

DOI: <https://doi.org/10.23868/gc352562>

Нейтрофильные внеклеточные ловушки: структура и биологическая роль

И.А. Одинцова, О.Е. Миргородская, С.Э. Русакова, А.В. Горбулич, В.Г. Гололобов

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Нейтрофильные гранулоциты составляют большую часть лейкоцитов крови и реализуют свои функции в тканях. Высокодифференцированные клетки нейтрофильного гранулоцитарного дифферона характеризуются способностью образовывать нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) — сетевидные структуры, сформированные преимущественно из внутриклеточных компонентов нейтрофила. НВЛ — это важный фактор защиты организма от инфекционных патогенов, нацеленный на уничтожение вирусов, бактерий, грибов и простейших.

Проанализированы состав НВЛ, методы выявления, механизмы и основные стадии их образования: 1) воздействие индуктора на нейтрофильный гранулоцит и активация респираторного взрыва с выделением активных форм кислорода (супероксидный анион); 2) утрата характерной сегментации ядра, деконденсация хроматина; 3) распад кариолеммы на множество мелких пузырьков (везикул), перемещение нитей хроматина (ДНК с белками-гистонами) в цитоплазму; 4) образование НВЛ вследствие соединения хроматина с многочисленными биологически активными веществами цитоплазмы (преимущественно из лизированных гранул); 5) разрушение плазмолеммы и выход НВЛ в межклеточную среду. Приведены данные об участии НВЛ в защитных реакциях и патологических процессах.

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты; нейтрофильные внеклеточные ловушки; лейкоциты; нетоз; фагоцитоз; дегрануляция.

Для цитирования:

Одинцова И.А., Миргородская О.Е., Русакова С.Э., Горбулич А.В., Гололобов В.Г. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: структура и биологическая роль // Гены и клетки. 2022. Т. 17, № 4. С. 63–74. DOI: <https://doi.org/10.23868/gc352562>

DOI: <https://doi.org/10.23868/gc352562>

Neutrophil extracellular traps: structure and biological role

Irina A. Odintsova, Olga E. Mirgorodskaya, Svetlana E. Rusakova, Alena V. Gorbulich, Valery G. Gololobov

S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russian Federation

ABSTRACT

Neutrophilic granulocytes make up the majority of blood leukocytes and realize their functions in tissues. Highly differentiated cells of neutrophilic granulocytic differon are characterized by the ability to form neutrophilic extracellular traps (NETs) — network-like structures formed mainly from the intracellular components of the neutrophil. NETs are an important factor in the body's defense against infectious pathogens, aimed at the destruction of viruses, bacteria, fungi and protozoa. Analyzed the composition of NETs, methods of detection, mechanisms and main stages of their formation: 1) the effect of the inductor on the neutrophilic granulocyte and the activation of the respiratory burst with the release of reactive oxygen species (oxygen superoxide); 2) loss of the characteristic segmentation of the nucleus, decondensation of chromatin; 3) the disintegration of the karyolemma into many small vesicles, the movement of chromatin strands (DNA with histone proteins) into the cytoplasm; 4) the formation of NETs due to the connection of chromatin with numerous biologically active substances of the cytoplasm (mainly from lysed granules); 5) destruction of the plasmolemma and the release of NETs into the intercellular environment. Data on the participation of NETs in protective reactions and pathological processes are presented.

Keywords: neutrophil granulocytes; neutrophil extracellular traps; leukocytes; netosis; phagocytosis; degranulation.

To cite this article:

Odintsova IA, Mirgorodskaya OE, Rusakova SE, Gorbulich AV, Gololobov VG. Neutrophil extracellular traps: structure and biological role. *Genes & cells*. 2022;17(4):63–74. DOI: <https://doi.org/10.23868/gc352562>

Received: 25.11.2022

Accepted: 20.12.2022

Published: 10.05.2023

ВВЕДЕНИЕ

Нейтрофилы принадлежат к клеткам, участвующим в реакциях врождённого иммунитета [1–4]. После транс-эндотелиальной миграции нейтрофильные гранулоциты приобретают повышенную метаболическую и фагоцитарную активность, полностью сохраняя потенциал бактерицидных факторов [5]. Дегрануляция нейтрофилов характерна для многих процессов, в том числе для формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ, NETs — neutrophil extracellular traps), представляющих нефагоцитарный тип тканевой резистентности, при котором количество инактивированных нейтрофилом бактерий существенно превышает аналогичный показатель при фагоцитозе [6–8].

СТРУКТУРА НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК

Нейтрофильные внеклеточные ловушки — это высокоактивные сетевидные субстанции, находящиеся за пределами нейтрофильного гранулоцита, но сформированные преимущественно из его внутриклеточных компонентов [7–11]. Основу НВЛ составляет хроматин, образованный нитями ядерной ДНК в комплексе с белками-гистонами H2A, H2B, H3, H4 [12]. В составе НВЛ обнаружены и такие эффекторные вещества, как бактерицидные ферменты, лактоферрин, активированный протеин С, эластаза, металлопротеиназа, дефензины 1 и 3, миелопероксидаза, антибактериальные катионные белки, нейтральные сериновые протеазы, S100 кальций-связывающих белков — A8, A9, A12 и др. [13–15]. Нейтрофильной эластазе отводится ведущая функция в формировании НВЛ: так, мыши, дефицитные по этому ферменту, образовывать их не могут [16].

В составе НВЛ выявлено более 40 веществ белковой природы, которые представляют собой белки цитоскелета (актин, α -актинин, миозин, цитокератин 10, пластин 2), миелоидный ядерный дифференцировочный антиген, но большинство — это содержимое всех типов секреторных гранул нейтрофила [8, 17, 18]. Биологически активные компоненты в цитоплазме связываются с ДНК и, выходя за пределы клетки, формируют НВЛ, которые на препаратах обычно выглядят как «облакообразные структуры» [16, 19–21]. Размер НВЛ колеблется в диапазоне от 25 до 50 мкм, а диаметр нитей ДНК в их составе равен 15–17 нм [22]. Следует отметить, что адгезия некоторых белков к компонентам НВЛ может происходить и за пределами нейтрофильного гранулоцита [23].

МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК

Способностью образовывать НВЛ обладают активированные (иницированные, стимулированные) нейтрофилы. Факторы, вызывающие активацию так называемых внутриклеточных киллинговых систем нейтрофильного гранулоцита, чрезвычайно разнообразны: многочисленные бактерии (*Salmonella enterica*, *St. aureus*, *E. coli* и др.), грибы (*Candida albicans* и др.), простейшие (*Plasmodium falciparum*) [24–27]. Образование НВЛ стимулируется также провоспалительными веществами (интерлейкин-8, перекись водорода, липополисахариды, форбол-миристан-ацетат). Представляют интерес сведения о том, что способностью индуцировать образование НВЛ при эндотоксемии обладают тромбоциты, активированные липополисахаридами [28]. Мнения исследователей об антивирусной способности НВЛ расходятся, но ряд публикаций последнего времени свидетельствует, что, например, вирус SARS-CoV2 активирует образование нейтрофильных ловушек [29–31].

