BY 4.0

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ / ORIGINAL INVESTIGATIONS

Сывороточный кальпротектин при васкулитах, ассоциированных с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами

Воркель Е.Н.[1], Решетняк Т.М.[1,2], Нурбаева К.С.[1,2], Черкасова М.В.[1], Тарасова Г.М.[1], Егорова О.Н.[1], Лила А.М.[1,2]

[1]ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва;
[2]кафедра ревматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

[1]Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А; [2]Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Ассоциированные с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА) системные васкулиты (АНЦА-СВ) – группа редких и потенциально тяжелых системных заболеваний. Поиск надежных методов оценки активности АНЦА-СВ остается актуальным. Среди показателей активации нейтрофильного звена, появившихся в клинической практике, выделяют уровень сывороточного кальпротектина (КЛП), который может быть маркером для мониторинга активности васкулита и выявления пациентов с риском рецидива заболевания.

***Цель** исследования – оценить уровень сывороточного КЛП у пациентов с АНЦА-СВ.*

***Материал и методы.** В исследуемую группу включено 64 пациента (37 – с гранулематозом с полиангиитом, 11 – с эозинофильным гранулематозом с полиангиитом и 16 – с микроскопическим полиангиитом) в возрасте 18 лет и старше с достоверным диагнозом АНЦА-СВ. Контрольную группу составили 30 здоровых лиц. Для определения активности АНЦА-СВ использовали индекс BVAS; высокая активность соответствовала значению BVAS >3. Повреждение оценивали с помощью индекса VDI. В зависимости от активности АНЦА-СВ больные были разделены на две группы: с высокой (1-я группа, n=33) и низкой (2-я группа, n=31) активностью. Кроме общепринятых показателей, у всех пациентов с АНЦА-СВ и здоровых доноров исследовали уровень сывороточного КЛП.*

***Результаты и обсуждение.** Были выявлены статистически значимые различия (p<0,001) концентрации КЛП у пациентов с АНЦА-СВ в 1-й и 2-й группах. Отмечена значимая корреляция уровня КЛП с количеством лейкоцитов, нейтрофилов, отношением нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), системным индексом воспаления (SII). Содержание КЛП в крови при АНЦА-СВ было связано с уровнем креатинина и не ассоциировалось со скоростью клубочковой фильтрации и мочевым осадком. Хотя уровень КЛП зависел от активности заболевания, он не коррелировал с острофазовыми показателями, включая СОЭ и концентрацию СРБ.*

***Заключение.** Уровень сывороточного КЛП значимо выше у пациентов с активным АНЦА-СВ и связан с индексами воспаления NLR и SII, что позволяет рассматривать возможность использования данного показателя для оценки активности заболевания.*

***Ключевые слова:** васкулит, ассоциированный с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами; активность; кальпротектин; маркеры воспаления; нейтрофилы.*

Контакты:** Татьяна Магомедалиевна Решетняк; **reshetnyak.tatjana@yandex.ru

***Для ссылки:** Воркель ЕН, Решетняк ТМ, Нурбаева КС, Черкасова МВ, Тарасова ГМ, Егорова ОН, Лила АМ. Сывороточный кальпротектин при васкулитах, ассоциированных с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами. Современная ревматология. 2024;18(4):66–73. **DOI:** 10.14412/1996-7012-2024-4-66-73*

Serum calprotectin in vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies

Vorkel E.N.[1], Reshetnyak T.M.[1,2], Nurbaeva K.S.[1,2], Cherkasova M.V.[1], Tarasova G.M.[1], Egorova O.N.[1], Lila A.M.[1,2]

[1]V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow; [2]Department of Rheumatology Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia, Moscow

[1]34A, Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia; [2]2/1, Barrikadnaya Street, Build. 1, Moscow 125993, Russia

Antineutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis (ANCA-SV) is a group of rare and potentially severe systemic diseases. The search for reliable methods to assess ANCA-SV activity remains relevant. Among the indicators of neutrophil activation that have emerged in clinical practice, the level of serum calprotectin (CLP) stands out, which can be a marker for monitoring vasculitis activity and identifying patients at risk of disease relapse.

***Objective:** to determine serum CLP levels in patients with ANCA-SV.*

***Material and methods.** The study group comprised 64 patients (37 with granulomatosis with polyangiitis, 11 with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis and 16 with microscopic polyangiitis) aged 18 years and older with a confirmed diagnosis of ANCA-SV. The control group consisted of 30 healthy individuals. ANCA-SV activity was determined using the BVAS index; high activity corresponded to a BVAS value of >3.*

Damage was assessed using the VDI index. Depending on ANCA-SV activity, patients were divided into two groups: high activity group (group 1, n=33) and low activity group (group 2, n=31). In addition to the generally accepted indicators, serum CLP levels were assessed in all patients with ANCA-SV and healthy donors.

Results and discussion. *Statistically significant differences (p<0.001) were found in CLP levels in patients with ANCA-SV in groups 1 and 2. A significant correlation was found between CLP concentration and leukocyte count, neutrophil count, neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and systemic inflammatory index (SII). Blood CLP levels in ANCA-SV were associated with creatinine levels and not with glomerular filtration rate and urinary sediment. Although CLP concentration depended on disease activity, it did not correlate with acute phase indicators, including ESR and CRP concentration.*

Conclusion. *Serum CLP concentration is significantly higher in patients with active ANCA-SV and is related to NLR and SII inflammatory indices, so we consider the possibility of using this indicator to assess disease activity.*

Keywords: *vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies; activity; calprotectin; inflammatory markers; neutrophils.*
Contact: *Tatyana Magomedalievna Reshetnyak;* ***reshetnyak.tatjana@yandex.ru***
For reference: *Vorkel EN, Reshetnyak TM, Nurbaeva KS, Cherkasova MV, Tarasova GM, Egorova ON, Lila AM. Serum calprotectin in vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies. Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal. 2024;18(4):66–73.*
DOI: *10.14412/1996-7012-2024-4-66-73*

Ассоциированные с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА) системные васкулиты (АНЦА-СВ) – группа редких и потенциально тяжелых системных заболеваний, характеризующихся некротизирующим васкулитом мелких сосудов с аутоантителами, направленными против компонентов цитоплазмы нейтрофилов – протеиназы 3 (ПР3) и миелопероксидазы (МПО) [1, 2]. К АНЦА-СВ относятся гранулематоз с полиангиитом (ГПА), микроскопический полиангиит (МПА), эозинофильный гранулематоз с полиангиитом (ЭГПА) [3], при которых наблюдаются полиорганное поражение и фатальный прогноз в отсутствие своевременного адекватного лечения.

