатации этой системы нет данных о ее операционных параметрах [12].

Таким образом, в нашей стране назрела необходимость создания и внедрения надежных, информативных тестсистем для определения IAA. В связи с этим в КДЛ РДКБ была предпринята попытка воспроизведения классического РИА IAA.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Общее описание исследования

Тестировали IAA в образцах сывороток пациентов с максимальной и минимальной вероятностью носительства IAA, т. е. пациентов с впервые выявленным СД1 (группа СД1) и пациентов без этого заболевания (группа К, контрольная). Работы проводили в январе-феврале 2024 г. в РДКБ и ИБХ.

Описание групп пациентов

Группа СД1 (n = 21)

 $M: \mathcal{H}=8: 13$ (38%: 62%); возраст 1,1–17,9 года (медиана возраста — 10,1 года, 95%-й доверительный интервал для медианы — 4,2–12,1 года).

Критерии включения пациентов в группу: возраст 0–18 лет, пол любой; диагноз «сахарный диабет 1-го типа, впервые выявленный» (коды МКБ-10 Е10.1 или Е10.9); длительность СД1 от даты постановки диагноза до даты взятия пробы крови \leq 3 месяцев; присутствие в сыворотке как минимум двух видов аутоАТ из следующих: ICA, GADA, IA-2A, ZnT8A.

Группа K (n = 19)

 $M: \mathcal{K}=12: 7$ (63%: 37%); возраст 2,5–46,9 года (медиана возраста — 13,3 года, 95%-й доверительный интервал для медианы — 10,2–16,6 года).

Критерии включения пациентов в группу: возраст любой, пол любой; пациент практически здоров (код МКБ-10 Z00) или имеет один из следующих диагнозов: сахарный диабет 2-го типа (МКБ-10 E11), другие уточненные формы СД, в том числе разные формы моногенного СД (МКБ-10 E13, E13.9), ожирение (МКБ-10 E66), СД неуточненный (МКБ-10 E14, E14.9), синдром Иценко–Кушинга (МКБ-10 E24), болезнь Иценко–Кушинга гипофизарного происхождения (МКБ-10 E24.0), синдром Тернера (МКБ-10 Q96); пациенту никогда не ставили диагноз СД1; пациент никогда не получал инъекции инсулина; в сыворотке пациента отсутствуют ICA, GADA, IA-2A, ZnT8A.

Таблица 2. Результаты измерения C_{IAA} в образцах сывороток

Группа СД1					Группа К				
		Паци	. С _{іаа} , нЕД/мл	Nº	Пациент			0 55/	
Nº	Пол	Возраст Диагноз (МКБ-10)			Пол	Возраст	Диагноз (МКБ-10)	- С _{IAA} , нЕД/мл	
1	М	7,9	ВВСД1 (Е10.1)	29	22	М	42,0	Здоров (Z00)	6
2	ж	14,0	ВВСД1 (Е10.1)	11	23	М	46,9	МГД MODY2 (E13)	37
3	М	10,1	ВВСД1 (Е10.9)	102	24	М	40,9	СД2 (Е11)	15
4	М	4,0	ВВСД1 (Е10.1)	17	25	М	15,5	СД2 (Е11)	6
5	ж	12,3	ВВСД1 (Е10.9)	471	26	М	7,6	Здоров (Z00)	24
6	ж	3,0	ВВСД1 (Е10.1)	20	27	ж	7,0	Здоров (Z00)	10
7	ж	5,2	ВВСД1 (Е10.1)	24	28	ж	10,6	СД2 (Е11)	172
8	М	13,7	ВВСД1 (Е10.9)	164	29	ж	27,7	СДНУ (Е14)	24
9	ж	12,2	ВВСД1 (Е10.9)	17	30	М	15,4	Здоров (Z00)	29
10	ж	4,1	ВВСД1 (Е10.9)	193	31	ж	15,1	СД2 (Е11, Е66)	33
11	М	11,0	ВВСД1 (Е10.1)	58	32	М	11,8	Здоров (Z00)	12
12	М	13,8	ВВСД1 (Е10.9)	25	33	М	16,8	СДНУ (Е14)	15
13	М	12,0	ВВСД1 (Е10.9)	1	34	М	2,5	СДстер (Е13.9)	17
14	ж	11,3	ВВСД1 (Е10.9)	19	35	ж	16,5	СД2 (E11, Q96.3)	22
15	ж	3,4	ВВСД1 (Е10.1)	16	36	ж	13,3	Ожирение (Е66)	9
16	ж	11,7	ВВСД1 (Е10.9)	41	37	М	2,8	СДстер (Е13.9)	20
17	ж	8,0	ВВСД1 (Е10.1)	21	38	М	10,6	СДстер (Е13.9)	45
18	М	2,6	ВВСД1 (Е10.9)	256	39	М	8,8	Здоров (Z00)	14
19	ж	17,9	ВВСД1 (Е10.9)	1047	40	ж	12,8	СД2 (Е11, Е24.0)	31
20	ж	4,2	ВВСД1 (Е10.9)	83					
21	ж	1,1	ВВСД1 (Е10.9)	73					