Образование НВЛ обеспечивается рецепторным аппаратом, причём для достижения оптимального антимикробного, антипаразитарного и фунгицидного эффекта требуется воздействие стимула не на один, а на несколько клеточных рецепторов одновременно [32]. В настоящее время рассматриваются два механизма формирования НВЛ: более детально изученный NOX-зависимый (NADPH-оксидаза-зависимый) и менее изученный NOX-независимый [20, 23, 33, 34]. Нетоз, индуцированный кальциевыми ионофорами и часто называемый «NADPH-оксидаза-независимым», правильнее именовать «митохондриально-зависимым нетозом» [35].

Образование активных форм кислорода стимулирует NOX-зависимый механизм, он же способствует дезинтеграции компонентов клеточных мембран, выходу деконденсированной ДНК с адгезированными белками в межклеточную среду. Активация NADPH-оксидазной системы является обязательным, но недостаточным условием формирования НВЛ [36]. В начальной стадии их образования происходит так называемый респираторный взрыв, приводящий к образованию супероксидного аниона [37]. Ядерные белки (гистоны) подвергаются специфическим модификациям, задерживающим активацию генов, что приводит к ослаблению взаимодействия гистонов с ДНК и деконденсации хроматина [11, 38].

В результате активации нейтрофильных гранулоцитов возможны два варианта образования НВЛ — везикулярный и литический, которые принципиально отличаются друг от друга [39]. Везикулярный механизм

является кислороднезависимым и начинается в первые минуты после активации нейтрофильного гранулоцита бактериями с мощными антиоксидантными свойствами. При этом происходит неравномерное расширение перинуклеарного пространства нейтрофила, его постепенное заполнение ДНК с последующим формированием везикул, имеющих вид мелких бусинок, которые перемещаются в межклеточное пространство. При этом плазмолемма не разрушается [40]. Существует мнение, что при везикулярном механизме формирования НВЛ клетка сохраняет свою жизнеспособность [40]. Остаётся открытым вопрос о том, может ли быть жизнеспособным нейтрофил, утративший ДНК. Отвечая на закономерный вопрос: каким образом клетка сохраняет жизнеспособность, лишившись ДНК, сторонники этой концепции приводят в пример эритроциты и кровяные пластинки. По нашему мнению, такая аналогия не вполне корректна, необходимо продолжать изучение этого феномена с целью поиска более убедительных доказательств жизнеспособности гранулоцита после выделения НВЛ.

При стимуляции нейтрофила может запускаться литический механизм образования НВЛ. Его основные признаки: лизис кариолеммы, смещение хроматина с биологически активными веществами цитоплазмы, лизис плазмолеммы и поступление НВЛ в межклеточное пространство в виде высокоактивной биосубстанции. При этом клетка погибает. Именно такая кислородзависимая форма клеточной гибели и получила название нетоза (NETosis) [33, 41].

Основываясь на анализе научных публикаций, выделим основные стадии образования НВЛ: 1) воздействие индуктора на нейтрофильный гранулоцит и активация «респираторного взрыва» с выделением активных форм кислорода (супероксид кислорода); 2) утрата характерной сегментации ядра, деконденсация хроматина; 3) распад кариолеммы на множество мелких пузырьков (везикул), перемещение нитей хроматина (ДНК с белками-гистонами) в цитоплазму; 4) образование НВЛ вследствие соединения хроматина с многочисленными биологически активными веществами цитоплазмы (преимущественно из лизированных гранул); 5) разрушение плазмолеммы и выход НВЛ в межклеточную среду [17, 41]. По данным разных авторов, время формирования НВЛ колеблется в диапазоне от 10 мин до 4 ч, что в значительной мере зависит от активирующего нейтрофил агента, а также от возраста пациента. У новорождённых образование НВЛ выражено слабее, чем у взрослых [16]. В среднем через час после стимуляции нейтрофил утрачивает сегментацию ядра, хроматин деконденсируется; через 2 ч кариолемма образует везикулы, хроматин поступает в цитоплазму, а мембрана гранул нейтрофилов лизируется. Через 3 ч гранулы в цитоплазме практически не выявляются, а их содержимое находится в цитоплазме [22].

Считается, что нейтрофильные гранулоциты цельной крови и её лейкоцитарной взвеси в норме не образуют

НВЛ, и в крови здоровых людей их не должно быть [6]. Для образования НВЛ необходимо прикрепление нейтрофила к субстрату, так как в суспензии они формируются гораздо менее активно [16]. Образование НВЛ не является случайным или спонтанным процессом — существуют сложные молекулярные механизмы его контроля и регулирования [40, 42–44]. После разрушения НВЛ при участии ДНКазы-I оставшийся дебрис лизируется макрофагами [45].

НЕТОЗ КАК ФОРМА НЕОБРАТИМЫХ РЕАКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ

Наиболее характерными формами гибели нейтрофильных гранулоцитов многие годы считали апоптоз и некроз. После первых публикаций о НВЛ было введено понятие «нетоз» [24, 33, 39]. Несколько позже такая форма гибели была обнаружена у тучных клеток, эозинофильных гранулоцитов, макрофагов [46–48], моноцитов [49] и лимфоцитов [50]. Так как выброс ДНК во внеклеточное пространство осуществляется не только нейтрофилами, но и другими видами клеток, этот механизм получил более широкое название — этоз (от *англ.* extracellular traps — ETs).

В обзорной статье Р.В. Деева и соавт. [51], посвящённой современным представлениям о клеточной гибели, представлена подробная характеристика нетоза. Некоторые авторы придерживаются точки зрения о том, что существует так называемый витальный и суицидальный нетоз [40]. Витальный нетоз сопряжён с везикулярным механизмом образования НВЛ, а суицидальный — с литическим. В научном сообществе по этому вопросу возникают сомнения в корректности предложенной терминологии, особенно это касается термина «витальный нетоз».

МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК

Анализ научных публикаций свидетельствует, что способы идентификации НВЛ как на гистологических срезах, так и в фиксированной на предметном стекле клеточной взвеси постоянно совершенствуются. НВЛ могут быть идентифицированы с помощью различных видов микроскопии (конфокальная, сканирующая и трансмиссионная электронная). Методы электронной микроскопии позволяют не только обнаружить НВЛ, но и последовательно проследить за процессом их формирования. Применяют также некоторые гистохимические методики для последующей световой микроскопии, проточную флуориметрию, иммунофлуоресцентную

микроскопию, ряд биохимических методов [14, 52, 53]. И.И. Долгушиным и соавт. [54] разработаны оригинальные методы выявления НВЛ в периферической крови и слизистых секретах, которые применяют для определения эффективности вакцин и некоторых лекарственных препаратов. Окраска акридиновым оранжевым взвеси нейтрофилов венозной крови человека и последующее изучение препарата с помощью люминесцентного микроскопа и фильтров с определённой длиной световой волны позволили упростить и ускорить выявление НВЛ, а также оценить их количественно [54].

