УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой

член-корр., д.м.н., профессор Лила А.М.

_____

10 июля 2026 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт ревматологии имени В.А. Насоновой» по первичной экспертизе диссертации «Клиническое значение маркеров активации нейтрофилов при АНЦА-ассоциированном васкулите: гранулематозе с полиангиитом и микроскопическом полиангиите» на соискание степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.27. - Ревматология **Воркель Евгении Николаевны**

Диссертация «Клиническое значение маркеров активации нейтрофилов при АНЦА-ассоциированном васкулите: гранулематозе с полиангиитом и микроскопическом полиангиите» выполнена в лаборатории тромбовоспаления Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» (ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, 115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 34А).

В период подготовки диссертации с 2023 г. по настоящее время проходит обучение по программе подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению 3.1.27. - Ревматология в ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой.

В 2021 г. с отличием окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «лечебное дело».

В 2023 г. окончила ординатуру по специальности «ревматология» в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов № 314 выдана 07.05.2026 г. Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой».

Научный руководитель: Лила Александр Михайлович, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой (115522, г. Москва, Каширское шоссе, д. 34А).

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Воркель Евгении Николаевны «Клиническое значение маркеров активации нейтрофилов при АНЦА-ассоциированном васкулите: гранулематозе с полиангиитом и микроскопическом полиангиите» выполнена по специальности 3.1.27. - «Ревматология» и входила в план научно-исследовательской работы ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой по фундаментальной теме «Изучение иммунопатологии, диагностики и терапии на ранних стадиях системных ревматических заболеваний» (РК №122040400024-7, УДК 616.72-002616.5-002.524), а также проведена при поддержке гранта Российского научного фонда № 25-25-00245 «Маркеры нетоза при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях» (РК 125042405449-4). Диссертационная работа была утверждена на заседании Ученого совета ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой (протокол № 14 от 26.09.2023 г.) с названием «Маркеры воспаления при повреждении органов у больных с васкулитами, ассоциированными с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами», проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой, протокол № 20 от 12.10.2023 г.

Основные положения и выводы диссертации основаны на материалах первичной документации и полностью им соответствуют.

Работа посвящена изучению клинического значения маркеров активации нейтрофилов и нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) у пациентов с АНЦА-ассоциированным васкулитом (ААВ). В исследование были включены 148 больных с ААВ, находившихся на амбулаторном или стационарном обследовании и лечении в клинических подразделениях ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой» в период с 2023 по 2025 гг. Среди них 109 (74%) пациентов имели гранулематоз с полиангиитом (ГПА), 39 (26%) – микроскопический полиангиит (МПА). В контрольную группу вошли 33 относительно здоровых лица без ревматических заболеваний, злокачественных новообразований, острых и хронических инфекций. Исследование имело два последовательных этапа: обсервационное когортное одномоментное исследование и проспективное наблюдение. Повторное обследование в рамках проспективного этапа выполнено 64 пациентам с ААВ, в том числе 47 больным ГПА и 17 больным МПА. Численность больных в группах достаточна для выработки обоснованных заключений.

Критериями включения являлись возраст 18 лет и старше, подписанное пациентом информированное согласие и достоверный диагноз ГПА или МПА. Диагноз устанавливался на основании комплексной оценки клинических, лабораторных и инструментальных данных, результатов морфологического исследования при наличии биопсийного материала, критериев Американской коллегии ревматологов – American College of Rheumatology (ACR) 1990 года, пересмотренной номенклатуре васкулита, принятой Консенсусной конференцией в Чапел-Хилле в 2012г., а также классификационным критериям, предложенными экспертами ACR и Европейского альянса ревматологических ассоциаций (EULAR, European Alliance of Associations for Rheumatology) - (ACR/EULAR, 2022г.) для ГПА и МПА. Критерии невключения предусматривали возраст до 18 лет, отсутствие информированного согласия, терминальную почечную недостаточность,

хроническую сердечную недостаточность III-IV функционального класса NYHA (New York Heart Association, Нью-Йоркская Кардиологическая Ассоциация), декомпенсированную печёночную или лёгочную недостаточность, острые инфекции, онкологическое заболевание на момент включения, беременность и грудное вскармливание.

