

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

Объект авторского права

УДК 616.155.294-091.818:[616.72-002.77+616.5-002.525.2]-052

Зубкова Жанна Васильевна

**ТРОМБОЦИТ-АССОЦИИРОВАННЫЙ НЕТОЗ У ПАЦИЕНТОВ
С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И СИСТЕМНОЙ
КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Минск 2025

Научная работа выполнена в учреждении образования «Гомельский государственный медицинский университет».

Научный руководитель: **Новикова Ирина Александровна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики, аллергологи и иммунологии учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Потапнев Михаил Петрович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом клеточных биотехнологий государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр трансфизиологии и медицинских биотехнологий»

Жильцов Иван Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой доказательной медицины и клинической диагностики ФПК и ПК учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится 12 июня 2025 года в 13.30 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.04 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220083, г. Минск, проспект Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by, тел. 8 (017) 302 16 21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан 8 мая 2025 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций Д 03.18.04,
кандидат медицинских наук, доцент



А.П.Музыченко

ВВЕДЕНИЕ

Аутоиммунные заболевания (АИЗ) являются важной проблемой практической медицины ввиду их широкой распространенности среди лиц трудоспособного возраста, трудностью мониторинга течения заболевания и неуклонным прогрессированием [Зинчук И. Ю., 2014; Nasonov E., 2018; Иванова А. В., 2020; Ягур, В. Е., 2023]. Среди системных заболеваний соединительной ткани наиболее часто встречающимися являются ревматоидный артрит (РА) и системная красная волчанка (СКВ). Для выбора правильной тактики ведения пациентов необходима оценка активности воспалительного процесса, которая в настоящее время строится на комплексе клиничко-лабораторных критериев. Однако, клинические критерии во многом субъективны и зависят от психоэмоционального статуса пациентов. Общедоступные лабораторные критерии, используемые для оценки активности заболевания, такие как скорость оседания эритроцитов и уровень С-реактивного белка, часто имеют слабую динамику и не позволяют дать объективную оценку состояния пациента [Каратеев Д. Е., 2009; Соловьев С. К., 2019]. В связи с этим поиск новых тестов, обладающих хорошими диагностическими характеристиками, представляет актуальное направление в научно-практических исследованиях.

В многообразии патогенетических механизмов, лежащих в основе данных заболеваний, важную роль играют нейтрофильные гранулоциты. Одной из функциональных стратегий, реализуемых нейтрофилами в процессе выполнения своих функций, является способность образовывать внеклеточные ловушки (neutrophil extracellular traps, NETs) [Воробьева Н. В., 2020; Hidalgo A., 2022]. В настоящее время известно, что NETs не только являются альтернативным механизмом антимикробной защиты, но участвуют в регуляции иммунного ответа. При аутоиммунных заболеваниях активация нетоза усиливает иммунное воспаление, усугубляет повреждение тканей, а, возможно, выступает как один из триггеров аутоиммунного процесса.

Тромбоциты также являются активными участниками иммуновоспалительных реакций, благодаря широкому арсеналу рецепторов на их поверхности, а также продукции ряда медиаторов (хемокины, молекулы адгезии, интерлейкины и др.). Продемонстрирована их способность разнонаправленно влиять на функциональное состояние нейтрофилов при различных патологических состояниях, в том числе и аутоиммунного генеза [Maugeri N., 2014; Etulain J., 2015; Matsumoto K., 2021]. Это обуславливает интерес исследователей к изучению тромбоцитарно-лейкоцитарных взаимодействий как инструмента лабораторного контроля за состоянием и подхода к оценке эффективности терапии пациентов с АИЗ.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Диссертационное исследование выполнено в рамках научно-исследовательской темы кафедры клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» «Разработка лабораторных критериев оценки активности и прогноза иммунозависимых заболеваний» (сроки выполнения 2019–2024 гг., № гос. регистрации 20192127).

Цель, задачи, объект и предмет исследования

Цель исследования: разработать тест-систему для оценки нетотической активности нейтрофилов крови в условиях их сокультивирования *in vitro* с аутологичными тромбоцитами и обосновать ее применение в качестве иммунологического метода контроля активности воспалительного процесса у пациентов с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой.

Задачи:

1. Оценить изменение параметров нетотической активности нейтрофилов крови при сокультивировании с аутологичными тромбоцитами в зависимости от концентрации клеток и условий культивирования. Установить референтные значения показателей нетоза, ассоциированного с тромбоцитами.

2. Провести оценку показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой.

3. Оценить зависимость изменений тромбоцит-ассоциированного нетоза от особенностей течения, клинических и иммунологических параметров заболевания у пациентов с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой.

4. Установить иммунологические лабораторные критерии контроля за течением воспалительного процесса при ревматоидном артрите и системной красной волчанке на основании анализа изменений показателей нетоза, ассоциированного с тромбоцитами.

Объект исследования: пациенты с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой.

Предмет исследования: показатели нетоза в условиях сокультивирования нейтрофилов с аутологичными тромбоцитами.

Научная новизна

Разработан метод оценки тромбоцитарно-лейкоцитарных взаимодействий основанный на определении параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза в смешанных культурах.

Обнаружено повышение параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с РА и СКВ относительно здоровых лиц. Установлена зависимость степени повышения показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза от активности заболевания, функционального класса нарушений опорно-двигательного аппарата, наличия ревматоидного фактора и длительности заболевания у пациентов с РА и степени активности заболевания у пациентов с СКВ.

Впервые продемонстрирована сопряженность показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза с морфо-функциональными параметрами тромбоцитов (количество тромбоцитов в периферической крови и их агрегационной активностью) пациентов с РА и СКВ. Также установлена взаимосвязь параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза с лабораторными маркерами воспаления (СРБ, СОЭ, уровень фибриногена) и аутоиммунизации (ANA, ЦИК) у пациентов с СКВ.

Показано, что на фоне клинической ремиссии у пациентов с РА и СКВ сохраняются изменения показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза.

Впервые доказано, что показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза могут быть использованы как дополнительные лабораторные маркеры для оценки достижения клинической ремиссии у пациентов с РА и СКВ.

Положения, выносимые на защиту

1. Определены оптимальные условия оценки нетоза в присутствии аутологичных тромбоцитов: концентрация тромбоцитов не менее 200×10^7 кл/л; использование для активации тромбоцитов раствора аденозиндифосфата (АДФ) в концентрации не менее 2,5 мкг/мл; длительность инкубации смешанных культур для оценки раннего нетоза – 30 минут, для оценки позднего нетоза – 150 минут. В аутологичных смешанных культурах у здоровых лиц неактивированные тромбоциты оказывают угнетающий, а активированные АДФ тромбоциты – стимулирующий эффект на образование NETs.

2. У пациентов с ревматоидным артритом показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза превышают значения здоровых лиц. Уровень повышения зависит от степени активности заболевания, функционального класса нарушений опорно-двигательного аппарата, длительности заболевания, наличия ревматоидного фактора в сыворотке, количества тромбоцитов в периферической крови и максимальной степени их агрегации. В период клинической ремиссии показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза снижаются относительно фазы обострения заболевания.

3. У пациентов с системной красной волчанкой параметры тромбоцит-ассоциированного нетоза повышены относительно здоровых лиц. Степень повышения показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза зависит от

активности заболевания и ассоциирована с маркерами воспаления (скорость оседания эритроцитов и уровень С-реактивного белка), аутоиммунизации (ANA, циркулирующие иммунные комплексы), количеством тромбоцитов в периферической крови и их агрегационной активностью. В период клинической ремиссии параметры раннего и позднего тромбоцит-ассоциированного нетоза ниже значений аналогичных показателей в период обострения.

4. Показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой информативны в качестве объективных критериев наступления ремиссии: значения параметров раннего стимулированного нетоза менее 3% и позднего стимулированного нетоза менее 7,5% у пациентов с ревматоидным артритом и параметров позднего базального/спонтанного нетоза менее 5,5% и раннего стимулированного менее 4,5% у пациентов с системной красной волчанкой свидетельствуют об отсутствии острой фазы воспаления; значения параметров раннего и позднего стимулированного нетоза равное или выше 3% и 7,5% у пациентов с ревматоидным артритом и параметров позднего базального и раннего стимулированного нетоза равное или выше 5,5% и 4,5% у пациентов с системной красной волчанкой свидетельствуют о наличии острой фазы воспаления.