С целью быстрого определения жизнеспособности клеток и визуализации внеклеточной ДНК используют высокочувствительный флуоресцентный краситель SYTOX Green. Для этого метода необходимы проточные цитометры, флуоресцентный микроскоп, флуорометр или считыватели флуоресцентных микропланшетов [19, 55]. Поскольку при связывании нуклеиновых кислот флуоресценция увеличивается в 500 раз, кратковременная инкубация утративших жизнеспособность клеток с SYTOX Green приводит к яркой зелёной флуоресценции с пиком излучения 523 нм при возбуждении 488 нм аргон-ионным лазером или любым другим (в диапазоне 450–490 нм). Для нейтрофилов чистой фракции информативна окраска не только SYTOX Green, но и акридиновым зелёным, по Романовскому–Гимзе. Достаточно информативными методами визуализации также являются следующие: одновременное использование двух красителей: SYTOX Green (для окраски внеклеточной ДНК и погибших ядер) и синьки Эванса (для фонового окрашивания живых клеток) [54]; окраска акридиновым оранжевым и затем по Романовскому–Гимзе [56].

Представляет интерес работа К. Shiogama с соавт. [57], в которой отражены результаты анализа парафиновых тканевых срезов при формалиновой фиксации материала с выраженной нейтрофильной инфильтрацией. Многочисленные НВЛ и фибриновая сеть вокруг них визуализировались с помощью иммуногистохимического метода выявления лактоферрина и фибриногенной γ -цепи. Связанные с нейтрофилом вещества (лактоферрин, цитруллинированный гистон H3, миелопероксидаза и нейтрофильная эластаза) исследователи расценивали как маркёры НВЛ, а фибриногенную γ -цепь использовали в качестве фибринового маркёра. Нейтрофилы находились внутри своеобразной паутины, состоящей из волокон разной толщины и компактизации: тонких, толстых и так называемых сгруппированных толстых. Показано, что лактоферрин представляет собой стабильный маркёр НВЛ, тонкие фибриллы принадлежат НВЛ; толстые фибриллы состоят либо только из фибрина, либо из смешения фибрина и «ловушечных нитей», а сгруппированные («упакованные») толстые фибриллы состоят исключительно из фибрина. Такой приём позволяет дифференцировать входящие и не входящие в состав НВЛ фибриллярные компоненты.

В целом, оценивая лабораторные методы выявления НВЛ, следует отметить, что они являются финансово затратными, так как для большинства требуется специальная аппаратура и дорогостоящие реактивы.

УЧАСТИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК В ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЯХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Формирование НВЛ — важный фактор защиты организма от инфекционных патогенов, уничтожения вирусов и бактерий [58–62]. НВЛ ограничивают повреждение тканей, задерживая и разрушая патологические агенты. В литературе имеются многочисленные сведения о том, что образование НВЛ играет важную роль в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний [18, 37, 63–66]. Встречаются сообщения о формировании НВЛ при таких заболеваниях, как бактериальный вагиноз, острый аппендицит, малярия, бронхолёгочный аспергиллёз, пневмония, диабет 2-го типа, атеросклероз и др. [31, 40, 67]. НВЛ обнаружены при сердечно-сосудистых заболеваниях, участвуют в патогенезе заболеваний роговицы и многих других патологических состояний [68–72]. Пародонтит — одна из разновидностей локальной иммуновоспалительной патологии, в патогенезе которой немаловажную роль играют НВЛ [31]. Учёные фокусируют внимание на важности НВЛ как прогностического маркёра у тяжелобольных пациентов и на необходимости уточнения их патофизиологии [73–75]. При изучении SIV-инфекции (экспериментальная модель у обезьян, аналог ВИЧ) у животных R. Sivanandham с соавт. [76] обнаружили НВЛ в кишечнике, лёгких и печени, а также в кровеносных сосудах почек и сердца. Авторы указывают, что НВЛ способствуют снижению количества иммунокомпетентных клеток, характерному для ВИЧ/SIV-инфекции. В этой работе представлены также сведения о том, что благодаря «захвату» и агрегации тромбоцитов НВЛ могут усиливать коагулопатию, связанную с ВИЧ/SIV, и способствовать развитию сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний. Сведения о том, что НВЛ замедляют и осложняют процесс заживления ран при диабете [77], требуют, на наш взгляд, дополнительной проверки и уточнения, так как при данной патологии влияние на раневой процесс оказывают многие факторы, и связывать это исключительно с НВЛ вряд ли оправданно.

В ходе эксперимента по изучению карциномы лёгкого у мышей обнаружены опухолевые клетки, «захваченные» НВЛ внутри сосудов микроциркуляторного русла, что позволило авторам констатировать участие нейтрофильных ловушек в противоопухолевой защите [78]. Авторы неоднозначно оценивают этот феномен, называя

комплексы «НВЛ + опухолевые клетки» микрометастазами, для разрушения которых предлагают применять вещества-ингибиторы эластазы нейтрофилов или ДНКазу.

В обзорной статье D. Nakazawa и T. Kudo [15] представлены сведения о разнообразии нейтрофилов у пациентов с аутоиммунными заболеваниями и обсуждаются возможные новые терапевтические стратегии. При лечении системной красной волчанки в качестве одного из терапевтических приёмов рассматривают разрушение НВЛ и их отдельных компонентов. Исследования показали, что гетероморфия (разнообразие) нейтрофилов (по фенотипу, функции, особенностям участия в развитии воспалительного процесса) оказывает влияние на характеристики НВЛ [79–82].

В работе H. Yang с соавт. [73] справедливо отмечено, что НВЛ — это «обоюдоострые мечи врождённого иммунитета» и оценивать их роль следует с осторожностью. Во многих публикациях сделан акцент на том, что нетоз при определённых обстоятельствах следует рассматривать и как источник аутоантигенов, способствующий развитию и течению аутоиммунных заболеваний. В публикации H. Shida с соавт. [83] указывается, что чрезмерное образование НВЛ приводит к побочным эффектам, например индукции антинейтрофильных цитоплазматических антител (АНЦА, *англ.* ANCA). Между НВЛ и ANCA может образоваться «петля обратной связи», которая называется «порочным циклом ANCA–НВЛ» [83]. При нарушении регуляции формирования и удаления НВЛ образуются аутоантитела к ДНК, гистонам и другим белкам нейтрофильных гранулоцитов, но роль НВЛ при аутоиммунных заболеваниях до конца не исследована и требует дальнейшего изучения. Компоненты НВЛ могут служить аутоантигенами, которые продуцируют аутоантитела против ловушек и ускоряют иммунный ответ с помощью интерферона I типа [84, 85]. Более того, цитотоксические НВЛ-компоненты в виде молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением, могут травмировать соседние клетки, усугубляя тяжесть аутоиммунных заболеваний [15, 86]. Известно, что нейтрофильные гранулоциты активно участвуют в заживлении ран, особенно на ранней стадии, но в условиях раневого процесса НВЛ практически не изучены [87]. Они обнаружены при формировании свёртка крови в процессе коагуляции, но их избыточное образование может способствовать чрезмерной коагуляции, что неизбежно приведёт к нарушению кровоснабжения тканей и органов.