В ходе исследования проведено детальное изучение анамнеза и первичной медицинской документации пациентов, выполнено клиническое обследование больных с оценкой активности заболевания по Бирмингемскому индексу активности васкулита (Birmingham Vasculitis Activity Score, (BVAS) version 3), накопленного органного повреждения по индексу VDI (Vasculitis Damage Index), наличия поражения органов и систем, лабораторных признаков воспалительной активности, иммунологического профиля и проводимой терапии. Оценены уровни скорости оседания эритроцитов (СОЭ), С-реактивного белка (СРБ), показатели функции почек, наличие гематурии и протеинурии, а также специфичность АНЦА к протеиназе-3 (ПР3) и миелопероксидазе (МПО).

Использованы современные методы диагностики активации нейтрофилов и нетоза, которые соответствуют поставленной цели и задачам диссертационного исследования. Пациентам основной группы и группе контроля выполнялось определение следующих показателей: нейтрофильные индексы – нейтрофильно-лимфоцитарное соотношение (neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR) и системный иммуновоспалительный индекс (systemic immune-inflammation index, SII), уровень спонтанного нетоза (образование НВЛ), функциональную активность нейтрофилов и маркеры нетоза – специфические (комплекс миелопероксидаза–дезоксирибонуклеиновая кислота (МПО-ДНК) и цитруллинированный гистон Н3 (Citrullinated Histone H3, CitH3)) и неспецифические – кальпротектин (КЛП), миелопероксидаза (МПО), нейтрофильная эластаза (НЭ) и белок группы высокой мобильности 1 (High mobility group box 1 protein, HMGB1).

Нейтрофильные индексы рассчитывались на основании данных общеклинического анализа крови. Уровень спонтанного нетоза оценивали иммунофлуоресцентным методом в мазках богатой лейкоцитами плазмы с определением общей доли НВЛ и отдельных форм нетоза – суицидального и витального. Функциональная активность нейтрофилов исследована в экспериментальной *ex vivo* модели тромбовоспаления с использованием цельной крови в плоскопараллельных стеклянных проточных камерах, покрытых фибриллярным коллагеном I типа, где изучали рост площади тромба во времени, скорость движения и адгезию нейтрофилов. Исследование маркеров нетоза – CitH3, КЛП, МПО, НЭ, HMGB1 и комплекса МПО-ДНК в сыворотке крови выполнено методом иммуноферментного анализа (ИФА). Единицы измерения для CitH3, НЭ и МПО – нанограмм на миллилитр (нг/мл), для КЛП – микрограмм на миллилитр (мкг/мл), для HMGB1 – пикограмм на миллилитр (пг/мл), для комплекса МПО-ДНК – в виде оптической плотности при длине волны 450 нм (OD_{450}). Верхняя границы нормы маркеров нетоза была установлена по 95-му перцентилю значений здорового контроля. Проведена комплексная оценка взаимосвязи исследуемых показателей с активностью заболевания и клинико-лабораторными проявлениями ААВ.

В результате проведённого исследования установлено, что у пациентов с ААВ показатели активации нейтрофильного звена связаны с активностью заболевания, системным воспалением и поражением органов. Высокая активность ААВ (BVAS ≥15 баллов) ассоциировалась с повышением нейтрофильных индексов NLR и SII, при этом повышение NLR увеличивало вероятность высокой активности заболевания в 4 раза, а повышение SII – почти в 7 раз. Повышение NLR отмечено у 24% больных и ассоциировалось с поражением лёгких и нервной системы, повышением СРБ и наличием гематурии. Повышение SII выявлено у 32% пациентов и было связано с поражением суставов, кожи, лёгких, увеличением СОЭ и СРБ, гематурией и АНЦА-ПР3-позитивностью.

Повышенный уровень спонтанного нетоза (более 5,4%) обнаружен у 54,9% больных. Суицидальный тип нетоза преобладал над витальным. Вместе с тем общий процент НВЛ и отдельные варианты нетоза не зависели от клинической активности заболевания и выраженности органного поражения. В *ex vivo* модели тромбовоспаления увеличение площади тромба ассоциировалось с повышением уровней СРБ и КЛП, что подтверждает взаимосвязь нейтрофильного воспаления и тромбообразования при ААВ. В подгруппе пациентов с повышенным нетозом скорость движения нейтрофилов была связана с АНЦА-ПР3-позитивностью.