Личный вклад соискателя ученой степени в результаты диссертации

Совместно с научным руководителем соискателем определены тема, цель и задачи диссертации, осуществлено планирование, выбраны объем и методы исследования. Соискателем самостоятельно проведен анализ литературы по теме диссертационного исследования, выполнены экспериментальная и статистическая части работы. Анализ медицинской документации учреждения «Гомельская областная клиническая больница» и оформление диссертационной работы автором выполнены лично. Совместно с научным руководителем подготовлены и опубликованы работы в научных медицинских изданиях. Участие соавторов отражено в совместных публикациях. Вклад автора в написание статей – 90%, тезисов – 80%, разработку инструкции по применению – 85%. Участие соавторов отражено в совместных публикациях.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты работы, описанные в диссертации, доложены и обсуждены на: VII, XIII, XV, XVI Республиканских научно-практических конференциях с международным участием студентов и молодых ученых «Проблемы и перспективы развития современной медицины» (Гомель, 2015, 2021, 2023,

2024); Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицины», посвященной 25-летию образования Учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» (Гомель, 2015); Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы медицины» и 26-й итоговой научной сессии Гомельского государственного медицинского университета (Гомель, 2016); Республиканских научно-практических конференциях с международным участием «Актуальные проблемы медицины» (Гомель, 2020, 2022, 2023).

Результаты научно-исследовательской работы внедрены в практическое здравоохранение (учреждение «Гомельская областная клиническая больница»), в учебный процесс (УО «Гомельский государственный медицинский университет»).

Опубликованность результатов диссертации

По материалам диссертации опубликовано: 4 статьи в рецензируемых научных журналах, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий объемом 1,7 авторских листа, 11 статей в сборниках материалов конференций, 7 тезисов докладов, 1 инструкция по применению, утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав результатов собственных исследований, заключения, библиографического списка, включающего 24 русскоязычных и 206 англоязычных источников, списка публикаций соискателя, приложений. Объем диссертации – 142 страницы, в том числе 27 таблиц занимают 8 страниц, 22 рисунка – 11 страниц, 3 приложения – 12 страниц.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследования

Обследовано 50 пациентов (8 мужчин и 42 женщины в возрасте от 20 до 50 лет; 44 (38; 48)), с установленным диагнозом ревматоидный артрит (ACR 1987; ACR/EULAR 2010 г., МКБ-10: M05, M06), длительностью заболевания 6 (2; 14) лет. Степень активности заболевания устанавливалась согласно критериям ACR/EULAR 2010г. по индексу DAS28. На момент обследования у 14 (28%) пациентов установлена низкая, у 23 (46%) – умеренная и у 13 (26%) – высокая степень активности. Функциональный класс нарушений опорно-двигательного аппарата (ФК) определялся лечащим

врачом на основании оценки возможности пациента осуществлять самообслуживание, непрофессиональную и профессиональную деятельность. Среди 46 обследованных пациентов с РА ФК1 был установлен у 10 (20%) пациентов, ФК2 – у 24 (48%) и ФК3 – у 12 (14%) пациентов. Среди обследуемых 26 пациентов были серопозитивны по общему РФ и 24 серонегативны. У 32 пациентов анализ изменений показателей проводился в динамике заболевания (обострение/ремиссия). Наступление ремиссии определялось лечащим врачом на основании клинико-лабораторных данных.

Вторую группу составили 31 пациент (30 женщин и 1 мужчина; возраст 17–53 лет; 30 (27; 40)) с системной красной волчанкой (МКБ-10: М32). Диагноз верифицирован на основании клинических проявлений, лабораторных и инструментальных методов исследования и классификационных диагностических критериев (ACR, 1997). Степень активности заболевания устанавливалась согласно индексам SLEDAI2K. На момент обследования у 12 (38,7%) пациентов установлена низкая, у 10 (32,3%) – умеренная и у 9 (29,0%) – высокая степень активности заболевания. Характер течения оценивался как острый у 4 (13%), подострый – у 4 (13%) и хронический – у 23 (74%) пациентов. У 15 пациентов анализ изменений показателей проводился в динамике заболевания (обострение/ремиссия). Наступление ремиссии определялось лечащим врачом на основании клинико-лабораторных данных.

Пациенты наблюдались в период с 2014 по 2015 годы в отделении ревматологии учреждения «Гомельская областная клиническая больница».

Контрольную группу составили 65 практически здоровых лиц в возрасте от 20 до 50 лет из числа доноров ГУ «Гомельский областной центр трансфузиологии». На основании проведенного анкетирования на предмет соответствия заранее определенным критериям включения/исключения была отобрана группа лиц, не имевших признаков иммунологической патологии и сопутствующих заболеваний. Также, не было установлено значимых возрастных и половых различий между группами пациентов и контрольной группой. Формирование групп проводилось на основе добровольного информированного согласия здоровых лиц и пациентов, в полном соответствии с этическими нормами, изложенными в Хельсинкской декларации 2013 года.

Методы исследования. Определение показателей раннего и позднего тромбоцит-ассоциированного нетоза в тестах с интактными (базальный/спонтанный нетоз; NET-P_{баз}) и активированными (стимулированный нетоз; NET-P_{ст}) тромбоцитами. Определение

агрегационных свойств тромбоцитов с использованием в качестве индуктора агрегации раствора АДФ в концентрации 2,5 мкг/мл. Результаты оценивали по следующим показателям: максимальная степень агрегации (%); время, достижения максимальной степени агрегации (с); скорость агрегации за первые 30 секунд после добавления индуктора (%/мин).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программ статистического анализа Statistica, 6.0 (StatSoft, США) и SPSS Statistics, 17.0 (IBM, США). Ввиду отсутствия согласия данных с нормальным распределением (критерий Колмогорова – Смирнова) статистический анализ проводился с использованием непараметрическим методов. Для оптимального представления меры центральной тенденции и меры рассеяния значений признака в выборке использовали медиану (Me) и интерквартильный размах (интервал) – значения 25-го и 75-го перцентилей. Сравнение количественных признаков в двух независимых группах проводили с использованием рангового U-критерий Манна – Уитни. Для сравнения двух связанных (зависимых) выборок использовали W-критерия Вилкоксона. Для сравнения трех и более количественных признаков использовали H-критерий Краскела – Уоллиса. Сравнение частот бинарного признака в двух несвязанных группах проводили в таблицах сопряженности 2×2, критерий χ^2 . Для анализа связи двух признаков применяли метод ранговой корреляции по Спирмену (r_s). Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$. Оценку прогностической значимости изучаемых параметров проводили методом пошагового логистического регрессионного анализа. Определение информативности показателей и выбора пороговых значений использовали ROC-анализ.

Результаты собственных исследований

Параметры нетоза в условиях совместного культивирования нейтрофилов с аутологичными тромбоцитами

С целью определения показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза нами разработан метод оценки образования нейтрофилами внеклеточных ловушек в смешанных клеточных культурах. В исследовании использовалась суспензия лейкоцитов с содержанием нейтрофилов 5×10^9 кл/л ($65 \pm 5\%$).

Установлено, что аутологичные тромбоциты в концентрации 200×10^9 и 200×10^7 кл/л снижали интенсивность нетоза относительно тест-системы, не содержащей тромбоциты ($p=0,04$, $p=0,04$ соответственно). Наличие тромбоцитов в более низких концентрациях не приводило к значимым изменениям нетотической активности нейтрофилов в сравнении с контрольной тест-системой (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели нетоза в присутствии тромбоцитов в различной концентрации, (n=5)

Концентрация тромбоцитов	Показатели спонтанного нетоза, %
200×10^9 кл/л	2,0 (2,0; 3,0)*
200×10^7 кл/л	2,0 (1,0; 2,0)*
200×10^5 кл/л	4,0 (2,0; 5,0)
200×10^3 кл/л	4,0 (2,0; 6,0)
Безтромбоцитарная плазма	4 (3,0;5,0)

Примечание – данные представлены в виде Ме (25%;75%); * – различия значимы ($p < 0,05$) в сравнении с безтромбоцитарной плазмой (W-критерий Вилкоксона).