Пандемия новой коронавирусной инфекции COVID-19 выявила острую потребность в современных лечебных подходах для борьбы с клиническими проявлениями этого заболевания при тяжёлом течении, включающими наряду с синдромом тяжёлой воспалительной реакции или сепсисом острый респираторный дистресс-синдром, нейтрофилию, «цитокиновый шторм» [29, 30, 88]. Предполагают, что нейтрофильные гранулоциты являются мишенью для иммунопатологических осложнений

у тяжелобольных пациентов с COVID-19. Нейтрофильная инфильтрация, высвобождение НВЛ, активация комплемента и тромбоз сосудов при COVID-19 способствуют более высокой смертности у пациентов с сопутствующими заболеваниями [30, 31, 89]. Образование внутрисосудистых НВЛ имеет важное значение для реализации патогенеза тяжёлого течения COVID-19 у пациентов с пародонтитом и характеризуется повышенным уровнем циркулирующих НВЛ и склонностью к увеличению скорости их формирования, что оказывает существенное влияние на врождённый иммунитет и восприимчивость к заражению SARS-CoV-2 [31]. Эндотоксин LPS (липополисахаридный эндотоксин, являющийся термостабильным компонентом наружной части клеточной мембраны всех грамотрицательных бактерий) связывает спайковый белок SARS-CoV-2 и этот комплекс, который более активен, чем несвязанный эндотоксин, и вызывает усиленное образование НВЛ. По мнению L. Vitkov с соавт. [31], НВЛ в сосудистой крови являются общим признаком как COVID-19, так и пародонтита, а также ряда других заболеваний с низкой степенью эндотоксинемии (ожирение, диабет, сердечно-сосудистые заболевания), повышая риск развития тяжёлой формы COVID-19. В этой работе обсуждается роль дефицита ДНКазы-I и слабовыраженной эндотоксинемии в формировании склонности к повышенному образованию НВЛ при пародонтите как отягчающих факторов течения COVID-19.

Таким образом, накопилось достаточно фактов как о позитивном, так и о негативном влиянии НВЛ и нетоза на патофизиологические процессы, происходящие в тканях, органах и организме в целом. Требуется уточнения информация, что микроорганизмы, имеющие на поверхности капсулу или нуклеазы, не захватываются ловушками. Не теряет своей актуальности исследование НВЛ при особо опасных инфекциях. Определённые перспективы имеет детальное изучение НВЛ при паразитарных заболеваниях, так как в этом случае объект достаточно велик для фагоцитоза и может (хотя бы частично) быть инактивирован компонентами ловушки. Решение этих вопросов будет способствовать созданию новых эффективных лекарственных препаратов и вакцин с избирательным действием на нейтрофильные гранулоциты и (или) НВЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ научных публикаций свидетельствует об интересе специалистов разного профиля — морфологов, микробиологов, биохимиков, патофизиологов, клиницистов — к изучению нейтрофильных внеклеточных ловушек. Благодаря разнообразным методическим приёмам установлены их структурные компоненты, механизмы формирования, получены сведения об участии нейтрофильных внеклеточных ловушек в защитных реакциях

и некоторых патологических состояниях. Вместе с тем обзор позволил выявить ряд спорных и малоизученных вопросов, требующих дальнейшей разработки. Среди них — уточнение терминологических понятий (например, «витальный и суицидальный нетоз») и поиск достоверных фактов о степени жизнеспособности нейтрофильного гранулоцита, лишившегося ДНК. Актуальной задачей также является возможное внедрение в клиническую практику новых знаний о нейтрофильных внеклеточных ловушках как структурах с выраженной защитной функцией, участвующих в функционировании не только тканей и органов, но и всего организма в целом. Необходимо продолжать исследования по изучению формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек

при различных патологических состояниях, в том числе при травмах различного генеза.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Источник финансирования. Не указан.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пигаревский В.Е., Мазинг Ю.А. Лизосомально-катионный тест (методическое письмо). Ленинград : НИИЭМ, 1987.
2. Маянский А.Н. Патогенетическая микробиология. Нижний Новгород : Издательство НГМА, 2006.
3. Акмаев И.Г., Афанасьев Ю.И., Бобова Л.П., и др. Руководство по гистологии. В 2 т. / под ред. Р.К. Данилова, В.Л. Быкова. Санкт-Петербург : СпецЛит, 2011. 495 с.
4. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., и др. Гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 1 // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 3, № 3. С. 219–230. doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230
5. Симбирцев А.С., Тотолян А.А. Цитокины в лабораторной диагностике. В кн.: Долгов В.В., Меншиков В.В. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство в 2 т. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. Т. 2. С. 193–217.
6. Коротина О.Л., Генералов И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2012. № 4. С. 23–32.
7. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria // *Science*. 2004. Vol. 303, N 5663. P. 1532–1535. doi: 10.1126/science.1092385
8. Brinkmann V. Neutrophil extracellular traps in the second decade // *J Innate Immun*. 2018. Vol. 10, N 5–6. P. 414–421. doi: 10.1159/000489829
9. Takei H., Araki A., Watanabe H., et al. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis // *J Leukoc Biol*. 1996. Vol. 9, N 2. 229–240. doi: 10.1002/jlb.59.2.229
10. Долгушин И.И., Савочкина А.Ю., Курносенко И.В., и др. Участие внеклеточных ДНК-ловушек в защитных и патологических реакциях организма // *Российский иммунологический журнал*. 2015. Т. 9, № 2. С. 164–170.
11. Воробьева Н.В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: новые аспекты // *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. 2020. Т. 75, № 4. С. 210–225.
12. Wang Y., Li M., Stadler S., et al. Histone hyperacetylation mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation // *J Cell Biol*. 2009. Vol. 184, N 2. P. 205–213. doi: 10.1083/jcb.200806072
13. Delgado-Rizo V., Martínez-Guzmán M.A., Iñiguez-Gutierrez L., et al. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation // *Front Immunol*. 2017. Vol. 8. P. 81. doi: 10.3389/fimmu.2017.00081
14. Masuda S., Nakazawa D., Shida H., et al. NETosis markers: quest for specific, objective, and quantitative markers // *Clin Chim Acta*. 2016. Vol. 459. P. 89–93. doi: 10.1016/j.cca.2016.05.029
15. Nakazawa D., Kudo T. Novel therapeutic strategy based on neutrophil subset and its function in autoimmune disease // *Front Pharmacol*. 2021. Vol. 12. P. 684886. doi: 10.3389/fphar.2021.684886
16. Воробьева Н.В., Пинегин Б.В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, роль в норме и при патологии // *Биохимия*. 2014. Т. 79, № 12. С. 1580–1591.
17. Alhede M., Qvortrup K., Kragh K., et al. The origin of extracellular DNA in bacterial bio-film infections in vivo // *Pathogens Dis*. 2020. Vol. 78, N 2. P. ftaa018. doi: 10.1093/femspd/ftaa018
18. Khan M.A., Ali Z.S., Sweezey N., et al. Progression of cystic fibrosis lung disease from childhood to adulthood: neutrophils, neutrophil extracellular trap (NET) formation, and NET degradation // *Genes (Basel)*. 2019. Vol. 10, N 3. P. 183. doi: 10.3390/genes10030183
19. Mayadas T.N., Tsokos G.C., Tsuboi N. Mechanism of soft immune complex mediated neutrophil recruitment and tissue injury // *Circulation*. 2009. Vol. 120, N 20. P. 2012–2024. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.771170
20. Ravindran M., Khan M.A., Palaniyar N. Neutrophil extracellular trap formation: physiology, pathology, and pharmacology // *Biomolecules*. 2019. Vol. 9, N 8. P. 365. doi: 10.3390/biom9080365
21. Sollberger G., Choidas A., Bum G.L., et al. Gasdermin D plays a vital role in the generation of neutrophil extracellular traps // *Sci Immunol*. 2018. Vol. 3, N 26. P. eaar6689. doi: 10.1126/sciimmunol.aar6689
22. Кравцов А.Л. Формирование внеклеточных ловушек — эффективный механизм защиты организма от патогена // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012. № 112. С. 69–74.
23. Долгушин И.И., Мезенцева Е.А. Нейтрофильные внеклеточные ловушки в борьбе с биопленкообразующими микроорганизмами: охотники или добыча? // *Журнал микробиологии,*