Оценка активности, а также прогнозирование рецидивов и осложнений у пациентов с АНЦА-СВ остается сложной задачей. Ценность АНЦА как диагностических маркеров не вызывает сомнений, однако их роль как маркера активности и рецидива заболевания остается спорной [4]. АНЦА обнаруживаются в крови даже в период полной клинической ремиссии и необязательно выявляются при рецидиве АНЦА-СВ, несмотря на высокую активность васкулита [5]. Маркеры воспаления, такие как СРБ и СОЭ, широко используемые в клинической практике, обладают низкой чувствительностью для мониторинга активности заболевания [4]. Таким образом, в связи с ключевым значением ранней диагностики и своевременного начала адекватного лечения важной задачей является поиск надежных методов оценки активности АНЦА-СВ до развития необратимых повреждений органов.

Считается, что основная роль в патогенезе АНЦА-СВ принадлежит гиперактивации нейтрофилов [1, 6]. Эти заболевания можно рассматривать как модель болезни, связанной с дисфункцией нейтрофилов. Со времен И.И. Мечникова нейтрофильная реакция считается универсальным признаком воспаления. В середине прошлого столетия появилось большое число методов для измерения параметров, характеризующих функцию нейтрофильных гранулоцитов [7]. Среди показателей активации нейтрофильного звена, применяемых в клинической практике, можно выделить уровень сывороточного кальпротектина (КЛП). Он принадлежит к семейству белков S100 (S100A8/A9 и S100A12), высвобождаемых активированными нейтрофилами и моноцитами во время воспаления, играет ключевую роль во врожденном иммунитете [8]. КЛП является хорошим системным индикатором локального воспаления при хронических воспалительных процессах, связанных с нейтрофилами [9, 10]. При АНЦА-СВ фагоциты высвобождают этот белок после их взаимодействия с активированным воспаленным эндотелием [11]. КЛП усиливает воспаление за счет активации Toll-подобного рецептора 4 и рецептора конечных продуктов гликирования белков (Receptor for Advanced Glycation End Products, RAGE) [12]. Показаны повышение уровня циркулирующего КЛП и его экспрессия на поверхности нейтрофилов и моноцитов у пациентов с АНЦА-СВ, имеющих высокую активность заболевания [13–17]. Кроме того, уровень КЛП не нормализуется и во время ремиссии [12, 16, 18], что может свидетельствовать о сохранении субклинического воспаления. В одном из исследований в биоптате почки наблюдалась инфильтрация клубочков КЛП-положительными лейкоцитами у пациентов с активным АНЦА-СВ [13]. Степень воспаления клубочков была тесно связана с выраженностью экспрессии КЛП, что подтверждает его роль в качестве медиатора воспаления при этом заболевании. Результаты некоторых исследований позволяют предположить, что сывороточный КЛП является прогностическим биомаркером последующего ухудшения функции почек и рецидивов у пациентов с ремиссией или низкой активностью АНЦА-СВ [15, 16]. Эти характеристики делают КЛП потенциально важным медиатором сосудистого воспаления и повреждения тканей при АНЦА-СВ. Сывороточный КЛП представляет интерес для мониторинга активности васкулита и выявления пациентов с риском рецидива заболевания во время поддерживающего лечения.

Цель исследования – оценить уровень сывороточного КЛП у пациентов с АНЦА-СВ.

Материал и методы

Характеристика пациентов. В проспективное одномоментное исследование включено 64 пациента (37 – с ГПА, 11 – с ЭГПА, 16 – с МПА) с достоверным диагнозом АНЦА-СВ, среди которых преобладали женщины (n=44, 69%). В качестве здорового контроля обследовано 30 доноров (22 женщины и 8 мужчин). Медиана возраста больных составила 53 [39,5; 63] года, лиц контрольной группы – 30 [25; 37] лет. Ни у одного из пациентов на момент включения в исследование не было активных инфекционных болезней,

Таблица 1. Характеристика пациентов с АНЦА-СВ
Table 1. Characteristics of patients with ANCA-SV

Показатель	ГПА (n=37)	ЭГПА (n=11)	МПА (n=16)	Всего (n=64)	p
Возраст, годы, Me [25-й; 75-й перцентили]	52 [36; 60]	53 [42; 66]	57 [43; 65,5]	53 [39,5; 63]	0,3
Пол, мужчины/женщины, n	13/24	5/6	2/14	20/44	>0,05
Возраст дебюта заболевания, годы, [25-й; 75-й перцентили]	49 [33,5; 56]	51 [37; 65]	51 [37,5; 64]	51 [35; 59]	0,6
Длительность заболевания, мес, [25-й; 75-й перцентили]	23,5 [15; 55,5]	22 [15; 50]	43,5 [18,5; 64]	29 [16; 53]	0,45

злокачественных новообразований и других аутоиммунных заболеваний, которые также могли повышать уровень КЛП.

Письменное информированное добровольное согласие получено от всех участников до включения в исследование. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» (НИИР им. В.А. Насоновой; протокол №11 от 26.09.2023).