При оценке времени инкубации клеток установлено, что на 30-й минуте наблюдалось увеличение активности образования NETs в присутствии плазмы, не содержащей тромбоциты ($p=0,043$). На 150 минуте инкубации наблюдался значимый прирост количества нейтрофильных внеклеточных ловушек, как в присутствии аутологичной плазмы без тромбоцитов, так и в присутствии тромбоцитов в концентрации $200-300 \times 10^9$ /л ($p < 0,05$; W-критерий Вилкоксона) в сравнении с результатами полученными при меньшей длительности инкубирования. При увеличении времени инкубации более 150 минут дальнейшего изменения количества NETs не наблюдалось (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели нетоза в зависимости от длительности инкубирования смешанных культур, (n=5)

Время инкубации	Тест-система	
	лейкоциты + плазма	лейкоциты + тромбоциты (200×10^9 кл/л)
0 минут	2 (2; 3)	2 (2; 3)
30 минут	4 (3; 5)*	2 (2; 1)
60 минут	3 (3; 4)	2 (2; 3)
90 минут	2 (2; 5)	2 (2; 3)
120 минут	2 (2; 3)	3 (2; 3)
150 минут	6 (4; 6)*	4 (4; 5)*
180 минут	5 (5; 6)	4 (4; 6)

Примечание – данные представлены в виде Ме (25%; 75%); * – различия значимы в сравнении с уровнем нетоза при инкубации в течение 30–120 минут ($p < 0,05$; W-критерий Вилкоксона).

Активация тромбоцитов АДФ приводила к повышению количества NETs по сравнению с тест-системами с интактными тромбоцитами. Статистически значимое увеличение количества NETs наблюдалось при концентрации индуктора 2,5 мкг/мл ($p=0,04$) (W-критерий Вилкоксона). Дальнейшее увеличение концентрации индуктора не приводило к изменению числа NETs в клеточной культуре (таблица 3). В отсутствие тромбоцитов АДФ влияния на нетоз не оказывал.

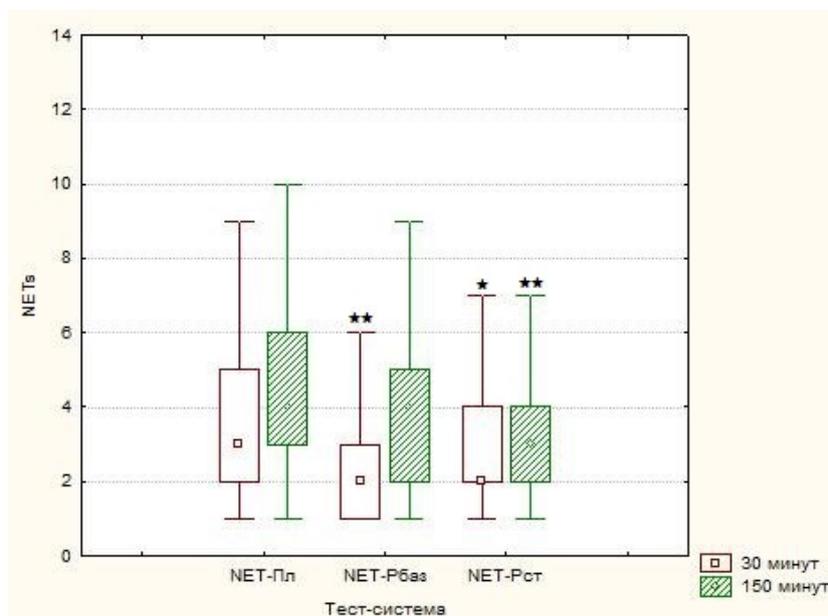
Таблица 3 – Параметры нетоза в присутствии активированных АДФ тромбоцитов в зависимости от концентрации индуктора (n=5)

Тест-система	Уровень NETs, %
PBS	2 (1; 2)
АДФ, 1,25 мкг/мл	2 (2; 3)
АДФ, 2,5 мкг/мл	4 (4; 5)*
АДФ, 5,0 мкг/мл	4 (4; 5)*
АДФ, 10,0 мкг/мл	4 (3; 4)*

Примечание – данные представлены в виде Me (25%; 75%); * – различия значимы в сравнении с уровнем NETs в контрольном тесте (($p < 0,05$; W-критерий Вилкоксона).

Референтный интервал установлен на основании определения параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза у 65 здоровых лиц. В качестве референтных значений был выбран интерквартильный размах. Значения тромбоцит-ассоциированного нетоза составили: базальный нетоз (с интактными тромбоцитами, NET-Р_{баз}) (ранний нетоз: 2 (1; 3); поздний нетоз: 4 (2; 5)) и стимулированный нетоз (со стимулированными АДФ (2,5 мкг/мл) тромбоцитами, NET-Р_{ст}) (ранний нетоз: 2 (2; 4); поздний нетоза: 3 (2; 4)).

Установлено, что в аутологичных культурах, инкубированных в течение 30 минут, неактивированные тромбоциты подавляли нетоз (NET-Р_{баз} vs NET-Пл $p=0,0005$), тогда как активированные АДФ тромбоциты эффекта не оказывали (NET-Р_{ст} vs NET-Пл $p>0,05$, но NET-Р_{ст} vs NET-Р_{баз} $p=0,012$). В 150-минутных культурах влияние тромбоцитов на нетоз ограничивалось снижением нетотической активности нейтрофилов в присутствии активированных АДФ тромбоцитов ($p=0,009$) (рисунок 1).



* - различия значимы в сравнении с тестом NET-Р_{баз};
 ** - различия значимы в сравнении с тестом NET-Пл

Рисунок 1 – Эффект тромбоцитов на параметры NET-образования у здоровых лиц (n=65)

Таким образом, полученные результаты позволили разработать оптимальные условия постановки теста для оценки параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза основанные на совместном культивировании нефракционированной лейкоцитарной суспензии (концентрация клеток 5×10^9 кл/л) и аутологичной плазмы с интактными, либо активированными АДФ (2,5 мкг/мл) тромбоцитами в концентрации $200-300 \times 10^9$ /л в течении 30 (ранний нетоз) и 150 (поздний нетоз) минут.

Тромбоцит-ассоциированный нетоз у пациентов с ревматоидным артритом

У пациентов с РА показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза значимо превышали значения здоровых лиц. Стимуляция нетоза, относительно контрольной группы, отмечалась как при инкубации клеток в течение 30 минут (ранний нетоз), так и 150 минут (поздний нетоз). Так, уровень базального нетоза был выше у пациентов с РА в 1,5 и 1,75 раза для раннего и позднего нетоза соответственно. Уровень стимулированного нетоза у пациентов с РА в 2,5 и 3,3 раза превышал значения здоровых лиц (таблица 4).

Таблица 4 – Показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с РА

Тест-система		Контрольная группа (n=65)	Пациенты с РА (n=49)	Уровень значимости, p
клеточная культура	время инкубации, мин			
NET-P _{баз.} %	30	2 (1; 3)	3 (2; 5)	0,001
	150	4 (2; 5)	7 (4; 10)	0,00009
NET-P _{ст.} %	30	2 (2; 4)	5 (3; 7)	0,00003
	150	3 (2; 5)	10 (7; 15)	0,00001

Примечание – данные представлены в виде Me (25%; 75%).

Сравнительный анализ параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с различной степенью активности заболевания продемонстрировал, что при умеренной и высокой степенях активности заболевания параметры тромбоцит-ассоциированного нетоза превышали контрольные значения ($p < 0,05$), тогда как у пациентов с низкой активностью повышенными, относительно здоровых лиц, были только показатели стимулированного нетоза (NET-P_{ст.}: $p = 0,04$ и $p = 0,00002$ для раннего и позднего нетоза соответственно). Установлено, что максимальных значений показатели нетоза достигали у пациентов с 3-ей степенью активности заболевания. Имелись значимые различия количества NETs у пациентов с 3 степенью активности по сравнению с 1 и 2. Эти различия касались только параметров раннего нетоза (инкубация 30 минут) (1 степень vs 3 степень:

NET-P_{баз} – p=0,002 и NET-P_{ст} – p=0,002; 2 степень vs 3 степень: NET-P_{баз} – p=0,007 и NET-P_{ст} – p=0,01). Показатели позднего нетоза были значимо повышены при 3 степени по сравнению с 1 только в тесте с неактивированными тромбоцитами (NET-P_{баз}: p=0,008).