- эпидемиологии и иммунобиологии. 2020. Т. 97, № 5. С. 468–481. doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-9
24. Urban C.F., Reichard U., Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms // *Cell Microbiol.* 2006. Vol. 8, N 4. P. 668–676. doi: 10.1111/j.1462-5822.2005.00659.x
25. Healy L.D., Puy C., Fernández J.A., et al. Activated protein C inhibits neutrophil extracellular trap formation in vitro and activation in vivo // *J Biol Chem.* 2017. Vol. 292, N 21. P. 8616–8629. doi: 10.1074/jbc.M116.768309
26. Díaz-Godínez C., Carrero J.C. The state of art of neutrophil extracellular traps in protozoan and helminthic infections // *Biosci Rep.* 2019. Vol. 39, N 1. P. BSR20180916. doi: 10.1042/BSR20180916
27. Mehrpouya-Bahrami P., Moriarty A.K., De Melo P., et al. STS4 is expressed in neutrophils and promotes antimicrobial immunity // *JCI Insight.* 2021. Vol. 6, N 14. P. e141326. doi: 10.1172/jci.insight.141326
28. Кубатиев А.А., Боровая Т.Г., Жуховицкий В.Г., и др. Тромбоциты: современный взгляд на структуру и функции // *Патогенез.* 2016. Т. 14, № 1. С. 4–13.
29. Кассина Д.В., Василенко И.А., Гурьев А.С., и др. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: значение для диагностики и прогноза COVID-19 // *Альманах клинической медицины.* 2020. Т. 48, № 1. С. S43–S50. doi: 10.18786/2072-0505-2020-48-029
30. Tomar B., Anders H.J., Desai J., et al. Neutrophils and neutrophil extracellular traps drive necroinflammation in COVID-19 // *Cells.* 2020. Vol. 9, N 6. P. 1383. doi: 10.3390/cells9061383
31. Vitkov L., Knopf J., Kronic J., et al. Periodontitis-derived dark-NETs in severe Covid-19 // *Front Immunol.* 2022. Vol. 13. P. 872695. doi: 10.3389/fimmu.2022.872695
32. Chen T., Li Y., Sun R., et al. Receptor-mediated NETosis on neutrophils // *Front Immunol.* 2021. Vol. 12. P. 7752–7767. doi: 10.3389/fimmu.2021.775267
33. Steinberg B.E., Grinstein S. Unconventional roles of the NADPH-oxidase: signaling, ion homeostasis, and cell death // *Sci STKE.* 2007. Vol. 2007, N 379. P. 11. doi: 10.1126/stke.3792007pe11
34. Takishita Y., Yasuda H., Shimizu M., et al. Formation of neutrophil extracellular traps in mitochondrial DNA-deficient cells // *J Clin Biochem Nutr.* 2020. Vol. 66, N 1. P. 15–23. doi: 10.3164/jcbn.19-77
35. Воробьева Н.В., Кондратенко И.В., Вахлярская С.С., и др. Роль митохондриальной поры в эффекторных функциях нейтрофилов человека // *Иммунология.* 2020. Т. 41, № 1. С. 42–53. doi: 10.33029/0206-4952-2020-41-1-42-53
36. Fadeel B. Babies born without safety NET // *Blood.* 2009. Vol. 113, N 25. P. 6270–6271. doi: 10.1182/blood-2009-03-210328
37. Yipp B.G., Kubes P. NETosis: how vital is it? // *Blood.* 2013. Vol. 122, N 16. P. 2784–2794. doi: 10.1182/blood-2013-04-457671
38. Neeli I., Dwivedi N., Khan S., Radic M. Regulation of extracellular chromatin release from neutrophils // *J Innate Immun.* 2009. Vol. 1, N 3. P. 194–201. doi: 10.1159/000206974
39. Fuchs T.A., Abed U., Goosmann C., et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps // *J Cell Biol.* 2007. Vol. 176, N 2. P. 231–241. doi: 10.1083/jcb.200606027
40. Kenny E.F., Herzig A., Kruger R., et al. Diverse stimuli engage different neutrophil extracellular trap pathways // *Elife.* 2017. Vol. 6. P. e24437. doi: 10.7554/eLife.24437
41. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs // *Nat Rev Microbiol.* 2007. Vol. 5, N 8. P. 577–582. doi: 10.1038/nrmicro1710
42. Плескова С.Н., Крюков Р.Н. Провоспалительные механизмы гибели нейтрофильных гранулоцитов // *Цитология.* 2019. Т. 61, № 5. С. 357–369. doi: 10.1134/S0041377119050031
43. Плескова С.Н., Горшкова Е.Н., Боряков А.В., Крюков Р.Н. Морфологические особенности быстрого и классического нетоза // *Цитология.* 2019. Т. 61, № 9. С. 704–712. doi: 10.1134/S0041377119090098
44. Azzouz D., Palaniyar N. ROS and DNA repair in spontaneous versus agonist-induced NETosis: context matters // *Front Immunol.* 2022. Vol. 13. P. 1033815. doi: 10.3389/fimmu.2022.1033815
45. Farrera C., Fadeel B. Macrophage clearance of neutrophil extracellular traps is a silent process // *J Immunol.* 2013. Vol. 191, N 5. P. 2647–2656. doi: 10.4049/jimmunol.1300436
46. von Köckritz-Blickwede M., Goldmann O., Thulin P., et al. Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation // *Blood.* 2008. Vol. 111, N 6. P. 3070–3080. doi: 10.1182/blood-2007-07-104018
47. Dvorski R., Simon H.U., Hoskins A., Yousefi S. Eosinophil and neutrophil extracellular traps in human allergic asthmatic airways // *J Allergy Clin Immunol.* 2011. Vol. 127, N 5. P. 1260–1266. doi: 10.1016/j.jaci.2010.12.1103
48. Mollerherm H., von Köckritz-Blickwede M., Branitzki-Heinemann K. Antimicrobial activity of mast cells: role and relevance of extracellular DNA traps // *Front Immunol.* 2016. Vol. 7. P. 265. doi: 10.3389/fimmu.2016.00265
49. Granger V., Faille D., Marani V., et al. Human blood monocytes are able to form extracellular traps // *J Leukoc Biol.* 2017. Vol. 102, N 3. P. 775–781. doi: 10.1189/jlb.3MA0916-411R
50. Ingelsson B., Söderberg D., Strid T., et al. Lymphocytes eject interferogenic mitochondrial DNA webs in response to CpG and non-CpG oligodeoxynucleotides of class C // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018. Vol. 115, N 3. P. E478–E487. doi: 10.1073/pnas.1711950115
51. Деев Р.В., Билялов А.И., Жампеисов Т.М. Современные представления о клеточной гибели // *Гены и клетки.* 2018. Т. XIII, № 1. С. 6–19.
52. de Buhr N., von Köckritz-Blickwede M. How neutrophil extracellular traps become visible // *J Immunol Res.* 2016. Vol. 2016. P. 4604713. doi: 10.1155/2016/4604713
53. Zharkova O., Tay S.H., Lee H.Y., et al. A flow cytometry-based assay for high-throughput detection and quantification of neutrophil extracellular traps in mixed cell populations // *Cytometry.* 2019. Vol. 95, N 3. P. 268–278. doi: 10.1002/cyto.a.23672
54. Долгушин И.И., Савочкина А.Ю., Шишкова Ю.С. Методы обнаружения нейтрофильных внеклеточных ловушек и их применение в клинической лабораторной диагностике // *Инфекция и иммунитет.* 2012. Т. 2, № 1-2. С. 259–260.
55. Yu X., Tan J., Diamond S.L. Hemodynamic force triggers rapid NETosis within sterile thrombotic occlusions // *J Thromb Haemost.* 2018. Vol. 16, N 2. P. 316–329. doi: 10.1111/jth.13907
56. Гусакова Н., Ярец Ю., Гомоляко А. NET: охота продолжается // *Наука и инновации.* 2017. № 4. С. 68–72.
57. Shioyama K., Onouchi T., Mizutani Y., et al. Visualization of neutrophil extracellular traps and fibrin meshwork in human fibrinopurulent inflammatory lesions: light microscopic study // *Acta Histochem Cytochem.* 2016. Vol. 49, N 4. P. 109–116. doi: 10.1267/ahc.16015
58. Thanabalasuriar A., Scott B.N.V., Peiseler M., et al. Neutrophil extracellular traps confine *Pseudomonas aeruginosa* ocular biofilms