Диагноз АНЦА-СВ соответствовал критериям ACR (American College of Rheumatology) и/или классификации, принятой на конференции в Чапел-Хилле в 2012 г. [3], классификационным критериям ГПА и ЭГПА, предложенным ACR в 1990 г. [19, 20], а также критериям ACR/EULAR (European Alliance of Associations for Rheumatology) 2022 г. [21–23]. Диагноз был подтвержден при морфологическом исследовании более чем у трети больных (37,5%). Для определения активности АНЦА-СВ использовали общепринятый международный Бирмингемский индекс активности заболевания (Birmingham Vasculitis Activity Score, BVAS, версия 3) [24]. Высокая активность АНЦА-СВ соответствовала значению BVAS >3 баллов. Повреждение оценивали с помощью индекса VDI (Vasculitis Damage Index) [25]. Демографическая и клиническая характеристика пациентов с АНЦА-СВ на момент включения в исследование представлена в табл. 1 и на рис. 1. Во всех группах АНЦА-СВ преобладали женщины (см. табл. 1). Больные не различались по возрасту дебюта и длительности заболевания. Поражение кожи и нервной системы при ЭГПА отмечалось значимо чаще, чем при ГПА. Вовлечение почек при МПА выявлялось значимо чаще (в 100% случаев), чем при ГПА (46%) и ЭГПА (36%). ГПА было свойственно повреждение органа зрения, которое наблюдалось почти у половины больных. Вовлечение верхних дыхательных путей имелось у подавляющего большинства больных ГПА (97%) и ЭГПА (82%) и у значительно меньшей части пациентов с МПА (44%; см. рис. 1).

АНЦА к ПР3 значимо чаще обнаруживали при ГПА. Антитела к МПО были более специфичны для МПА и ЭГПА. Значения BVAS и VDI в этих группах пациентов существенно не различались (табл. 2).

В терапии АНЦА-СВ также не выявлено значимых различий (табл. 3).

Лабораторные методы. Обследование проводили на базе НИИР им. В.А. Насоновой. Использовали общепринятые методы, согласно стандартам, кроме того, у пациентов и здоровых доноров в общем анализе крови определяли нейтрофильную реактивность (neutrophil reactivity, NEUT-RI), нейтрофильную гранулярность (neutrophil granularity, NEUT-GI), уровень незрелых гранулоцитов (immature granulocytes, IG) с помощью автоматического гематологического анализатора XN 1000 (Sysmex, Япония). СОЭ оценивали по Вестергрену (норма ≤20 мм/ч). Нейтрофильно-лимфоцитарное соотношение (neutrophil to lymphocyte ratio, NLR) рассчитывали по

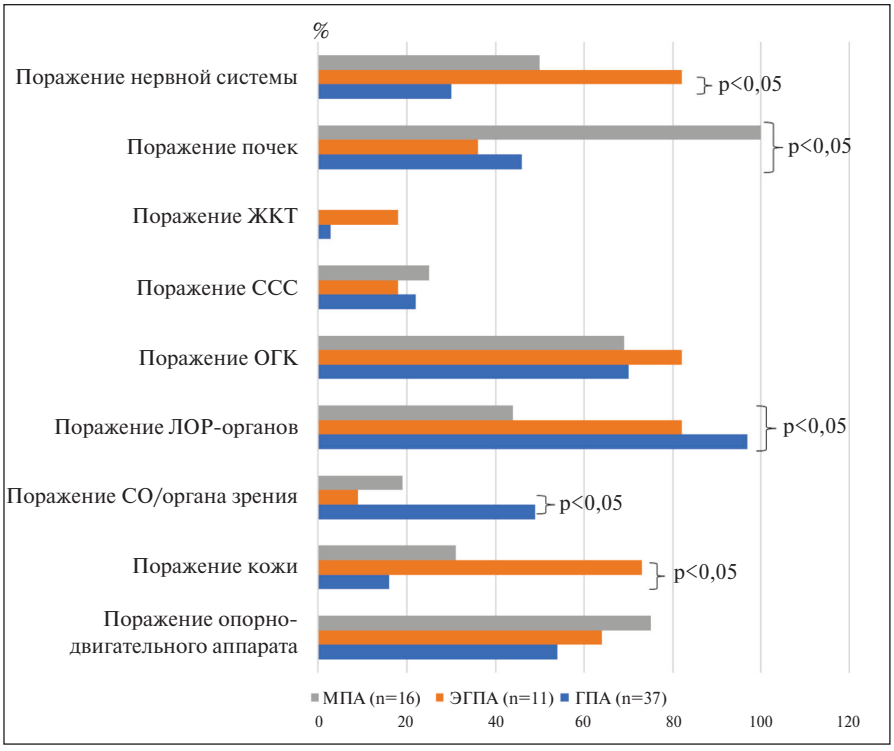

Рис. 1. *Клиническая характеристика пациентов с АНЦА-СВ. ЖКТ – желудочно-кишечный тракт; ССС – сердечно-сосудистая система; ОГК – органы грудной клетки; СО – слизистая оболочка*

Fig. 1. *Clinical characteristics of patients with ANCA-SV. ЖКТ – gastrointestinal tract; ССС – cardiovascular system; ОГК – chest organs; СО – mucosa*

Таблица 2. Лабораторные показатели у пациентов с АНЦА-СВ
Table 2. Laboratory parameters in patients with ANCA-SV