Анализ показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза в зависимости от функционального класса нарушений опорно-двигательного аппарата (ФК) продемонстрировал, что у пациентов с РА с ФК2 количество нейтрофильных внеклеточных ловушек в раннем и позднем базальных тестах (NET-P_{баз}) было значимо выше в сравнении с ФК1 (p=0,044 и p=0,023 соответственно). При сравнении групп пациентов с ФК2 и ФК3 значимых различий установлено не было. При этом, у пациентов с ФК3 активность нетоза была больше в сравнении с ФК1 как для базального (NET-P_{баз}: p=0,005 и p=0,002 по показателям раннего и позднего нетоза соответственно), так и для стимулированного нетоза (NET-P_{ст}: p=0,036 в раннем тесте).

В группе серопозитивных по общему ревматоидному фактору (РФ) пациентов установлено значимо большее количество NETs в тесте оценки позднего стимулированного (NET-P_{ст}) нетоза в сравнении с группой серонегативной по общему РФ (p=0,039). Показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза в других тестах не имели значимых различий между группами.

При анализе параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с РА с различной длительностью заболевания установлено, что количество нейтрофильных внеклеточных ловушек было значимо выше в тестах оценки как раннего (NET-P_{баз}: p=0,036 и NET-P_{ст}: p=0,045), так и позднего нетоза (NET-P_{баз}: p=0,04 и NET-P_{ст}: p=0,04) у пациентов с длительностью заболевания свыше 5 лет в сравнении с пациентами с меньшей длительностью заболевания.

Параметры тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с РА были ассоциированы с количеством тромбоцитов в периферической крови по показателям раннего NET-P_{баз} (r=0,32; p=0,03). Установлено, что у пациентов с уровнем тромбоцитов более $320 \times 10^9/\text{л}$ (n=15) параметры тромбоцит-ассоциированного нетоза, были значимо выше в сравнении с пациентами с более низкими значениями данного показателя (n=35). Так, количество NETs в тестах раннего нетоза у пациентов с высоким уровнем тромбоцитов было выше в 3,5 и 1,9 раз (NET-P_{баз}: 2 (1; 4) vs 7 (2; 9); p=0,006 и NET-P_{ст}: 4 (3; 5) vs 7,5 (5,5; 9); p=0,004). По параметрам позднего нетоза также имелись подобные различия между группами пациентов (NET-P_{баз}: 6 (4; 8) vs 11 (5; 14); p=0,02 и NET-P_{ст}: 9 (6; 12) vs 15 (11,5; 16); p=0,01). Количество NETs в базальных тестах тромбоцит-ассоциированного нетоза было взаимосвязано с

максимальной степенью агрегации тромбоцитов (ранний NET-P_{баз}: r=0,58; p=0,00002 и поздний NET-P_{баз}: r=0,39; p=0,007).

В период клинической ремиссии у пациентов с РА параметры раннего нетоза снижались в базальном и стимулированном тестах (NET-P_{баз}: p=0,004; NET-P_{ст}: p=0,017) в сравнении с периодом обострения. Показатели позднего нетоза были ниже только в тесте позднего стимулированного нетоза (NET-P_{ст}: p=0,025). При этом количество NETs при краткосрочной инкубации клеточных культур (ранний нетоз) полностью нормализовалось, а показатель позднего стимулированного нетоза оставался повышенным относительно контрольной группы (p=0,046) (таблица 5).

Таблица 5 – Тромбоцит-ассоциированный нетоз у пациентов с РА в динамике воспалительного процесса, (n=32)

Тест-система		Контрольная группа (n=65)	Пациенты с РА	
клеточная культура	время инкубации, мин		стадия обострения	клиническая ремиссия
NET-P _{баз} , %	30	2 (1; 3)	3 (2; 6)*	2 (1; 3)**
	150	4 (2; 5)	6 (4; 9)*	4 (3; 7)
NET-P _{ст} , %	30	2 (2; 4)	4,5 (3; 6)*	3 (2; 4)**
	150	3 (2; 5)	10,5 (4; 15)*	4,5 (3; 8)*/**

Примечание – данные представлены в виде Me (25%; 75%); * – различия значимы (p<0,05) в сравнении с контрольной группой (U-критерий Манна – Уитни); ** – различия значимы (p<0,05) в сравнении с пациентами в стадию обострения (W-критерий Вилкоксона).

В связи с тем, что показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с РА существенно изменялись в зависимости от активности воспалительного процесса, мы оценили возможность их использования для объективной оценки состояния клиническая ремиссия/обострение. Наибольшую диагностическую значимость для оценки воспалительного процесса при РА имеют показатели стимулированного тромбоцит-ассоциированного нетоза (таблица 6).

Таблица 6 – Уровень значимости показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза для оценки ремиссии РА

Показатель, единицы измерения	β-коэффициент	Стандартная ошибка	Критерий Вальда	Критерий значимости
NET-P _{ст} (поздний), %	0,313	0,171	3,345	0,067
NET-P _{ст} (ранний), %	0,162	0,080	4,046	0,044

Оптимальные пороговые значения составили: для NET-P_{ст} (ранний) – 3,0%, для NET-P_{ст} (поздний) – 7,5% (рисунок 2).

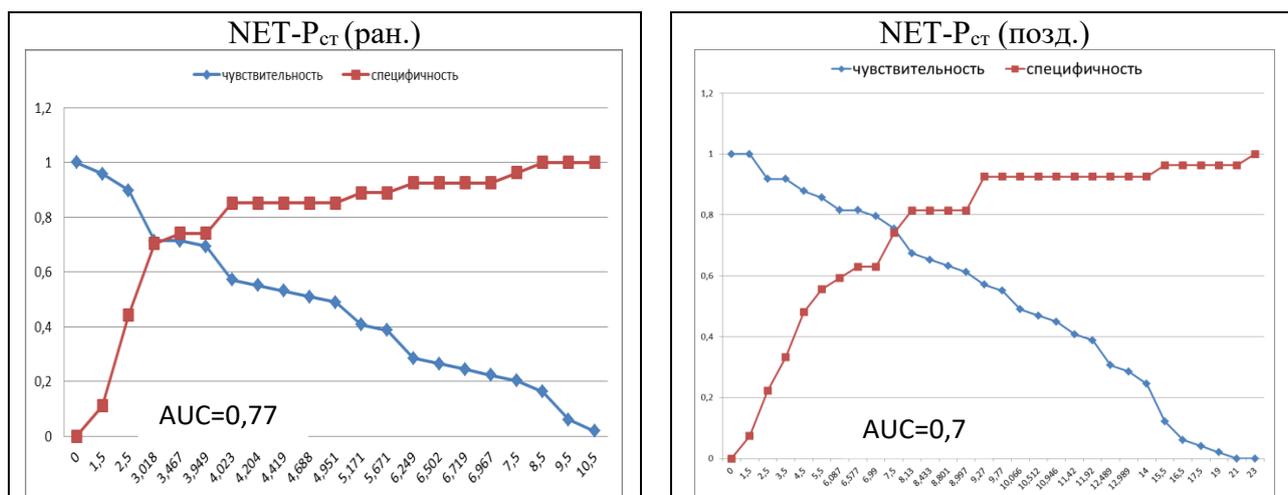


Рисунок 2 – ROC-анализ показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с РА

Значения параметров NET-P_{ст} (ранний)<3% и NET-P_{ст} (поздний)<7,5% у пациентов с РА свидетельствуют о наступлении ремиссии. Совместное использование параметров раннего и позднего стимулированного тромбоцит-ассоциированного нетоза обладает специфичностью – 87,8% и чувствительностью – 63,0%. При этом диагностическая эффективность составляет 78,9%. Прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов составляют 73,9% и 81,1% соответственно.