- and restrict brain invasion // *Cell Host Microbe*. 2019. Vol. 25, N 4. P. 526–536. doi: 10.1016/j.chom.2019.02.007
- 59.** Seki M. The role of neutrophil extracellular traps in infectious diseases // *J Infect Dis Ther*. 2017. Vol. 5. P. 321.
- 60.** Twaddell S.H., Baines K.J., Grainge C., Gibson P.G. The emerging role of neutrophil extracellular traps in respiratory disease // *Chest*. 2019. Vol. 156, N 4. P. 774–782. doi: 10.1016/j.chest.2019.06.012
- 61.** Sultan A.R., Hoppenbrouwers T., Lemmens-den Toom N.A., et al. During the early stages of *Staphylococcus aureus* biofilm formation, induced neutrophil extracellular traps (NETs) are degraded by autologous thermonuclease // *Infect Immun*. 2019. Vol. 87, N 12. P. e00605–e00619. doi: 10.1128/IAI.00605-19
- 62.** Allen E.R., Whitefoot-Keliin K.M., Palmatier E.M., et al. Extracellular vesicles from A23187-treated neutrophils cause cGAS/STING-dependent IL-6 production by macrophages // *Front Immunol*. 2022. Vol. 13. P. 949451. doi: 10.3389/fimmu.2022.949451
- 63.** Jorch S.K., Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease // *Nat Med*. 2017. Vol. 23, N 3. P. 279–287. doi: 10.1038/nm.4294. PMID: 28267716
- 64.** Laridan E., Denorme F., Desender L., et al. Neutrophil extracellular traps in ischemic stroke thrombi // *Ann Neurol*. 2017. Vol. 82, N 2. P. 223–232. doi: 10.1002/ana.24993
- 65.** Rayes R.F., Mouhanna J.G., Nicolau I., et al. Primary tumors induce neutrophil extracellular traps with targetable metastasis promoting effects // *JCI Insight*. 2019. Vol. 5, N 16. P. e128008. doi: 10.1172/jci.insight.128008
- 66.** Lv D., Xu Y., Cheng H., et al. A novel cell-based assay for dynamically detecting neutrophil extracellular traps-induced lung epithelial injuries // *Exp Cell Res*. 2020. Vol. 394, N 2. P. 112101. doi: 10.1016/j.yexcr.2020.112101
- 67.** Lood C., Blanco L., Purmalek M.M., et al. Neutrophil extracellular trap senrichedin oxidized mitochondrial DNA are inter ferogenicand contribute to lupus-like disease // *Nat Med*. 2016. Vol. 22, N 2. P. 146–153. doi: 10.1038/nm.4027
- 68.** Martinod K., Wagner D.D. Thrombosis: tangled up in NETs // *Blood*. 2014. Vol. 123, N 18. P. 2768–2776. doi: 10.1182/blood-2013-10-463646
- 69.** Valles J., Lago A., Santos M.T., et al. Neutrophil extracellular traps are increased in patients with acute ischemic stroke: prognostic significance // *Thromb Haemost*. 2017. Vol. 117, N 10. P. 1919–1929. doi: 10.1160/TH17-02-0130
- 70.** Ducroux C., Di Meglio L., Loyau S., et al. Thrombus neutrophil extracellular traps content impair tPA-induced thrombolysis in acute ischemic stroke // *Stroke*. 2018. Vol. 49, N 3. P. 754–757. doi: 10.1161/STROKEAHA.117.019896
- 71.** Klopff J., Brostjan C., Eilenberg W., et al. Neutrophil extracellular traps and their implications in cardiovascular and inflammatory disease // *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22, N 2. P. 559. doi: 10.3390/ijms22020559
- 72.** Mun Y., Hwang J.S., Shin Y.J. Role of neutrophils on the ocular surface // *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22, N 19. P. 10386. doi: 10.3390/ijms221910386
- 73.** Yang H., Biermann M.H., Brauner J.M., et al. New insights into neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in inflammation // *Front Immunol*. 2016. Vol. 7. P. 302. doi: 10.3389/fimmu.2016.00302
- 74.** Cedervall J., Zhang Y., Olsson A.K. Tumor-induced NETosis as a risk factor for metastasis and organ failure // *Cancer Res*. 2016. Vol. 76, N 15. P. 4311–4315. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3051
- 75.** Thierry A.R., Roch B. SARS-CoV2 may evade innate immune response, causing uncontrolled neutrophil extracellular traps formation and multi-organ failure // *Clin Sci (Lond)*. 2020. Vol. 134, N 12. P. 1295–1300. doi: 10.1042/CS20200531
- 76.** Sivanandham R., Brocca-Cofano E., Krampe N., et al. Neutrophil extracellular trap production contributes to pathogenesis in SIV-infected nonhuman primates // *J Clin Invest*. 2018. Vol. 128, N 11. P. 5178–5183. doi: 10.1172/JCI99420
- 77.** Wong S.L., Demers M., Martinod K., et al. Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis, which impairs wound healing // *Nat Med*. 2015. Vol. 21, N 7. P. 815–819. doi: 10.1038/nm.3887
- 78.** Cools-Lartigue J., Spicer J., McDonald B., et al. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis // *J Clin Invest*. 2013. Vol. 123, N 8. P. 3446–3458. doi: 10.1172/JCI67484
- 79.** Kessenbrock K., Krumbholz M., Schönemarch U., et al. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis // *Nat Med*. 2009. Vol. 15, N 6. P. 623–625. doi: 10.1038/nm.1959
- 80.** Carmona-Rivera C., Kapla M.J. Low-density granulocytes: a distinct class of neutrophils in systemic autoimmunity // *Semin Immunopathol*. 2013. Vol. 35, N 4. P. 455–463. doi: 10.1007/s00281-013-0375-7
- 81.** van Dam L.S., Rabelink T.J., van Kooten C., Teng Y.K.O. Clinical implications of excessive neutrophil extracellular trap formation in renal autoimmune diseases // *Kidney Int Rep*. 2019. Vol. 4, N 2. P. 196–211. doi: 10.1016/j.ekir.2018.11.005
- 82.** Jariwala M.P., Laxer R.M. NETosis in rheumatic diseases // *Curr Rheumatol Rep*. 2021. Vol. 23, N 2. P. 9. doi: 10.1007/s11926-020-00977-6
- 83.** Shida H., Hashimoto N., Kusunoki Y., et al. Anti-neutrophil extracellular trap antibody in a patient with relapse of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: a case report // *BMC Nephrol*. 2018. Vol. 19, N 1. P. 145. doi: 10.1186/s12882-018-0953-y
- 84.** Gupta S., Kaplan M.J. The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases // *Nat Rev Nephrol*. 2016. Vol. 12, N 7. P. 402–413. doi: 10.1038/nrneph.2016.71
- 85.** Khandpur R., Carmona-Rivera C., Vivekanandan-Giri A., et al. NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis // *Sci Transl Med*. 2013. Vol. 5, N 178. P. 178ra40. doi: 10.1126/scitranslmed.3005580
- 86.** Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease // *Nat Rev Immunol*. 2018. Vol. 18, N 2. P. 134–147. doi: 10.1038/nri.2017.105
- 87.** Sabbatini M., Magnelli V., Renò F. NETosis in wound healing: when enough is enough // *Cells*. 2021. Vol. 10, N 3. P. 494. doi: 10.3390/cells10030494
- 88.** Barnes B.J., Adrover J.M., Baxter-Stoltzfus A., et al. Targeting potential drivers of COVID-19: neutrophil extracellular traps // *J Exp Med*. 2020. Vol. 217, N 6. P. e20200652. doi: 10.1084/jem.20200652
- 89.** Zuo Y., Yalavarthi S., Shi H., et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19 // *JCI Insight*. 2020. Vol. 5, N 11. P. e138999. doi: 10.1172/jci.insight.138999