Примечание: № — порядковый номер образца сыворотки; ВВСД1 — сахарный диабет 1-го типа, впервые выявленный; МГД МОDY2 — моногенный сахарный диабет, вариант МОDY2 (мутация в гене гексокиназы); СД2 — сахарный диабет 2-го типа; СДНУ — сахарный диабет неуточненный; СДстер — сахарный диабет, вызванный приемом глюкокортикостероидов. *Красным цветом* помечен результат, квалифицированный как статистический выброс.

Метод тестирования на ІАА

Воспроизведен метод конкурентного РИА (competitive radioimmunoassay) Дж. Палмера и соавторов [4]. Процедура РИА детально представлена на рис. 1.

Метод расчета концентрации ІАА

Метод включал следующие этапы:

- рассчитывали среднюю общую РА (РА $_{
 m oбm}$, число импульсов за минуту) в двух пробирках для подсчета общей РА. РА $_{
 m obm}$ равнялась 5000 срт;
- для каждого образца сыворотки регистрировали РА (число импульсов за минуту) в пробирке без добавления немеченого инсулина (РА_в) и в пробирке с добавлением немеченого инсулина (РА_в);
- для каждого образца сыворотки рассчитывали процент связывания ¹²⁵І-инсулина (ПС) в пробирке без добавления немеченого инсулина (ПС $_{\rm h}$) и в пробирке с добавлением немеченого инсулина (ПС $_{\rm h}$) по формулам:

$$\Pi C_A = PA_A : PA_{obm}$$
 и $\Pi C_B = PA_B : PA_{obm}$;

- для каждого образца сыворотки рассчитывали разность процентов связываний (Д, дельта) по формуле: Д = $\Pi C_{_{\rm A}} \Pi C_{_{\rm B}}$;
- для каждого образца сыворотки рассчитывали концентрацию IAA (C_IAA) по формуле:

 $C_{IAA} = (Д \times 10\ 000) : 100\ (HЕд/мл).$

Методы статистической обработки результатов и расчета операционных параметров теста

Для выявления статистических выбросов в группах СД1 и К применяли, соответственно, левосторонний и правосторонний критерии Граббса, для построения кривой операционной характеристики теста — метод DeLong et al. [13], при этом распространенность СД1 считали равной 0,123% [14]. ДЧ, ДС и ДТ рассчитывали по АUC. Для всех расчетов использовали медикостатистическую программу MedCalc [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты измерения $C_{_{I\!A\!A}}$ представлены в табл. 2.

Один результат (для образца сыворотки № 28) был квалифицирован как выброс. Таким образом, в статистический анализ были включены результаты измерений C_{IAA} в 21 образце сыворотки группы СД1 и в 18 образцах сывороток группы К. В группе СД1 значения C_{IAA} варьировали от 1 до 1047 нЕД/мл, в группе К — от 6 до 45 нЕД/мл. При построении кривой операционной характеристики теста программа MedCalc автоматически выбрала в качестве критерия позитивности теста (наличия IAA в образце сыворотки) значение C_{IAA} , превышающее 45 нЕД/мл. ДЧ, ДС и ДТ теста, рассчитанные по АUC с применением указанного критерия, составили, 42,9%, 100% и 72,8% с 95%-ми доверительными интервалами 21,8–66%, 81,5–100% и 56,1–85,7% соответственно (рис. 2).