Таким образом, тромбоцит-ассоциированный нетоз у пациентов с РА повышен относительно здоровых лиц и взаимосвязан со степенью активности заболевания, функциональным классом нарушений опорно-двигательного аппарата, длительностью заболевания, наличием ревматоидного фактора, количеством тромбоцитов в периферической крови и максимальной степенью их агрегации. Показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза могут быть использованы для оценки наступления ремиссии у пациентов с РА.

Тромбоцит-ассоциированный нетоз у пациентов с системной красной волчанкой

Показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с СКВ превышали значения контрольной группы во всех вариантах постановки теста. Уровень базального нетоза был повышен в 2 раза (p=0,00003 и p=0,00002 для раннего и позднего нетоза соответственно). Уровень стимулированного нетоза у пациентов с СКВ в 3,5 и 3,3 раза превышал значения здоровых лиц (p=0,000001 и p=0,000001 соответственно).

Таблица 7 – Показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с СКВ

Тест-система		Контрольная группа (n=65)	СКВ (n=31)
клеточная культура	время инкубации, мин		
NET-P _{баз} , %	30	2 (1; 3)	4 (2; 7)*
	150	4 (2; 5)	8 (4; 12)*
NET-P _{ст} , %	30	2 (2; 4)	7 (5; 9)*
	150	3 (2; 5)	10 (7; 14)*

Примечание – данные представлены в виде Ме (25%; 75%); * – различия значимы ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой.

При исследовании нетоза у пациентов с СКВ с различной степенью активности заболевания нами установлено значимо большее количество нейтрофильных внеклеточных ловушек в тестах раннего и позднего NET-P_{ст} при низкой степени активности заболевания в сравнении с контрольной группой ($p=0,003$ и $p=0,0002$ соответственно). У пациентов со второй и третьей степенями активности патологического процесса уровень NETs во всех тестах значимо превышал показатели контрольной группы ($p < 0,05$).

При проведении сравнения количества NETs между группами пациентов с СКВ с различной активностью заболевания был выявлен значимо более высокий уровень нейтрофильных ловушек при умеренной степени активности в сравнении с низкой в тестах как базального (NET-P_{баз}), так и стимулированного (NET-P_{ст}) нетоза ($p=0,004$ и $p=0,027$ для раннего нетоза; $p=0,001$ и $p=0,036$ для позднего нетоза). При сравнении групп со второй и третьей степенями активности было установлено, что в тестах с интактными тромбоцитами (NET-P_{баз}) количество NETs в тесте оценки позднего нетоза было ниже при высокой степени активности заболевания в сравнении с умеренной ($p=0,007$); в присутствии активированных тромбоцитов, как ранний, так и поздний нетоз были снижены при высокой степени активности в сравнении с умеренной ($p=0,04$ и $p=0,03$ соответственно).

Выявлена высокая степень сопряженности показателей базального тромбоцит-ассоциированного нетоза (NET-P_{баз}) с уровнями СОЭ, СРБ и фибриногена. Так, уровни СОЭ и СРБ были положительно связаны с ранним и поздним базальным нетозом (ранний NET-P_{баз}: $r_s=0,74$; $p=0,00002$ и $r_s=0,43$; $p=0,049$; поздний NET-P_{баз}: $r_s=0,65$; $p=0,0003$ и $r_s=0,54$; $p=0,01$ соответственно). Корреляции показателей базального тромбоцит-ассоциированного нетоза с уровнем фибриногена носили обратный характер ($r_s=-0,79$; $p=0,02$ и $r_s=-0,74$; $p=0,04$ для раннего и позднего нетоза соответственно).

Установлена взаимосвязь тромбоцит-ассоциированного нетоза с показателями иммунного воспаления (ЦИК, ANA). Выявлены отрицательные взаимосвязи NET-P_{ст} с титром ANA ($r_s=-0,79$; $p=0,007$ и $r_s=-0,88$; $p=0,0008$ для раннего и позднего нетоза соответственно) и положительные ассоциации между уровнем ЦИК и параметрами стимулированного нетоза (NET-P_{ст}: $r_s=0,58$; $p=0,02$ и $r_s=0,51$; $p=0,043$ для раннего и позднего нетоза соответственно).

Показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с СКВ были взаимосвязаны с морфо-функциональными параметрами тромбоцитов. При низкой степени активности заболевания образование NETs в базальном тесте оценки раннего нетоза (NET-P_{баз}) было взаимосвязано с количеством тромбоцитов в периферической крови ($r_s=0,48$; $p=0,008$). В группах пациентов со второй и третьей степенями активности заболевания подобных корреляций установлено не было. При умеренной степени активности заболевания установлены взаимосвязи показателя среднего объема тромбоцитов (MPV) и ранним стимулированным (NET-P_{ст}) ($r_s=-0,9$; $p=0,04$) и поздним базальным (NET-P_{баз}) ($r_s=0,97$; $p=0,005$) нетозом. Также, у пациентов с СКВ уровень NETs в тесте позднего базального нетоза (NET-P_{баз}) был ассоциирован с максимальной степенью агрегации тромбоцитов ($r_s=0,47$; $p=0,01$).

У пациентов с СКВ в период клинической ремиссии параметры стимулированного нетоза снижались относительно стадии обострения как в раннем, так и в позднем вариантах теста (ранний нетоз: $p=0,03$; поздний нетоз: $p=0,04$). При этом количество NETs при краткосрочной инкубации клеточных культур (ранний нетоз) полностью нормализовалось, а показатель позднего стимулированного нетоза оставался повышенными относительно контрольной группы ($p=0,002$) (таблица 8).

Таблица 8 – Тромбоцит-ассоциированный нетоз у пациентов с СКВ в динамике воспалительного процесса (n=15)

Тест-система		Контрольная группа (n=65)	Пациенты с СКВ	
клеточная культура	время инкубации, мин		стадия обострения	клиническая ремиссия
NET-P _{баз} , %	30	2 (1; 3)	2 (1; 5)	2 (1; 3)
	150	2 (2; 4)	5 (4; 10)*	5 (3; 6)
NET-P _{ст} , %	30	4 (2; 5)	5,5 (2; 8)*	4 (2; 5)**
	150	3 (2; 5)	9 (6; 10)*	7 (3; 8)*/**

Примечание – данные представлены в виде Me (25%; 75%); * – различия значимы ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой (U-критерий Манна – Уитни); ** – различия значимы ($p < 0,05$) в сравнении с пациентами в стадию обострения (W-критерий Вилкоксона).

Принимая во внимание полученные нами результаты, мы провели оценку клинической информативности параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза с целью определения наиболее значимых маркеров для оценки активности заболевания у пациентов с СКВ. Наибольший вклад в оценку активности воспалительного процесса у пациентов с СКВ вносят показатели нетоза NET-P_{баз} (поздний) и NET-P_{ст} (ранний) (таблица 9).

Таблица 9 – Уровень значимости показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза для оценки ремиссии СКВ

Показатель, единицы измерения	β-коэффициент	Стандартная ошибка	Критерий Вальда	Критерий значимости
NET-P _{баз} (поздний), %	0,253	0,134	3,585	0,058
NET-P _{ст} (ранний), %	0,313	0,145	4,632	0,031

На основании проведенного анализа были определены пороговые значения для показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с СКВ: NET-P_{баз} (поздний) – 5,5% и NET-P_{ст} (ранний) – 4,5% (рисунок 3).