Показатель	ГПА (n=37), *1*	ЭГПА (n=11), *2*	МПА (n=16), *3*	Всего (n=64)	p
АНЦА-ПР3, n, %	25 (68)	1 (9)	4 (25)	30 (47)	$p_{1–2}$=0,002 $p_{1–3}$=0,01 $p_{2–3}$=0,59
АНЦА-МПО, n, %	4 (11)	7 (64)	11 (69)	22 (34,4)	$p_{1–2}$=0,0011 $p_{1–3}$<0,001 $p_{2–3}$=0,89
АНЦА-позитивные (без определенной специфичности), n, %	2 (5)	0	1 (6)	3 (4,6)	$p_{1–2}$=0,94 $p_{1–3}$=0,6 $p_{2–3}$=0,85
АНЦА-негативные, n, %	6 (16)	3 (27)	0	9 (14)	$p_{1–2}$=0,7 $p_{1–3}$=0,22 $p_{2–3}$=0,11
BVAS, Me [25-й; 75-й перцентили]	5 [0; 7]	3 [0; 9]	3 [0; 8,5]	4 [0; 7,5]	p>0,05
VDI, Me [25-й; 75-й перцентили]	2 [1; 3]	1 [0; 3]	1,5 [0; 3,5]	2 [0; 3]	p>0,05

Таблица 3. Лекарственная терапия у пациентов с АНЦА-СВ на момент включения в исследование, n (%)
Table 3. Drug therapy in patients with ANCA-SV at enrolment in the study, n (%)

Показатель	ГПА (n=37), *1*	ЭГПА (n=11), *2*	МПА (n=16), *3*	Всего (n=64)	p
ГК	35 (94,6)	9 (82)	15 (94)	59 (92)	$p_{1–2}$=0,47 $p_{1–3}$=0,6 $p_{2–3}$=0,73
ЦФ	1 (2,7)	0	2 (12,5)	3 (4,7)	$p_{1–2}$=0,51 $p_{1–3}$=0,44 $p_{2–3}$=0,64
ММФ	9 (24,3)	1 (9)	4 (25)	14 (22)	$p_{1–2}$=0,5 $p_{1–3}$=0,77 $p_{2–3}$=0,59
МТ	3 (8)	2 (18)	0	5 (7,8)	$p_{1–2}$=0,69 $p_{1–3}$=0,6 $p_{2–3}$=0,37
АЗА	3 (8)	3 (27)	2 (12,5)	8 (12,5)	$p_{1–2}$=0,24 $p_{1–3}$=0,99 $p_{2–3}$=0,64
РТМ	17 (46)	6 (54,5)	10 (62,5)	33 (52)	$p_{1–2}$=0,87 $p_{1–3}$=0,42 $p_{2–3}$=0,99
Без терапии	1 (2,7)	1 (9)	1 (6,25)	3 (4,7)	$p_{1–2}$=0,94 $p_{1–3}$=0,87 $p_{2–3}$=0,64

Примечание. Здесь и в табл. 5: ГК – глюкокортикоиды; ЦФ – циклофосфамид; ММФ – микофенолата мофетил; МТ – метотрексат; АЗА – азатиоприн; РТМ – ритуксимаб.

формуле: абсолютное число нейтрофилов/абсолютное число лимфоцитов. Системный иммуновоспалительный индекс (systemic immune-inflammation index, SII) вычисляли по формуле: абсолютное число нейтрофилов × абсолютное число тромбоцитов/абсолютное число лимфоцитов.

Для определения КЛП у больных АНЦА-СВ и здоровых доноров использовали набор реагентов Bulhamann Laboratoris AG (Швейцария). У пациентов с АНЦА-СВ исследовали уровень СРБ в сыворотке крови (норма ≤5 мг/л) с помощью высокочувствительного иммунонефелометрического метода на автоматическом анализаторе Siemens (Германия). Специфичность АНЦА (наличие антител к ПР3 или МПО) изучали с помощью иммуноферментного анализа. Всем пациентам проводилось стандартное исследование биохимических показателей крови.

Статистические методы. Статистическая обработка данных выполнялась на персональном компьютере с использованием пакета статистического анализа данных Statistica 10.0 for Windows (StatSoft Inc., США). Числовые данные представлены как среднее значение и стандартное отклонение (M±σ; минимальное-максимальное значение) или как медиана и интерквартильный интервал (Me [25-й; 75-й пер-

центили]) при ненормальном распределении. Категориальные значения выражены в процентах. При оценке независимых групп использовался тест Шапиро–Уилка, который позволяет установить, является ли распределение переменных нормальным. Сравнение количественных данных двух групп проводили с помощью Т-критерия Стьюдента или U-критерия Манна–Уитни. Для сравнения двух и более групп применяли тест Краскела–Уоллиса для параметров, распределение которых отличалось от нормального. Корреляционный анализ выполняли с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена. Критерий χ^2 с поправкой Йейтса использовался для оценки категорийных данных. 95-й перцентиль контрольной группы (здоровые лица) применялся для определения порогового значения для высоких уровней КЛП. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Таблица 4. Параметры воспаления в исследуемых группах, Me [25-й; 75-й перцентили]
Table 4. Inflammatory parameters in the study groups, Me [25th; 75th percentile]

Показатель	АНЦА-СВ (n=64)	Контрольная группа (n=30)	p
КЛП, мкг/мл	3,66 [2,67; 7,6]	2,9 [2,18; 3,93]	0,078
Лейкоциты, $\cdot 10^9$/л	9,05 [6,9; 11,8]	5,65 [4,8; 7]	<0,001
Нейтрофилы, $\cdot 10^9$/л	5,56 [3,5; 7,6]	3,06 [2,7; 3,89]	<0,001
NLR	2,3 [1,5; 3,6]	1,74 [1,41; 2]	0,0078
SII	714,7 [440,4; 1051]	414,97 [293,9; 503,8]	<0,001
NEUT-RI, FI	44,1 [42,3; 45,4]	42,5 [41,3; 44,6]	0,069
NEUT-GI, SI	153,5 [151,8; 156,4]	149,8 [149,1;152]	<0,001
IG, $\cdot 10^9$/л	0,05 [0,03; 0,11]	0,01 [0,01; 0,02]	<0,001

Примечание. Здесь и в табл. 6: FI – интенсивность флюоресценции; SI – интенсивность рассеивания.