По результатам исследования специфических маркеров нетоза уровень комплекса МПО-ДНК у пациентов с ААВ был достоверно выше, чем у здоровых лиц ($p<0,0001$). При этом комплекс МПО-ДНК не отражал активность заболевания и выраженность органного повреждения. Повышенный уровень CitH3 выявлен у 44,5% больных и ассоциировался с активностью ААВ, поражением суставов, ЛОР-органов и почек, а также с АНЦА-ПР3-позитивностью. Более высокие концентрации выявлены при ГПА по сравнению с МПА. Клинически значимым результатом стало выявление изолированного повышения CitH3 у 42% пациентов с активным заболеванием при нормальных значениях СОЭ и СРБ, что позволяет рассматривать его как дополнительный маркер воспалительной активности.

Среди неспецифических маркеров нетоза наибольшую связь с воспалительной активностью продемонстрировал КЛП, повышение которого ассоциировалось с конституциональными проявлениями, поражением суставов, ЛОР-органов, почек и нервной системы, а также с АНЦА-ПР3-позитивностью. У 17% пациентов с BVAS≥1 его изолированное повышение выявлено при нормальных острофазовых показателях. Концентрация МПО была повышена у 23% больных ААВ и не отражала текущую активность заболевания, однако положительно коррелировала с индексом необратимого повреждения органов VDI. Повышение НЭ выявлено у 30% пациентов и ассоциировалось с протеинурией, уровень НЭ коррелировал с абсолютным и

относительным числом нейтрофилов и индексом SII. Повышенный уровень HMGB1 отмечен у 68% больных и коррелировал с BVAS, абсолютным числом нейтрофилов, SII, СОЭ, СРБ, а также с маркерами нетоза – CitH3 и КЛП. Повышение HMGB1 ассоциировалось с поражением суставов и нарушением функции почек.

В проспективной части работы установлена прогностическая значимость исходных показателей нейтрофильной активации. Повышенный уровень CitH3 увеличивал вероятность сохранения активности ААВ через 7 [6; 8] месяцев в 8,03 раза (95% ДИ 1,74-36,92; p=0,008), повышенный HMGB1 - в 21,14 раза (95% ДИ 1,98-225,2; p=0,011), нейтрофилёз - в 9,81 раза (95% ДИ 1,96-49,03; p=0,005). Разработанная прогностическая модель, включающая CitH3, HMGB1 и абсолютное число нейтрофилов, характеризовалась чувствительностью 95% и специфичностью 63,6%. В динамике на фоне комплексной терапии зарегистрировано статистически значимое снижение CitH3, МПО, НЭ и HMGB1; достижение ремиссии ассоциировалось со снижением НЭ и HMGB1, тогда как сохранение активности - со стабильно повышенным HMGB1.

В диссертации соискателя учёной степени отсутствуют заимствования материалов или отдельных результатов без ссылок на их автора и источник.

Конкретное участие автора в получении научных результатов

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Проведён анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, подготовлены и опубликованы обзоры литературы. Совместно с научным руководителем определены цель и задачи исследования, дизайн работы, выбраны методы исследования. Автором сформирована индивидуальная карта, заполняемая на каждого пациента. Автор лично участвовал в наборе пациентов, изучении первичной медицинской документации, сборе анамнеза, клиническом обследовании, оценке активности и органного повреждения, динамическом наблюдении

больных. Освоена и отработана методика нанесения мазков цельной крови и богатой лейкоцитами плазмы для оценки спонтанного нетоза. Разработана электронная база данных для хранения и статистической обработки результатов. Автором выполнен статистический анализ, проведено сопоставление полученных данных с результатами отечественных и зарубежных исследований. Совместно с научным руководителем сформулированы научные положения, выводы и практические рекомендации. Текст рукописи диссертации написан соискателем научной степени самостоятельно, результаты представлены автором в докладах на российских и международных научных мероприятиях и опубликованы в научных изданиях.