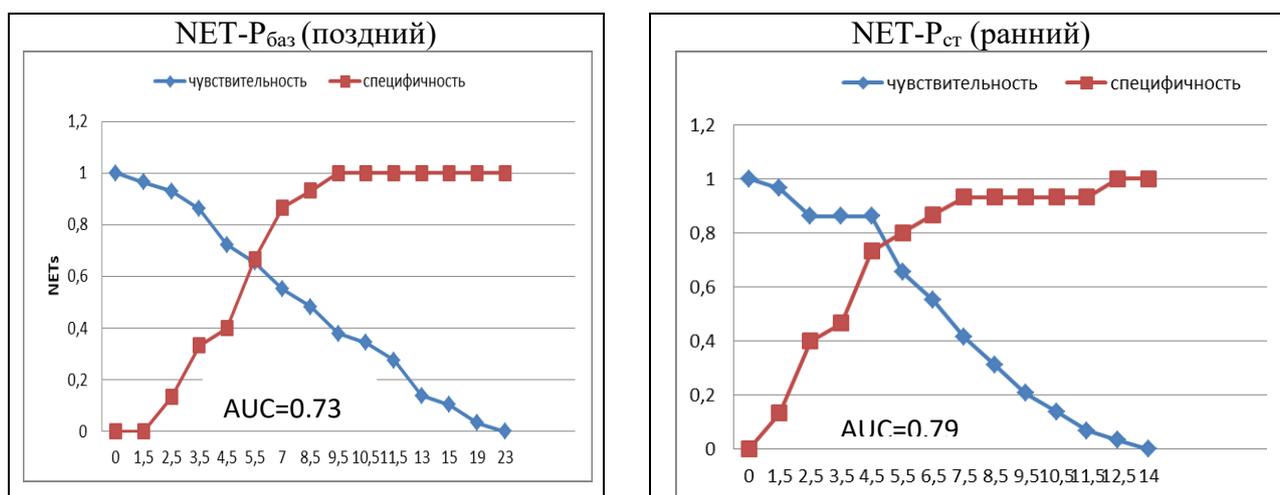


Рисунок 3 – ROC-анализ показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с СКВ

Значения параметров NET-P_{баз} (поздний) < 5,5% и NET-P_{ст} (ранний) < 4,5% свидетельствуют об отсутствии активного воспаления при СКВ. Диагностическая эффективность совокупности показателей составляет 84,1%. Чувствительность и специфичность 66,7% и 93,1% соответственно. При этом, положительная прогностическая ценность находится в пределах 83,3%, отрицательная – 84,4%.

Таким образом, у пациентов с СКВ установлено увеличение параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза относительно здоровых лиц, а также выявлены ассоциации показателей нетоза со степенью активности заболевания, маркерами воспаления и аутоиммунного процесса, количеством тромбоцитов в периферической крови, средним объемом тромбоцитов и их

агрегационной активностью. Показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза возможно использовать в качестве лабораторного критерия оценки наступления ремиссии у пациентов с СКВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Разработан метод оценки нетоза с учетом взаимодействия нейтрофилов с аутологичными тромбоцитами. Установлены оптимальные условия выполнения теста: концентрация тромбоцитов $200 \times 10^9/\text{л}$; концентрация АДФ не менее 2,5 мкг/мл; длительность культивирования 30 и 150 минут для оценки раннего и позднего нетоза соответственно. У здоровых лиц нетоз в присутствии неактивированных тромбоцитов снижался ($p=0,0005$), а в присутствии стимулированных АДФ тромбоцитов повышался ($p=0,012$). Определены референтные диапазоны значений для различных вариантов постановки теста тромбоцит-ассоциированного нетоза: с интактными тромбоцитами (ранний нетоз: 2 (1; 3); поздний нетоз: 4 (2; 5)) и со стимулированными АДФ (2,5 мкг/мл) тромбоцитами (ранний нетоз: 2 (2; 4); поздний нетоза: 3 (2; 4)) [1–А; 7–А; 17–А].

2. У пациентов с РА, относительно здоровых лиц, повышены показатели базального и стимулированного тромбоцит-ассоциированного нетоза как раннего ($p=0,001$ и $p=0,00003$ соответственно), так и позднего ($p=0,00009$ и $p=0,00001$ соответственно). Степень повышения показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза зависела от активности заболевания (максимальна при 3 степени активности, $p=0,007-0,01$ относительно 2 степени активности), функционального класса нарушений опорно-двигательного аппарата (выше у пациентов с ФК2 и ФК3 в сравнении с ФК1, $p=0,002-0,044$), длительности заболевания (максимальные значения при длительности более 5 лет $p=0,036-0,045$), наличия ревматоидного фактора (пациенты серопозитивные по общему РФ имели более высокие значения позднего стимулированного нетоза ($p=0,039$) относительно серонегативных пациентов), количества тромбоцитов в периферической крови и максимальной степени их агрегации (ранний базальный нетоз $r_s=0,58$; $p=0,00002$ и поздний базальный нетоз $r_s=0,39$; $p=0,007$). В период клинической ремиссии наблюдалось снижение параметров стимулированного тромбоцит-ассоциированного нетоза относительно показателей в фазу обострения заболевания (ранний нетоз: $p=0,004$ и поздний нетоз: $p=0,025$) [1–А; 3–А; 5–А; 6–А; 9–А; 10–А; 14–А; 15–А; 18–А; 19–А; 21–А; 22–А].

3. У пациентов с СКВ показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза в 2–3 раза превышали значения здоровых лиц ($p=0,000001-0,0003$).

Максимальные значения тромбоцит-ассоциированного нетоза наблюдались у пациентов со второй степенью активности заболевания ($p=0,001-0,036$ относительно первой и $p=0,007-0,04$ относительно третьей). Параметры тромбоцит-ассоциированного нетоза коррелировали с маркерами воспаления (СОЭ: $r_s=0,74$; $p=0,00002$; $r_s=0,65$; $p=0,0003$; СРБ: $r_s=0,43$; $p=0,049$; $r_s=0,54$; $p=0,01$; фибриноген: $r_s=-0,79$; $p=0,02$; $r_s=-0,74$; $p=0,04$ для раннего и позднего базального нетоза соответственно), маркерами аутоиммунизации (ANA: $r_s=-0,79$; $p=0,007$; $r_s=-0,88$; $p=0,0008$; ЦИК: $r_s=0,58$; $p=0,02$; $r_s=0,51$; $p=0,043$ для раннего и позднего стимулированного нетоза соответственно) и максимальной степенью агрегации тромбоцитов ($r_s=0,47$; $p=0,01$), а у пациентов с низкой степенью активности заболевания — с количеством тромбоцитов в периферической крови ($r_s=0,48$; $p=0,008$). В фазе клинической ремиссии наблюдалось снижение показателей раннего и позднего тромбоцит-ассоциированного нетоза ($p=0,03$ и $p=0,04$ соответственно) [1–А; 2–А; 6–А; 8–А; 9–А; 11–А–14–А; 16–А; 20–А].

4. Показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза являются информативными иммунологическими критериями фазы заболевания (ремиссия/обострение) у пациентов с РА. Значения параметров раннего стимулированного нетоза ниже 3% и позднего стимулированного нетоза ниже 7,5% свидетельствуют о наступлении ремиссии заболевания. Значения параметров раннего стимулированного нетоза равное или более 3% и позднего стимулированного нетоза равное или более 7,5% свидетельствуют о наличии острой фазы воспалительного процесса. Диагностическая эффективность совокупности показателей составляет 78,9%; прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов составляют 73,9% и 81,1% соответственно [4–А; 23–А].

5. Установлены пороговые значения параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза как объективных критериев ремиссии у пациентов с СКВ. Значения показателей позднего базального нетоза менее 5,5% и раннего стимулированного нетоза менее 4,5% свидетельствуют об отсутствии острой фазы воспаления. Показатели позднего базального тромбоцит-ассоциированного нетоза равное или выше 5,5% и раннего стимулированного нетоза равное или выше 4,5% свидетельствуют о наличии острой фазы воспалительного процесса. Диагностическая эффективность совокупности показателей составляет 84,1%; прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов составляют 83,3% и 84,4% соответственно [4–А; 23–А].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Разработан простой и доступный метод оценки тромбоцит-ассоциированного нетоза, основанный на совместном культивировании нефракционированной лейкоцитарной суспензии с аутологичными тромбоцитами с последующей детекцией нейтрофильных внеклеточных ловушек в препаратах, окрашенных по Романовскому–Гимзе [7–А; 23–А].

2. Показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза могут быть использованы как дополнительный объективный критерий определения фазы воспаления у пациентов с РА и СКВ в ситуациях, когда получен клинический ответ, но отсутствует или не убедительна положительная динамика рутинных параметров воспаления (СОЭ и СРБ) или в случаях разнонаправленной клинико-лабораторной динамики [16–А; 23–А].