Таблица 5. Характеристика пациентов и лекарственная терапия в зависимости от активности АНЦА-СВ
Table 5. Characteristics of patients and drug therapy depending on ANCA-SV activity

Показатель	Активная форма АНЦА-СВ (n=33)	Неактивная форма АНЦА-СВ (n=31)	p
Возраст, годы, Me [25-й; 75-й перцентили]	54 [36; 63]	52 [41; 63]	0,95
Пол, мужчины/женщины, n	14/19	6/25	0,085
Возраст дебюта заболевания, годы, [25-й; 75-й перцентили]	51,5 [34,5; 61,5]	50 [36; 57]	0,83
Длительность заболевания, мес, [25-й; 75-й перцентили]	18 [5,5; 50,5]	42 [10; 63]	0,012
АНЦА-ПР3, n (%)	18 (55)	12 (39)	0,3
АНЦА-МПО, n (%)	11 (33)	11 (35)	0,9
АНЦА-позитивность (без определенной специфичности), n (%)	2 (6)	1 (3)	0.96
АНЦА-негативные, n (%)	2 (6)	7 (23)	0,12
BVAS, Me [25-й; 75-й перцентили]	7 [6; 12]	0 [0; 1]	<0,001
VDI, Me [25-й; 75-й перцентили]	1 [0; 3]	3 [1; 4]	0,0036
Терапия на момент включения, n (%):			
ГК	29 (88)	30 (97)	0,39
ЦФ	3 (9)	0	0,26
ММФ	4 (12)	10 (32)	0,1
МТ	3 (9)	2 (6,5)	0,94
АЗА	4 (12)	4 (13)	0,9
РТМ	7 (21)	26 (84)	<0,001
не проводилась	2 (6)	1 (3)	0,96

Результаты

Уровень КЛП в крови у пациентов с АНЦА-СВ. Уровень КЛП по 95-му перцентилю у 30 здоровых доноров составил 7,17 мкг/мл, более высокая концентрация считалась повышенной. В зависимости от полученного значения больные с АНЦА-СВ были разделены на две группы. В 1-ю группу включено 19 пациентов с уровнем КЛП >7,17 мкг/мл; во 2-ю группу – 45 пациентов с уровнем КЛП <7,17 мкг/мл. При ГПА уровень КЛП >7,17 мкг/мл выявлен у 12 (32%) больных, при ЭГПА – у 2 (18%), при МПА – у 5 (31%). При сравнении фенотипов АНЦА-СВ не обнаружено статистически значимых различий в содержании КЛП. Это позволяет предположить, что активация нейтрофилов происходит при сходных уровнях. Лабораторные показатели и клинические проявления у больные с нормальным и повышенным уровнем КЛП были практически идентичными.

Уровень КЛП в крови у больных АНЦА-СВ и здоровых доноров значимо не различался ($p=0,078$) и не зависел от пола и возраста ($p=0,4$, $r=0,107$), длительности заболевания ($p=0,8$, $r=0,03$) и специфичности АНЦА ($p=0,63$). При АНЦА-

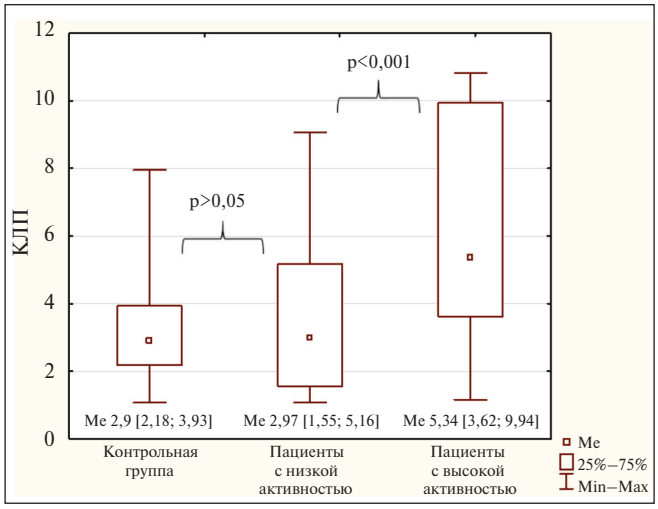

Рис. 2. *Уровень КЛП у пациентов с АНЦА-СВ и в контрольной группе. Высокая активность АНЦА-СВ – BVAS >3, низкая активность – BVAS ≤3*

Fig. 2. *CLP levels in patients with ANCA-SV and in the control group. High activity of ANCA-SV – BVAS >3, low activity – BVAS ≤3*

СВ наблюдались статистически значимо более высокие уровни лейкоцитов, нейтрофилов, IG, NLR, SII, NEUT-GI по сравнению с таковыми в контрольной группе (табл. 4).

Наблюдалась корреляция между уровнем КЛП в крови и общим количеством лейкоцитов (r=0,34; p=0,006), нейтрофилов (p=0,004, r=0,36), NLR (p=0,004, r=0,35), SII (p=0,007, r=0,33). Уровень КЛП в крови при АНЦА-СВ коррелировал также с концентрацией креатинина (p=0,026, r=0,28), но связи со скоростью клубочковой фильтрации – СКФ (p=0,51, r=-0,085), мочевым осадком и острофазовыми показателями, включая СОЭ и СРБ (p=0,17, r=0,17 и p=0,056, r=0,254 соответственно), не выявлено.

Уровень КЛП в крови, активность и индекс повреждения. Индексы активности и повреждения в группах пациентов с АНЦА-СВ представлены в табл. 2. Активная форма АНЦА-СВ (BVAS >3) зарегистрирована у 33 (52%) пациентов (табл. 5). Пациенты с высокой и низкой активностью АНЦА-СВ были сопоставимы по возрасту и полу. Больные с активным течением имели значимо меньшую продолжительность заболевания. Клинические проявления на всем протяжении болезни были сопоставимы в двух группах. Индекс повреждения (VDI) был значимо выше в группе с низкой активностью заболевания. Пациенты с «неактивной» формой АНЦА-СВ значимо чаще получали РТМ (см. табл. 5).