Научная новизна исследования

Впервые в России проведено комплексное исследование клинического значения нейтрофильных индексов NLR и SII у больных ААВ и показана их связь с высокой активностью заболевания и отдельными органными поражениями. Впервые у пациентов с ААВ изучено спонтанное образование НВЛ в мазках богатой лейкоцитами плазмы, охарактеризовано соотношение суицидального и витального типов нетоза и исследована функциональная активность нейтрофилов с использованием цельной крови в *ex vivo* модели тромбовоспаления. Установлена связь площади тромба с СРБ и КЛП, а скорости движения нейтрофилов – с АНЦА-ПР3-позитивностью.

Впервые на российской когорте пациентов с ААВ одновременно исследованы специфические маркеры нетоза – комплекс МПО-ДНК и CitH3, и неспецифические маркеры – КЛП, МПО, НЭ и HMGB1. Определены их ассоциации с активностью заболевания, клинико-лабораторными проявлениями, АНЦА-статусом и необратимым органным повреждением. Впервые проведено комплексное динамическое исследование нейтрофильных индексов и маркеров нетоза и установлено прогностическое значение повышенных уровней CitH3, HMGB1 и абсолютного числа нейтрофилов в

отношении сохранения активности ААВ. Разработана многофакторная модель прогнозирования активности заболевания через 7 месяцев наблюдения.

Практическая значимость работы

Определена целесообразность расчёта NLR и SII как дополнительных доступных лабораторных показателей воспалительной активности ААВ. Показана возможность использования CitH3 и КЛП в комплексной оценке активности заболевания, особенно у пациентов с сохраняющейся клинической активностью при нормальных значениях СОЭ и СРБ. Выявленная связь площади тромба в модели тромбовоспаления с СРБ и кальпротектином создаёт предпосылки для учёта этих показателей при индивидуальной оценке риска тромботических осложнений и планировании своевременной персонифицированной тромбопрофилактики. Разработанная прогностическая модель на основе CitH3, HMGB1 и абсолютного числа нейтрофилов позволяет выделять пациентов с риском сохранения активности ААВ и может использоваться для обоснования более тщательного динамического наблюдения и персонализации терапии.

Внедрение в практику

Основные результаты диссертационного исследования внедрены и применяются в клинической работе ФГБНУ «НИИ ревматологии им. В. А. Насоновой». Материалы диссертации используются при чтении лекций, проведении круглых столов и практических занятий для врачей и ординаторов ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на Ежегодной научно-практической конференции ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой (Москва, 2024 г.); XXIV Всероссийской школе ревматологов имени академика В. А. Насоновой с международным участием (Москва, 2025 г.); Ежегодной межрегиональной научно-практической

конференции «Актуальные проблемы нефрологии, урологии, терапии и педиатрии: междисциплинарные подходы» (2025 г.); III Всероссийском конгрессе с международным участием «День борьбы с тромбозом в России» (2025 г.); XXV Юбилейном Всероссийском конгрессе с международным участием «Дни ревматологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2025 г.); Ежегодной научно-практической конференции ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой (Москва, 2025 г.).

Постерные доклады представлены на 27-м конгрессе Asia-Pacific League of Associations for Rheumatology (APLAR 2025, Фукуока, Япония, 3-7 сентября 2025 г.); Всероссийском конгрессе с международным участием «Дни ревматологии в Санкт-Петербурге - 2024»; Всероссийском терапевтическом конгрессе с международным участием «Боткинские чтения» (2024 г.). Работа отмечена III местом на I Всероссийском конкурсе молодых учёных «Детский и взрослый нефролог: преемственность поколений» в рамках конференции «Актуальные проблемы нефрологии, урологии, терапии и педиатрии: междисциплинарные подходы» (16.05.2025 г.), а также наградой в секции «Конкурс молодых учёных, устные выступления» XXV Юбилейного Всероссийского конгресса «Дни ревматологии в Санкт-Петербурге» за доклад «Особенности поражения органа зрения при АНЦА-ассоциированном васкулите» (17.10.2025 г.).