3. В комплекс иммунологического обследования пациентов с РА и СКВ с целью определения фазы воспаления рекомендовано включать определение параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза в смешанных клеточных культурах суспензии лейкоцитов (концентрация нейтрофилов 5×10^6 /л) и обогащенной тромбоцитами плазмы (концентрация тромбоцитов 200×10^9 /л) с постановкой теста в базальном (с интактными тромбоцитами) и стимулированном (с активированными АДФ (2,5 мкг/мл) тромбоцитами) вариантах и длительностью инкубации 30 (оценка раннего нетоза) и 150 (оценка позднего нетоза) минут [7–А; 16–А; 23–А].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в рецензируемых научных журналах

1–А. Зубкова, Ж. В. Влияние тромбоцитов на формирование нейтрофилами экстрацеллюлярных сетей у пациентов с иммунокомплексной патологией / Ж. В. Зубкова, И. А. Новикова, В. В. Железко // Проблемы здоровья и экологии. – 2016. – № 3 (49). – С.61–66.

2–А. Новикова, И. А. Эффект тромбоцитов на формирование нейтрофилами экстрацеллюлярных сетей у пациентов с системной красной волчанкой / И. А. Новикова, Ж. В. Зубкова // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22, № 6. – С. 1173–1178.

3–А. Зубкова, Ж. В. Морфо-функциональные особенности тромбоцитов у пациентов с ревматоидным артритом / Ж. В. Зубкова, И. А. Новикова // Проблемы здоровья и экологии. – 2021. – № 18 (2). – С. 55–61.

4–А. Зубкова, Ж. В. Тромбоцит-ассоциированный нетоз в мониторинге воспаления при ревматоидном артрите и системной красной волчанке / Ж. В. Зубкова // Проблемы здоровья и экологии. – 2023. – № 20 (4). – С. 87–93.

Статьи в научных сборниках и материалах конференций

5–А. Зубкова, Ж. В. Агрегационные свойства тромбоцитов и эритроцитов при ревматоидном артрите / Ж. В. Зубкова // Проблемы и перспективы развития современной медицины : сб. науч. ст. VI Республиканской науч.-практ. конф. с междунар. участием студентов и молодых ученых, Гомель, 23–24 апреля 2014 г. : в 2 т. / Гомел. гос. мед. ун-т. – Гомель, 2014. – Т. 1. – С. 163–164.

6–А. Зубкова, Ж. В. Агрегационные свойства тромбоцитов при иммунокомплексной патологии / Ж. В. Зубкова // Проблемы и перспективы развития современной медицины : сб. науч. ст. VII Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием студ. и молодых ученых, Гомель, 23–24 апр. 2015 г. : в 4 т. / Гомел. гос. мед. ун-т ; редкол. : А. Н. Лызикив [и др.]. – Гомель, 2015. – Т. 2. – С. 57–59

7–А. Зубкова, Ж. В. Метод оценки влияния тромбоцитов на формирование нейтрофилами экстрацеллюлярных сетей / Ж. В. Зубкова // Проблемы и перспективы развития современной медицины : сб. науч. ст. VIII Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием студентов и молодых ученых, Гомель, 28 апр. 2016 г. / Гомел. гос. мед. ун-т ; редкол. : А. Н. Лызикив [и др.]. – Гомель, 2016. – С. 269–271.

8–А. Зубкова, Ж. В. Влияние тромбоцитов на нетоз у пациентов с системной красной волчанкой в динамике воспалительного процесса / Ж. В. Зубкова // Проблемы и перспективы развития современной медицины: сб. науч. ст. XII Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием студентов и

молодых ученых, Гомель, 8 окт. 2020 г. : в 8 т. / Гомел. гос. мед. ун-т; А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2020. – Т. 4. – С. 180–181. – 1 CD-ROM.

9–А. Зубкова, Ж. В. Тромбоцит-ассоциированный нетоз у пациентов с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями / Ж. В. Зубкова // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 30-летнему юбилею Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 12-13 нояб. 2020 г. : в 5 т. / Гомел. гос. мед. ун-т ; редкол. : И. О. Стома [и др.]. – Гомель, 2020. – Т. 3. – С. 76–78. – 1 CD-ROM.

10–А. Зубкова, Ж. В. Коллаген-индуцированная агрегация тромбоцитов у пациентов с ревматоидным артритом / Ж. В. Зубкова // Проблемы и перспективы развития современной медицины : сб. науч. ст. XIII Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием студентов и молодых ученых, Гомель, 6–7 мая 2021 г. : в 9 т. / Гомел. гос. мед. ун-т ; редкол. : И. О. Стома [и др.]. – Гомель, 2021. – Т. 7. – С. 145–147. – 1 CD-ROM.

11–А. Зубкова, Ж. В. Коллаген-индуцированная агрегация тромбоцитов у пациентов с системной красной волчанкой / Ж. В. Зубкова, М. В. Пак, Н. М. Плотникова // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Гомель, 10 нояб. 2022 г. : в 3 т. / Гомел. гос. мед. ун-т ; редкол. : И. О. Стома [и др.]. – Гомель, 2022. – Т. 3. – С. 57–59. – 1 CD-ROM.

12–А. Зубкова, Ж. В. Параметры тромбоцитов у пациентов с системной красной волчанкой в динамике воспалительного процесса. / Ж. В. Зубкова, И. А. Новикова, С. С. Прокопович // Современный взгляд на проблемы внутренней медицины : сб. науч. тр. по материалам I Междунар. науч.-практ. конф., Курск, 1 дек. 2022 г. / Курск. гос. мед. ун-т ; сост. А. А. Денисов ; отв. ред. Е. М. Хардикова. – Курск, 2022. – С. 106–108.

13–А. Зубкова, Ж. В. Взаимосвязь параметров тромбоцитов и маркеров аутоиммунизации и воспаления у пациентов с системной красной волчанкой. / Ж.В. Зубкова, И.А. Новикова, К.С. Макеева // Современный взгляд на проблемы внутренней медицины: сборник научных трудов по материалам I Международной научно-практической конференции (Курск, 01 декабря 2022 года) / Курский гос. мед. ун-т, сост. А.А. Денисов; отв. ред. Е.М. Хардикова. – Курск: КГМУ, 2022. – С.109–111.

14–А. Зубкова, Ж. В. Морфологические параметры тромбоцитов у пациентов с системными заболеваниями соединительной ткани / Ж. В. Зубкова // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2023. – Т. 12, № 2 прил. [Материалы IX Республиканского Конгресса специалистов клинической лабораторной диагностики Республики Беларусь, Минск, 18–19 мая 2023 г. / под ред. В. С. Камышникова]. – С. 79–80.

15–А. Зубкова, Ж. В. Тромбоцит-ассоциированный нетоз у пациентов с ревматоидным артритом / Ж. В. Зубкова, И. А. Новикова, М. В. Пак // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Гомель, 10 нояб. 2023 г. : в 3 т. / Гомел. гос. мед. ун-т ; редкол. : И. О. Стома [и др.]. – Гомель, 2023. – Т. 2. – С. 3–5. – 1 CD-ROM.

Тезисы докладов

16–А. Зубкова, Ж. В. Влияние тромбоцитов на процесс нетоза у пациентов с системными заболеваниями соединительной ткани / Ж. В. Зубкова // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2016. – Прил. [Материалы VIII Съезда врачей клиничко-лабораторной службы Министерства здравоохранения Республики Беларусь / под ред. В. С. Камышникова]. – С. 92–93.

17–А. Зубкова, Ж. В. Эффект аутологичной плазмы на формирование нейтрофилами внеклеточных ловушек / Ж. В. Зубкова // Современные проблемы радиационной медицины: от науки к практике : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Гомель, 19 июня 2020 г. / под ред. А. В. Рожко. – Гомель, 2020. – С. 97–98.

18–А. Железко, В. В. Нетоз у пациентов с иммуновоспалительными ревматическими заболеваниями / В. В. Железко, Ж. В. Зубкова // Современные проблемы радиационной медицины: от науки к практике : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Гомель, 19 июня 2020 г. / под ред. А. В. Рожко. – Гомель, 2020. – С. 95–96.

19–А. Зубкова, Ж. В. Взаимосвязь тромбоцитов и маркеров аутоиммунизации у пациентов с ревматоидным артритом / Ж. В. Зубкова // Актуальні питання виявлення та лікування алергічних захворювань : тези за матеріалами ІХ Міжнародної наук.-практ. конф. алергологів Слобожанщини, Харків, 9 квітня 2021 р. – Харків, 2021. – С. 57–58.