Концентрация КЛП при активном течении АНЦА-СВ была значимо выше, чем при низкой активности (p<0,001; рис. 2). При этом 40% пациентов с высокой активностью васкулита имели высокий уровень КЛП (>7,17 мкг/мл). Концентрация КЛП у больных с низкой активностью АНЦА-СВ и здоровых доноров была сопоставимой (см. рис. 2).

У больных с активной формой АНЦА-СВ выявлены статистически значимо более высокие уровни IG, СОЭ и СРБ, чем у пациентов с низкой активностью (табл. 6).

Обсуждение. Нейтрофилы играют ключевую роль в повреждении эндотелия сосудов при АНЦА-СВ [6]. АНЦА направлены против аутоантигенов нейтрофилов, вызывая дегрануляцию и высвобождение цитокинов и молекул, повреждающих эндотелий [16, 26]. КЛП, высвобождающийся из нейтрофилов, показал многообещающий результат в качестве биомаркера при некоторых аутоиммунных заболеваниях [9, 10], в том числе и при АНЦА-СВ [13–17, 27]. Неспособность подавить активность сывороточного КЛП была предиктором

Таблица 6. Лабораторные показатели в зависимости от активности АНЦА-СВ
Table 6. Laboratory parameters in relation to ANCA-SV activity

Показатель	Активная форма АНЦА-СВ (n=33)	Неактивная форма АНЦА-СВ (n=31)	p
КЛП, мкг/мл, Me [25-й; 75-й перцентили]	5,34 [3,62; 9,94]	2,97 [1,55; 5,16]	<0,001
Лейкоциты, $\cdot 10^9$/л, Me [25-й; 75-й перцентили]	10,2 [6,9; 12,1]	8,5 [7,1; 9,9]	0,12
Нейтрофилы, $\cdot 10^9$/л, Me [25-й; 75-й перцентили]	6,2 [3,98; 7,72]	5,08 [3,42; 6,9]	0,22
Лимфоциты, $\cdot 10^9$/л, Me [25-й; 75-й перцентили]	2,06 [1,45; 2,63]	2,4 [1,9; 3,01]	0,18
NLR, Me [25-й; 75-й перцентили]	2,6 [1,8; 3,6]	1,8 [1,5; 3,3]	0,18
SII, Me [25-й;75-й перцентили]	852,8 [548,1; 1144,3]	625,3 [399,6; 934,3]	0,97
NEUT-RI, FI, M±σ	45,04±3,2	43,1±2,2	0,1
NEUT-GI, SI, M±σ	154,9±3,5	153±4,7	0,28
IG, $\cdot 10^9$/л, Me [25-й; 75-й перцентили]	0,11 [0,025; 0,195]	0,04 [0,03; 0,05]	0,0445
СРБ, мг/л, Me [25-й; 75-й перцентили]	4,1 [1,6; 29,4]	1,85 [1,0; 5,1]	0,025
СОЭ, мм/ч, Me [25-й; 75-й перцентили]	30 [16; 48]	16 [6; 20]	<0,001
Креатинин, мкмоль/л, Me [25-й; 75-й перцентили]	85 [71; 113]	81,4 [74; 99]	0,46
СКФ, Me [25-й; 75-й перцентили]	78 [53; 95]	70,5 [60,5; 99,5]	0,95

Примечание. СКФ определена по формуле CKD-EPI, мл/мин/1,73 м^2.

рецидива заболевания в когорте пациентов с острым АНЦА-СВ, позитивных по антителам к ПР3, получавших РТМ [27]. Целью нашего исследования была оценка уровня сывороточного КЛП при АНЦА-СВ и его связи с нейтрофильными параметрами и маркерами воспаления. Результаты анализа подтвердили целесообразность определения нейтрофильных показателей воспаления при АНЦА-СВ, при которых наблюдались значимо более высокие уровни лейкоцитов, нейтрофилов, IG, NLR, SII, NEUT-GI по сравнению с таковыми в контрольной группе, что согласуется с данными литературы [28, 29]. Это подчеркивает ключевую роль нейтрофильного звена в патогенезе АНЦА-СВ.

В настоящем исследовании впервые изучена связь КЛП с показателями нейтрофильных гранулоцитов. Выявлена значительная корреляция с параметрами воспаления – количеством лейкоцитов, нейтрофилов, NLR, SII. Действительно, результаты ранее проведенного исследования [30] показывают, что при васкулите, ассоциированном с АНЦА-МПО, КЛП в области повреждения тканей привлекает больше АНЦА-активированных нейтрофилов, тем самым усиливая воспалительную реакцию. КЛП может повышать хемотаксис и миграцию нейтрофилов, что также увеличивает тяжесть заболевания. Вместе с тем, поскольку АНЦА являются активаторами нейтрофилов, можно предположить, что АНЦА-активированные нейтрофилы служат важными источниками КЛП и могут обусловливать повышение его содержания в сыворотке крови при АНЦА-СВ. В экспериментах *in vitro* было продемонстрировано, что IgG, содержащий АНЦА-МПО, способен опосредовать дозозависимую стимуляцию высвобождения КЛП нейтрофилами [30].