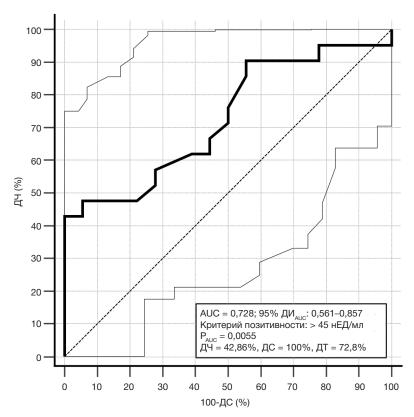


Рис. 2. Кривая операционной характеристики (Receiver Operator Curve) теста на IAA. Пунктирная кривая — линия, ограничивающая AUC, равную 0,5. Сплошная кривая с маркерами — кривая операционной характеристики теста. Точечные кривые — границы 95%-го доверительного интервала (95%ДИ для кривой операционной характеристики. Р вероятность достоверности нулевой гипотезы об отсутствии различия между AUC 0,5 и AUC теста

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По данным IASP, для разных методов РИА IAA медианы ДЧ, ДС и ДТ составляют 44%, 100% и 81,1 соответственно (табл. 1). У нашего метода ДЧ (42,9%) весьма близка к медиане ДЧ РИА IASP, а ДС совпадает с медианой ДС IASP. Однако ДТ нашего метода (72,8%) оказалась существенно ниже медианы ДТ РИА IASP и не попала в ее интерквартильный интервал. Мы объясняем расхождение результата нашего метода РИА с результатами РИА в других КДЛ-участницах IASP (более низкую ДТ нашего метода) двумя причинами:

- очень маленькая численность обеих групп;
- в состав инкубационного буферного раствора (ИБР), применявшегося Дж. Палмером и соавторами [4], входил бычий γ -глобулин в концентрации 0,025%, блокирующий неспецифическое связывание инсулина с «не-IAA» иммуноглобулинами в образцах сывороток. В нашем ИБР этот реагент отсутствовал.

Необходимо отметить, что операционные параметры нашего метода тестирования на IAA оказались лучше, чем у методов ИФА и ИХЛА, представленных в IASP, и намного

превзошли операционные параметры упоминавшейся выше ИФА-тест-системы Orgentec Anti-Insulin, популярной в российских КДЛ.

выводы

В конечном счете мы расцениваем наши результаты как успешные, поскольку операционные параметры предлагаемого метода оказались гораздо лучше, чем у методов ИФА и ИХЛА. Мы считаем, что после соответствующей доводки наш метод РИА ІАА можно применять как с научными целями, так и в клинической практике. К сожалению, на сегодня применение этого метода в КДЛ РДКБ невозможно по двум причинам: отсутствие счетчика у-частиц; отсутствие помещений для работ с радионуклидами, лицензированных Роспотребнадзором и Росздравнадзором. Однако мы надеемся, что со временем в РДКБ — филиале Пироговского Университета — удастся наладить РИА ІАА, в котором так нуждаются российская диабетологическая наука и практика.

Литература

- Ziegler AG, Nepom GT. Prediction and Pathogenesis in Type 1 Diabetes. Immunity. 2010; 32 (4): 468–78. PubMed PMID: 20412757. DOI:10.1016/j.immuni.2010.03.018.
- 2. Общественная организация Российская ассоциация эндокринологов. Сахарный диабет 1 типа у детей. Клинические рекомендации. 2025. Доступно по ссылке: https://edu.endocrincentr.ru/sites/default/files/recommendation_pdf/kr287_3.pdf. Дата обращения 08.10.2025.
- Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. Lancet. 1974; 7892 (2): 1279–83. PubMed PMID: 29061712. DOI: 10.1016/S0140-6736(74)90140-8.
- Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK et al. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. Science. 1983; 222 (4630): 1337–9. PubMed PMID: 6362005. DOI: 10.1126/science.6362005.