20–А. Zubkova, Z. The relationship of markers of the autoimmune process with the morphofunctional properties of platelets in patients with systemic lupus erythematosus / Z. Zubkova, I. Novikova // Медицина ХХІ сторіччя : матеріали 83-го всеукраїнського наукового медичного конгресу студентів та молодих вчених (з міжнародною участю). – Краматорськ, 2021. – С. 229.

21–А. Зубкова, Ж. В. Количественные и функциональные свойства тромбоцитов у пациентов с ревматоидным артритом в динамике воспалительного процесса / Ж. В. Зубкова // Современные проблемы радиационной медицины: от науки к практике : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Гомель, 29 апр. 2021 г. / под ред. А. В. Рожко. – Гомель, 2021. – С. 121–122.

22–А. Зубкова, Ж. В. Эффект тромбоцитов *ин витро* на формирование нейтрофилами крови экстрацеллюлярных сетей у пациентов с ревматоидным

артритом / Ж. В. Зубкова, И. А. Новикова, Т. В. Киселева // Современные проблемы радиационной медицины: от науки к практике : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Гомель, 26-27 окт. 2023 г. / под ред. А. В. Рожко. – Гомель, 2023. – С. 104–105.

Инструкция по применению

23–А. Метод определения фазы воспаления у пациентов с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой : инструкция по применению № 001-0124 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 24.06.2024 г. / Новикова И. А., Зубкова Ж. В., Петренко Т. С. ; Гомел. гос. мед. ун-т, Гомел. обл. клин. больница. – Гомель, 2023. – 7 с.

РЭЗІЮМЭ

Зубкова Жанна Васільеўна

Трамбацыт-асацыяваны нетоз у пацыентаў з рэўматоідным артрытам і сістэмнай чырвонай ваўчанкай

Ключавыя словы: трамбацыт-асацыяваны нетоз, рэўматоідны артрыт (РА), сістэмная чырвоная ваўчанка (СЧВ)

Аб'ект даследавання: пацыенты з РА, СЧВ.

Прадмет даследавання: паказчык нетозу ва ўмовах сокультивіравання нейтрафілаў з аўталагічнымі трамбацытамі.

Мэта даследавання: распрацаваць тэст-сістэму для ацэнкі нетатычнай актыўнасці нейтрафілаў крыві ва ўмовах іх сакультивавання *in vitro* з аўталагічнымі трамбацытамі абгрунтаваць яе прымяненне ў якасці імуналагічнага метаду кантролю актыўнасці запаленчага працэсу ў пацыентаў з РА і СЧВ.

Метады даследавання: імуналагічныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: Распрацаваны метады ацэнкі параметраў трамбацыт-асацыяванага нетозу. Выяўлены павышэнне ўзроўняў трамбацыт-асацыяванага нетозу ў пацыентаў з РА і СЧВ, а таксама іх узаемасувязь з клінічна-лабараторнымі асаблівасцямі захворванняў (актыўнасці захворвання, функцыянальнага класа парушэнняў апорна-рухальнага апарату, працягласці захворвання, наяўнасці рэўматоіднага фактару, колькасці і функцыянальнай актыўнасці трамбацытаў у пацыентаў з РА і актыўнасцю захворвання, маркерамі запалення і аўтаімунных працэсаў, а таксама з колькасцю і агрэгатыўнай актыўнасцю трамбацытаў у пацыентаў з СЧВ). Даказана, што паказчыкі трамбацыт-асацыяванага нетозу мэтазгодна выкарыстоўваць як дадатковыя лабараторныя параметры ў маніторынгу запалення ў пацыентаў з РА і СЧВ. Распрацаваны крытэрыі ацэнкі надыходу рэмісіі на падставе вызначэння параметраў трамбацыт-асацыяванага нетозу ў якасці дадатковага аб'ектыўнага метаду даследавання.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: ацэнка фазы запалення ў пацыентаў з РА і СЧВ на падставе паказчыкаў трамбацыт-асацыяванага нетозу.

Галіна прымянення: клінічная імуналогія, клінічная лабараторная дыягностыка, рэўматалогія.

РЕЗЮМЕ

Зубкова Жанна Васильевна

Тромбоцит-ассоциированный нетоз у пациентов с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой

Ключевые слова: тромбоцит-ассоциированный нетоз, ревматоидный артрит (РА), системная красная волчанка (СКВ)

Объект исследования: пациенты с РА и СКВ.

Предмет исследования: показатель нетоза в условиях сокультивирования нейтрофилов с аутологичными тромбоцитами.

Цель исследования: разработать тест-систему для оценки нетотической активности нейтрофилов крови в условиях их сокультивирования *in vitro* с аутологичными тромбоцитами и обосновать ее применение в качестве иммунологического метода контроля активности воспалительного процесса у пациентов с РА и СКВ.

Методы исследования: иммунологические.

Полученные результаты и их новизна. Разработан метод оценки параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза. Выявлены повышение уровней тромбоцит-ассоциированного нетоза у пациентов с РА и СКВ, а также их взаимосвязь с клинико-лабораторными особенностями заболеваний (активности заболевания, функционального класса нарушений опорно-двигательного аппарата, длительности заболевания, наличия ревматоидного фактора, количества и функциональной активности тромбоцитов у пациентов с РА и активностью заболевания, маркерами воспаления и аутоиммунных процессов, а также с количеством и агрегационной активностью тромбоцитов у пациентов с СКВ). Доказано, что показатели тромбоцит-ассоциированного нетоза целесообразно использования как дополнительные лабораторные параметры в мониторинге воспаления у пациентов с РА и СКВ. Разработаны критерии оценки наступления ремиссии на основании определения параметров тромбоцит-ассоциированного нетоза в качестве дополнительного объективного метода исследования.

Рекомендации по использованию: оценка фазы воспаления у пациентов с РА и СКВ на основании показателей тромбоцит-ассоциированного нетоза.

Область применения: клиническая иммунология, клиническая лабораторная диагностика, ревматология.

SUMMARY

Zubkova Zhanna Vasilievna

Platelet-associated netosis in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus

Key words: platelet-associated netosis, rheumatoid arthritis (RA), systemic lupus erythematosus (SLE)

Object of study: patients with RA, SLE.

Subject of study: parameters of netosis in conditions of co-cultivation of neutrophils with autologous platelets.

The aim of the study was to develop a test system for assessing the netotic activity of blood neutrophils in conditions of their co-cultivation *in vitro* with autologous platelets and to justify its use as an immunological method for monitoring the activity of the inflammatory process in patients with RA and SLE.

Methods: immunological.

Obtained results and their novelty. A method of evaluation of platelet-associated netosis parameters was developed. Increased levels of platelet-associated netosis in patients with RA and SLE, as well as their correlation with clinical and laboratory features of the diseases (disease activity, functional class of musculoskeletal disorders, disease duration, the presence of rheumatoid factor, the number and functional activity of platelets in patients with RA and disease activity, markers of inflammation and autoimmune processes, as well as with the number and aggregation activity of platelets in patients with SLE) were revealed. It is proved that platelet-associated netosis parameters should be used as additional laboratory parameters in monitoring inflammation in patients with RA and SLE. The criteria of remission onset assessment based on the determination of platelet-associated netosis parameters as an additional objective method of research have been developed.

Recommendations for use: assessment of the inflammatory phase in patients with RA and SLE on the basis of platelet-associated netosis indices.

Field of application: clinical immunology, clinical laboratory diagnostics, rheumatology.

Научное издание

Зубкова Жанна Васильевна

**ТРОМБОЦИТ-АССОЦИИРОВАННЫЙ НЕТОЗ У ПАЦИЕНТОВ
С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И СИСТЕМНОЙ
КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ**

Автореферат

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

по специальности – 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

Подписано в печать 02.05.2025.

Формат 60×84^{1/16}. Бумага офсетная 80 г/м². Гарнитура Times New Roman.
Усл. печ. л. 1,63. Уч.-изд. л. 1,43. Тираж 65 экз. Заказ № 269.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/46 от 03.10.2013.
ул. Ланге, 5, 246000, Гомель