Степень достоверности результатов проведённого исследования

Достоверность результатов определяется достаточным объёмом клинического материала, наличием группы здорового контроля и использованием современных методов исследования. Достоверность результатов диссертационного исследования определяется использованием современных и адекватных поставленным задачам методов статистической обработки полученных данных. Научные положения, выводы и практические рекомендации аргументированы, логически обоснованы результатами клинических и лабораторных исследований. Достоверность результатов

проведенного исследования подтверждается также актом проверки первичной научной документации 22.06.2026 г.

Полнота изложения материалов диссертации в публикациях

По теме диссертации опубликовано 2 литературных обзора и 3 оригинальные научные статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных результатов диссертационных исследований, а также 6 тезисов в материалах российских и международных конференций, съездов и конгрессов.

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России

1. Сывороточный кальпротектин при васкулитах, ассоциированных с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами. /Воркель Е.Н., Решетняк Т.М., Нурбаева К.С., Черкасова М.В., Тарасова Г.М., Егорова О.Н., Лила А.М. // Современная ревматология. – 2024. – Т.18. – № 4. – С. 66-73. doi: 10.14412/1996-7012-2024-4-66-73.

2. Роль нейтрофилов при васкулите, ассоциированном с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами. / Воркель Е.Н., Решетняк Т.М., Лила А.М. // Современная ревматология. – 2024. – Т.18. – № 6. – С. 90–97. doi: 10.14412/1996-7012-2024-6-90-97.

3. Гранулематоз с полиангиитом и микроскопический полиангиит: патогенез и клинические проявления. /Решетняк Т.М., Воркель Е.Н., Нурбаева К.С., Лила А.М. // Современная ревматология. – 2025. – Т.19. – № 4. – С. 86-95. doi: 10.14412/1996-7012-2025-4-86-95.

4. Поражение глаз при васкулите, ассоциированном с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами. /Решетняк Т.М., Воркель Е.Н., Лисицына Т.А., Давыдова Г.А., Ковалева Л.А., Супрун М.Д., Нурбаева К.С., Лила А.М. // Современная ревматология. – 2026. – Т.20. – № 3. – С. 36-42. doi: 10.14412/1996-7012-2026-3-36-42.

5. Комплекс миелопероксидаза–ДНК как маркер нетоза при АНЦА-ассоциированном васкулите. / Воркель Е.Н., Решетняк Т.М., Орлова Д.А., Кудряева А.А., Белогуров А.А., Супрун М.Д., Нурбаева К.С., Габибов А.Г., Лила А.М. // Современная ревматология. – 2026. – Т. – № – С. (принята в печать).

Заключение

Диссертация Воркель Евгении Николаевны «Клиническое значение маркеров активации нейтрофилов при АНЦА-ассоциированном васкулите: гранулематозе с полиангиитом и микроскопическом полиангиите» является законченной научно-исследовательской работой, в которой решена актуальная научная задача ревматологии – определено клиническое значение нейтрофильных индексов, нейтрофильных внеклеточных ловушек, функциональной активности нейтрофилов и комплекса специфических и неспецифических маркеров нетоза у больных АНЦА-ассоциированным васкулите, установлены их взаимосвязи с активностью и клинико-лабораторными проявлениями заболевания.

По актуальности темы, объёму проведённых исследований, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертация соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата медицинских наук.

Диссертационная работа, утвержденная как «Маркеры воспаления при повреждении органов у больных с васкулитами, ассоциированными с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами», после обсуждения на заседании Ученого совета рекомендуется к защите с названием «Клиническое значение маркеров активации нейтрофилов при АНЦА-ассоциированном васкулите: гранулематозе с полиангиитом и

микроскопическом полиангиите» в диссертационном совете по специальности 3.1.27. - «Ревматология» после доработки с учётом замечаний.

Заключение принято на заседании Ученого совета ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой. Присутствовало 38 членов Ученого совета, в том числе 24 имеющих учёную степень доктора медицинских наук по специальности «ревматология». В голосовании приняли участие 38 человек.

Результаты голосования: «за» - 38, «против» - 0, «воздержалось» - 0. Протокол № 12 от 23.06.2026 г.

Учёный секретарь
ФГБНУ НИИР им. В. А. Насоновой,
к.м.н. О. А. Никитинская