В нескольких исследованиях оценивался сывороточный уровень КЛП как перспективный биомаркер активности при АНЦА-СВ и выявлено его повышение в острой фазе заболевания [13–17, 30]. Выраженная экспрессия этого белка нейтрофилами и макрофагами отмечалась в областях некротизирущего экстракапиллярного повреждения [13]. Напротив, при хроническом воспалительном поражении (т. е. в склеротических клубочках), а также в нормальных клубочках почек экспрессии КЛП не наблюдалось [13]. В настоящей работе уровень КЛП при высокой активности заболевания также был выше, чем при низкой ($p<0,001$). Повышение уровня КЛП отмечалось у 40% пациентов с высокой активностью васкулита. В некоторых исследованиях показано, что у больных в стадии клинической ремиссии уровень КЛП оставался повышенным [13, 16, 18], что может быть обусловлено сохранением субклинической активности заболевания и скрытым (низкоинтенсивным) воспалением сосудов при системных васкулитах. Мы не выявили подобной взаимосвязи, в отличие от X. Bai и соавт. [30]. Возможно, это объясняется тем, что нашим пациентам проводилась иммуносупрессивная терапия, которая могла повлиять на результат определения КЛП. Полагаем, что дальнейший мониторинг этого показателя в динамике может оказаться перспективным.

В противоположность СРБ, классическому острофазовому белку, вырабатываемому печенью, КЛП высвобождается локально в очаге воспаления, поэтому является хорошим системным индикатором локального воспаления при хронических воспалительных процессах, связанных с нейтрофилами [9, 10]. Наши данные согласуются с результатами L. Martinez Valenzuela и соавт [16], которые показали связь данного маркера с активностью заболевания, но не с уровнем СРБ и СОЭ. Отсутствие корреляции с маркерами воспаления, может быть обусловлено неспецифичностью этих параметров.

Кроме того, КЛП представляет интерес в качестве биомаркера органоспецифического поражения у пациентов с АНЦА-СВ. В некоторых работах сывороточный КЛП рассматривался как потенциальный биомаркер почечного прогноза при АНЦА-СВ [15, 16]. Важно отметить, что в нашем исследовании уровень КЛП при АНЦА-СВ коррелировал с концентрацией креатинина, но не был связан с СКФ и мочевым осадком, что отмечали и другие авторы [16, 18]. Это позволяет использовать данный биомаркер у больных АНЦА-СВ с нарушением функции почек. Повышение уровня КЛП в крови пациентов с АНЦА-СВ в течение первых 6 мес после начала поддерживающей терапии сопряжено с высоким риском снижения функции почек [15].

Кроме того, было показано, что изменение уровня КЛП после установления диагноза является прогностическим фактором рецидива [27]. Повышение содержания КЛП в сыворотке крови через 2 или 6 мес по сравнению с исходным уровнем у пациентов с активным ПР3-АНЦА, получающих индукционную терапию ЦФ или РТМ, ассоциировалось с более высоким риском рецидива в течение 18 мес наблюдения, тогда как исходные значения КЛП не указывали на возможность последующего рецидива [27].

Заключение. Результаты исследования сывороточного КЛП при АНЦА-СВ свидетельствуют о том, что его концентрация была значимо выше у пациентов с активным АНЦА-СВ и коррелировала с индексами воспаления NLR и SII, что указывает на возможность использования КЛП для оценки активности заболевания. Поэтому представляется актуальным дальнейшее изучение динамики уровня КЛП в крови и моче у больных АНЦА-СВ.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Kitching AR, Anders HJ, Basu N, et al. ANCA-associated vasculitis. *Nat Rev Dis Primers.* 2020 Aug;6(1):71. doi: 10.1038/s41572-020-0204-y.
2. Бекетова ТВ. Алгоритм диагностики системных васкулитов, ассоциированных с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами. Терапевтический архив. 2018;90(5):13-21.
[Beketova TV. Diagnostic algorithm for anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis. *Terapevticheskii arkhiv.* 2018;90(5):13-21. (In Russ.)].
3. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, et al. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013 Jan;65(1):1-11. doi: 10.1002/art.37715.
4. Tomasson G, Grayson PC, Mahr AD, et al. Value of ANCA measurements during remission to predict a relapse of ANCA-associated vasculitis – a meta-analysis. Rheumatology (Oxford). 2012 Jan;51(1):100-9. doi: 10.1093/rheumatology/ker280.
5. Wiik A. Clinical and pathophysiological significance of anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies in vasculitis syndromes. *Mod Rheumatol.* 2009;19(6):590-9. doi: 10.1007/s10165-009-0219-4.
6. Walulik A, Lysak K, B aszkiewicz M, et al. The Role of Neutrophils in ANCA-Associated Vasculitis: The Pathogenic Role and Diagnostic Utility of Autoantibodies. *Int J Mol Sci.* 2023 Dec 7;24(24):17217. doi: 10.3390/ijms242417217.
7. Базарный ВВ. Возможности автоматизированного анализа крови в оценке нейтрофильных гранулоцитов (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагно-