ORIGINAL RESEARCH | ENDOCRINOLOGY

- Kawasaki E. Anti-Islet Autoantibodies in Type 1 Diabetes. Int J Mol Sci. 2023; 24 (12): 10012. PubMed PMID 37373160. DOI: 10.3390/ijms241210012.
- Herold KC, Bundy BN, Long SA, Bluestone JA, DiMeglio LA, Dufort MJ, et al. An anti-CD3 antibody, teplizumab, in relatives at risk for type 1 diabetes. N Engl J Med. 2019; 381 (7): 603–13. PubMed PMID: 31180194. DOI: 10.1056/NEJMoa1902226.
- Phillip M, Achenbach P, Addala A, Albanese-O'Neill A, Battelino T, et al. Consensus guidance for monitoring individuals with islet autoantibody-positive pre-stage 3 type 1 diabetes. Diabetologia. 2024; 67 (9): 1731–59. PubMed PMID: 38910151. DOI: 10.1007/s00125-024-06205-5.
- 8. ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии им. академика И.И. Дедова». Приглашение к участию в исследовании по скринингу сахарного диабета 1 типа. Доступно по ссылке: https://www.endocrincentr.ru/ sites/default/ files/all/issledovanie_po_skriningu_saharnogo_diabeta_1_tipa/priglashenie_dlya_uchastiya_v_skrininge.pdf?language=en. Дата обращения 08.10.2025.
- Yu L, Rewers M, Gianani R, Kawasaki E, Zhang Y, Verge C et al. Antiislet autoantibodies usually develop sequentially rather than simultaneously. J Clin Endocrinol Metab. 1996; 81 (12): 4264–7. PubMed PMID: 8954025. DOI: 10.1210/jcem.81.12.8954025.
- Marzinotto I, Pittman DL, Williams AJK, Long AE, Achenbach P, Schlosser M, et al. Islet Autoantibody Standardization Program: interlaboratory comparison of insulin autoantibody assay performance in 2018 and 2020 workshops. Diabetologia. 2024; 66 (5): 897–912.

- PubMed PMID: 36759247, DOI: 10.1007/s00125-023-05877-9.
- Тимофеев А. В., Горст К. А., Уваров В. Ю., Пронина Е. А., Витебская А. В., Попович А. В. и др. Диагностическая ценность применяющихся в России методов исследования антител к антигенам β-клеток. Классический иммунофлюоресцентный метод определения антител к островковым клеткам, радиоиммунный метод определения антител к глутаматдекарбоксилазе и иммуноферментные методы определения антител к тирозинфосфатазе и инсулину. Сахарный диабет. 2016; 19 (4): 331–40. DOI: /10.14341/DM8032.
- Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. MAGLUMI IAA (CLIA) Instruction for Use. Available from: https://hoachatxetnghiem.com.vn/en/downloads/snibe-maglumi-iaa-clia.pdf. (Last accession 07.10.2025.)
- 13. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. Biometrics. 1988; 44 (3): 837–45. PubMed PMID 3203132.
- 14. Дедов И. И., Шестакова М. В., Викулова О. К., Железнякова А. В., Исаков М. А., Сазонова Д. В. и др. Сахарный диабет в Российской Федерации: динамика эпидемиологических показателей по данным Федерального регистра сахарного диабета за период 2010–2022 гг. Сахарный диабет. 2023; 26 (2): 104–23. DOI: 10.14341/DM13035.
- MedCalc® Statistical Software version 23.3.7 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; https://www.medcalc.org; 2025).