REFERENCES

1. Pigarevskij VE, Mazing JuA. *Lizosomal'no-kationnyj test (metodicheskoe pis'mo)*. Leningrad: NIIJeM; 1987.
2. Majanskij AN. *Patogeneticheskaja mikrobiologija*. Nizhny Novgorod: Izdatel'stvo NGMA; 2006.
3. Akmaev IG, Afanas'ev Jul, Bobova LP, i dr. *Rukovodstvo po gistologii*. V 2 t. Danilov RK, Bykov VL, editors. Saint Petersburg: SpecLit, 2011. 495 p.
4. Nesterova IV, Kolesnikova NV, Chudilova GA, et al. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 1. *Russian Journal of Infection and Immunity (Infektsiya i immunitet)*. 2017;7(3):219–230. doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230
5. Simbircev AS, Totoljan AA. Citokiny v laboratornoj diagnostike. In: Dolgov VV, Menshikov VV. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika: nacional'noe rukovodstvo v 2 t*. Moscow: GJeOTAR-Media; 2013. Vol. 2. P. 193–217.
6. Korotina OL, Generalov II. Neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation, functions. *Immunopathology, Allergology, Infectology*. 2012;(4):23–32.
7. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532–1535. doi: 10.1126/science.1092385
8. Brinkmann V. Neutrophil extracellular traps in the second decade. *J Innate Immun*. 2018;10(5-6):414–421. doi: 10.1159/000489829
9. Takei H, Araki A, Watanabe H, et al. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis. *J Leukoc Biol*. 1996;59(2):229–240. doi: 10.1002/jlb.59.2.229
10. Dolgushin II, Shishkova JuS, Kurnosenko IV, et al. Participation of extracellular DNA traps in protective and pathological reactions of the organism. *Russian Journal of Immunology*. 2015;9(2):164–170.
11. Vorobjeva NV. Neutrophil extracellular traps: new aspects. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2020;75(4):210–225.
12. Wang Y, Li M, Stadler S, et al. Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *J Cell Biol*. 2009;184(2):205–213. doi: 10.1083/jcb.200806072
13. Delgado-Rizo V, Martínez-Guzmán MA, Iñiguez-Gutierrez L, et al. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation. *Front Immunol*. 2017;8:81. doi: 10.3389/fimmu.2017.00081
14. Masuda S, Nakazawa D, Shida H, et al. NETosis markers: quest for specific, objective, and quantitative markers. *Clin Chim Acta*. 2016;459:89–93. doi: 10.1016/j.cca.2016.05.029
15. Nakazawa D, Kudo T. Novel therapeutic strategy based on neutrophil subset and its function in autoimmune disease. *Front Pharmacol*. 2021;12:6848–6886. doi: 10.3389/fphar.2021.684886
16. Vorobjeva NV, Pinegin BV. Neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in health and disease. *Biochemistry (Moscow)*. 2014;79(12):1286–1296.
17. Alhede M, Qvortrup K, Kragh KN, et al. The origin of extracellular DNA in bacterial bio-film infections in vivo. *Pathog Dis*. 2020;78(2):ftaa018. doi: 10.1093/femspd/ftaa018
18. Khan MA, Ali ZS, Swezey N, et al. Progression of cystic fibrosis lung disease from childhood to adulthood: neutrophils, neutrophil extracellular trap (NET) formation, and NET degradation. *Genes (Basel)*. 2019;10(3):183. doi: 10.3390/genes10030183
19. Mayadas TN, Tsokos GC, Tsuboi N. Mechanism softImmune complex mediated neutrophil recruitment and tissue injury. *Circulation*. 2009;120(20):2012–2024. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.771170
20. Ravindran M, Khan MA, Palaniyar N. Neutrophil extracellular trap formation: physiology, pathology, and pharmacology. *Biomolecules*. 2019;9(8):365. doi: 10.3390/biom9080365
21. Sollberger G, Choidas A, Bum GL, et al. Gasdermin D plays a vital role in the generation of neutrophil extracellular traps. *Sci Immunol*. 2018;3(26):eaar6689. doi: 10.1126/sciimmunol.aar6689
22. Kravtsov AL. Formation of extracellular traps — the effective mechanism of organism protection from pathogen. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2012;(112):69–74.
23. Dolgushin II, Mezentseva EA. Neutrophil extracellular traps in the fight against biofilm-forming microorganisms: hunters or prey? *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2020;97(5):468–481. doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-9
24. Urban CF, Reichard U, Brinkmann V, et al. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms. *Cell Microbiol*. 2006;8(4):668–676. doi: 10.1111/j.1462-5822.2005.00659.x
25. Healy LD, Puy C, Fernández JA, et al. Activated protein C inhibits neutrophil extracellular trap formation in vitro and activation in vivo. *J Biol Chem*. 2017;292(21):8616–8629. doi: 10.1074/jbc.M116.768309