стика. 2023;68(11):686-693.
[Bazarnyi VV. Possibilities of automated cell blood count procedures in the evaluation of neutrophil granulocytes (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023;68(11):686-693. (In Russ.)].
8. Nacken W, Roth J, Sorg C, Kerkhoff C. S100A9/S100A8: Myeloid representatives of the S100 protein family as prominent players in innate immunity. *Microsc Res Tech*. 2003 Apr 15;60(6):569-80. doi: 10.1002/jemt.10299.
9. Romand X, Bernardy C, Nguyen MVC, et al. Systemic calprotectin and chronic inflammatory rheumatic diseases. *Joint Bone Spine*. 2019 Nov;86(6):691-698. doi: 10.1016/j.jbspin.2019.01.003.
10. Manfredi M, van Hoovels L, Benucci M, et al. Circulating Calprotectin (cCLP) in autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*. 2023 May;22(5):103295. doi: 10.1016/j.autrev.2023.103295.
11. Frosch M, Strey A, Vogl T, et al. Myeloid-related proteins 8 and 14 are specifically secreted during interaction of phagocytes and activated endothelium and are useful markers for monitoring disease activity in pauciarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2000 Mar;43(3):628-37. doi: 10.1002/1529-0131(200003)43:3<628::AID-ANR20>3.0.CO;2-X.
12. Viemann D, Barczyk K, Vogl T, et al. MRP8/MRP14 impairs endothelial integrity and induces a caspase-dependent and -independent cell death program. *Blood*. 2007 Mar 15;109(6):2453-60. doi: 10.1182/blood-2006-08-040444.
13. Pepper RJ, Hamour S, Chavele KM, et al. Leukocyte and serum S100A8/S100A9 expression reflects disease activity in ANCA-associated vasculitis and glomerulonephritis. *Kidney Int*. 2013 Jun;83(6):1150-8. doi: 10.1038/ki.2013.2.
14. Anton-Pampols P, Martinez Valenzuela L, et al. Combining neutrophil and macrophage biomarkers to detect active disease in ANCA vasculitis: a combinatory model of calprotectin and urine CD163. *Clin Kidney J*. 2022 Dec 7;16(4):693-700. doi: 10.1093/ckj/sfac257.
15. Romand X, Paclet MH, Chuong MV, et al. Serum calprotectin and renal function decline in ANCA-associated vasculitides: a post hoc analysis of MAINRITSAN trial. *RMD Open*. 2023 Oct;9(4):e003477. doi: 10.1136/rmdopen-2023-003477.
16. Martinez Valenzuela L, Draibe J, Quero Ramos M, et al. Calprotectin as a smoldering activity detection tool and renal prognosis biomarker in ANCA associated vasculitis. *PLoS One*. 2018 Oct 22;13(10):e0205982. doi: 10.1371/journal.pone.0205982.
17. Van Hoovels L, Bossuyt X. Serum calprotectin as promising diagnostic aid in predicting relapse in proteinase 3-antineutrophil cytoplasmatic antibodies-associated vasculitis. *J Lab Precis Med*. 2017;2:10. doi: 10.21037/jlpm.2017.03.04.
18. Michailidou D, Duvvuri B, Kuley R, et al. Neutrophil activation in patients with anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated vasculitis and large-vessel vasculitis. *Arthritis Res Ther*. 2022 Jun 29;24(1):160. doi: 10.1186/s13075-022-02849-z.
19. Leavitt RY, Fauci AS, Bloch DA, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum*. 1990 Aug;33(8):1101-7. doi: 10.1002/art.1780330807.
20. Masi AT, Hunder GG, Lie JT, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Churg-Strauss syndrome (allergic granulomatosis and angiitis). *Arthritis Rheum*. 1990 Aug;33(8):1094-100. doi: 10.1002/art.1780330806.
21. Robson JC, Grayson PC, Ponte C, et al. 2022 American College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology classification criteria for granulomatosis with polyangiitis. *Ann Rheum Dis*. 2022 Mar;81(3):315-320. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-221795.
22. Grayson PC, Ponte C, Suppiah R, et al. 2022 American College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology Classification Criteria for Eosinophilic Granulomatosis with Polyangiitis. *Ann Rheum Dis*. 2022 Mar;81(3):309-314. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-221794.
23. Suppiah R, Robson JC, Grayson PC, et al. 2022 American College of Rheumatology/European Alliance of Associations for Rheumatology classification criteria for microscopic polyangiitis. *Ann Rheum Dis*. 2022 Mar;81(3):321-326. doi: 10.1136/annrheumdis-2021-221796.
24. Mukhtyar C, Lee R, Brown D, et al. Modification and validation of the Birmingham Vasculitis Activity Score (version 3). *Ann Rheum Dis*. 2009 Dec;68(12):1827-32. doi: 10.1136/ard.2008.101279.
25. Exley AR, Bacon PA, Luqmani RA, et al. Development and initial validation of the Vasculitis Damage Index for the standardized clinical assessment of damage in the systemic vasculitides. *Arthritis Rheum*. 1997 Feb;40(2):371-80. doi: 10.1002/art.1780400222.
26. Thieblemont N, Wright HL, Edwards SW, Witko-Sarsat V. Human neutrophils in auto-immunity. *Semin Immunol*. 2016 Apr;28(2):159-73. doi: 10.1016/j.smim.2016.03.004.
27. Pepper RJ, Draibe JB, Caplin B, et al. Association of Serum Calprotectin (S100A8/A9) Level with Disease Relapse in Proteinase 3-Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis. *Arthritis Rheumatol*. 2017 Jan;69(1):185-193. doi: 10.1002/art.39814.
28. Liu C. Detection of serum interleukin-18 level and neutrophil/lymphocyte ratio in patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis and its clinical significance. *Open Life Sci*. 2024 Feb 5;19(1):20220823. doi: 10.1515/biol-2022-0823.
29. Lee LE, Pyo JY, Ahn SS, et al. Systemic inflammation response index predicts all-cause mortality in patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Int Urol Nephrol*. 2021 Aug;53(8):1631-1638. doi: 10.1007/s11255-020-02777-4.
30. Bai X, Xu PC, Chen T, et al. The potential pathogenic roles of S100A8/A9 and S100A12 in patients with MPO-ANCA-positive vasculitis. *BMC Immunol*. 2022 Sep 10;23(1):42. doi: 10.1186/s12865-022-00513-4.

Поступила/отрецензирована/принята к печати
Received/Reviewed/Accepted
04.04.2024/14.06.2024/17.06.2024

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Статья подготовлена в рамках фундаментальной научной темы № 122040400024-7.
Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The article has been conducted within basic scientific topic № 122040400024-7.
The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. The final version of the manuscript has been approved by all the authors.

Воркель Е.Н. https://orcid.org/0000-0001-8864-7623
Решетняк Т.М. https://orcid.org/0000-0003-3552-2522
Нурбаева К.С. https://orcid.org/0000-0001-6685-7670
Черкасова М.В. https://orcid.org/0000-0002-3246-1157
Тарасова Г.М. https://orcid.org/0000-0001-9933-5350
Егорова О.Н. https://orcid.org/0000-0002-4846-5531
Лила А.М. https://orcid.org/0000-0002-6068-3080