References

- Ziegler AG, Nepom GT. Prediction and Pathogenesis in Type 1 Diabetes. Immunity. 2010; 32 (4): 468–78. PubMed PMID: 20412757. DOI:10.1016/j.immuni.2010.03.018.
- Obshchestvennaya organizaciya Rossijskaya associaciya endokrinologov. Saharnyj diabet 1 tipa u detej. Klinicheskie rekomendacii. 2025. Dostupno po ssylke: https://edu. endocrincentr.ru/sites/default/files/recommendation_pdf/ kr287_3.pdf. Data obrashcheniya 08.10.2025. Russian.
- Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. Lancet. 1974; 7892 (2): 1279–83. PubMed PMID: 29061712. DOI: 10.1016/S0140-6736(74)90140-8.
- Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK et al. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. Science. 1983; 222 (4630): 1337–9. PubMed PMID: 6362005. DOI: 10.1126/science.6362005.
- Kawasaki E. Anti-Islet Autoantibodies in Type 1 Diabetes. Int J Mol Sci. 2023; 24 (12): 10012. PubMed PMID 37373160. DOI: 10.3390/ijms241210012.
- Herold KC, Bundy BN, Long SA, Bluestone JA, DiMeglio LA, Dufort MJ, et al. An anti-CD3 antibody, teplizumab, in relatives at risk for type 1 diabetes. N Engl J Med. 2019; 381 (7): 603–13. PubMed PMID: 31180194. DOI: 10.1056/NEJMoa1902226.
- Phillip M, Achenbach P, Addala A, Albanese-O'Neill A, Battelino T, et al. Consensus guidance for monitoring individuals with islet autoantibody-positive pre-stage 3 type 1 diabetes. Diabetologia. 2024; 67 (9): 1731–59. PubMed PMID: 38910151. DOI: 10.1007/s00125-024-06205-5.
- 8. GNC RF FGBU «NMIC endokrinologii im. akademika I.I. Dedova». Priglashenie k uchastiyu v issledovanii po skriningu saharnogo diabeta 1 tipa. Dostupno po ssylke: https://www.endocrincentr.ru/sites/default/files/all/issledovanie_po_skriningu_saharnogo_diabeta_1_tipa/priglashenie_dlya_uchastiya_v_skrininge.

- pdf?language=en. (Data obrashcheniya 08.10.2025.) Russian.
- Yu L, Rewers M, Gianani R, Kawasaki E, Zhang Y, Verge C et al. Antiislet autoantibodies usually develop sequentially rather than simultaneously. J Clin Endocrinol Metab. 1996; 81 (12): 4264–7. PubMed PMID: 8954025. DOI: 10.1210/jcem.81.12.8954025.
- Marzinotto I, Pittman DL, Williams AJK, Long AE, Achenbach P, Schlosser M, et al. Islet Autoantibody Standardization Program: interlaboratory comparison of insulin autoantibody assay performance in 2018 and 2020 workshops. Diabetologia. 2024; 66 (5): 897–912. PubMed PMID: 36759247. DOI: 10.1007/s00125-023-05877-9.
- 11. Timofeev AV, Gorst KA, Uvarov VYu, Pronina EA, Vitebskaya AV, Popovich AV, i dr. Diagnosticheskaya cennost' primenyayushchihsya v Rossii metodov issledovaniya antitel k antigenam β-kletok. Klassicheskij immunoflyuorescentnyj metod opredeleniya antitel k ostrovkovym kletkam, radioimmunnyj metod opredeleniya antitel k glutamatdekarboksilaze i immunofermentnye metody opredeleniya antitel k tirozinfosfataze i insulinu. Saharnyj diabet. 2016; 19 (4): 331–40. DOI: /10.14341/DM8032. Russian.
- Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. MAGLUMI IAA (CLIA) Instruction for Use. Available from: https://hoachatxetnghiem.com.vn/en/downloads/snibe-maglumi-iaa-clia.pdf. (Last accession 07.10.2025.)
- 13. DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach. Biometrics. 1988; 44 (3): 837–45. PubMed PMID 3203132.
- 14. Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, Isakov MA, Sazonova DV, i dr. Saharnyj diabet v Rossijskoj Federacii: dinamika epidemiologicheskih pokazatelej po dannym Federal'nogo registra saharnogo diabeta za period 2010–2022 gg. Saharnyj diabet. 2023; 26 (2): 104–23. DOI: 10.14341/DM13035. Russian.
- MedCalc® Statistical Software version 23.3.7 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; https://www.medcalc.org; 2025).