26. Díaz-Godínez C, Carrero JC. The state of art of neutrophil extracellular traps in protozoan and helminthic infections. *Biosci Rep*. 2019;39(1):BSR20180916. doi: 10.1042/BSR20180916
27. Mehrpouya-Bahrami P, Moriarty AK, De Melo P, et al. STS4 is expressed in neutrophils and promotes antimicrobial immunity. *JCI Insight*. 2021;6(14):e141326. doi: 10.1172/jci.insight.141326
28. Kubatiev AA, Borovaya TG, Zhukhovitskii VG. Platelets: a modern view on the structure and function. *Pathogenesis*. 2016;14(1):4–13.
29. Kassina DV, Vasilenko IA, Gur'ev AS, et al. Neutrophil extracellular traps: diagnostic and prognostic value in COVID-19. *Almanac of Clinical Medicine*. 2020;48(S1):43–50.
30. Tomar B, Anders HJ, Desai J, et al. Neutrophils and neutrophil extracellular traps drive necroinflammation in COVID-19. *Cells*. 2020;9(6):1383. doi: 10.3390/cells9061383
31. Vitkov L, Knopf J, Kronic' J, et al. Periodontitis-derived dark-NETs in severe Covid-19. *Front Immunol*. 2022;13:872695. doi: 10.3389/fimmu.2022.872695
32. Chen T, Li Y, Sun R, et al. Receptor-mediated NETosis on neutrophils. *Front Immunol*. 2021;12:775267. doi: 10.3389/fimmu.2021.775267
33. Steinberg BE, Grinstein S. Unconventional roles of the NADPH-oxidase: signaling, ion homeostasis, and cell death. *Sci STKE*. 2007;2007(379):pe11. doi: 10.1126/stke.3792007pe11
34. Takishita Y, Yasuda H, Shimizu M, et al. Formation of neutrophil extracellular traps in mitochondrial DNA-deficient cells. *J Clin Biochem Nutr*. 2020;66(1):15–23. doi: 10.3164/jcbn.19-77
35. Vorobyova NV, Kondratenko IV, Vakhlyarskaya SS, et al. The role of the mitochondrial pore in the effector functions of human neutrophils. *Immunologiya*. 2020;41(1):42–53. doi: 10.33029/0206-4952-2020-41-1-42-53
36. Fadeel B. Babies born without safety NET. *Blood*. 2009;113(25):6270–6271. doi: 10.1182/blood-2009-03-210328
37. Yipp BG, Kubes P. NETosis: how vital is it? *Blood*. 2013;122(16):2784–2794. doi: 10.1182/blood-2013-04-457671

38. Neeli I, Dwivedi N, Khan S, et al. Regulation of extracellular chromatin release from neutrophils. *J Innate Immun.* 2009;1(3):194–201. doi: 10.1159/000206974
39. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol.* 2007;176(2):231–241. doi: 10.1083/jcb.200606027
40. Kenny E.F, Herzig A, Kruger R, et al. Diverse stimuli engage different neutrophil extracellular trap pathways. *Elife.* 2017;6:e24437. doi: 10.7554/eLife.24437
41. Brinkmann V, Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs. *Nat Rev Microbiol.* 2007;5(8):577–582. doi: 10.1038/nrmicro1710
42. Pleskova SN, Kryukov RN. Proinflammatory mechanisms of neutrophil granulocyte death. *Tsitologiya.* 2019;61(5):357–369. doi: 10.1134/S0041377119050031
43. Pleskova SN, Gorshkova EN, Boryakov AV, Kriukov RN. Morphological characteristics of rapid and classical netosis. *Tsitologiya.* 2019;61(9):704–712. doi: 10.1134/S0041377119090098
44. Azzouz D, Palaniyar N. ROS and DNA repair in spontaneous versus agonist-induced NETosis: context matters. *Front Immunol.* 2022;13:1033815. doi: 10.3389/fimmu.2022.1033815
45. Farrera C, Fadeel B. Macrophage clearance of neutrophil extracellular traps is a silent process. *J Immunol.* 2013;191(5):2647–2656. doi: 10.4049/jimmunol.1300436
46. von Köckritz-Blickwede M, Goldmann O, Thulin P, et al. Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood.* 2008;111(6):3070–3080. doi: 10.1182/blood-2007-07-104018
47. Dvorski R, Simon HU, Hoskins A, Yousefi S. Eosinophil and neutrophil extracellular traps in human allergic asthmatic airways. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(5):1260–1266. doi: 10.1016/j.jaci.2010.12.1103
48. Möllerherm H, von Köckritz-Blickwede M, Branitzki-Heinemann K. Antimicrobial activity of mast cells: role and relevance of extracellular DNA traps. *Front Immunol.* 2016;7:265. doi: 10.3389/fimmu.2016.00265
49. Granger V, Faille D, Marani V, et al. Human blood monocytes are able to form extracellular traps. *J Leukoc Biol.* 2017;102(3):775–781. doi: 10.1189/jlb.3MA0916-411R
50. Ingelsson B, Söderberg D, Strid T, et al. Lymphocytes eject interferogenic mitochondrial DNA webs in response to CpG and non-CpG oligodeoxynucleotides of class C. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(3): E478–E487. doi: 10.1073/pnas.1711950115
51. Deev RV, Bilyalov AI, Zhampeisov TM. Modern ideas about cell death. *Genes & cells.* 2018;XIII(1):6–19.
52. de Buhr N, von Köckritz-Blickwede M. How neutrophil extracellular traps become visible. *J Immunol Res.* 2016;2016:4604713. doi: 10.1155/2016/4604713
53. Zharkova O, Tay SH, Lee HY, et al. A flow cytometry-based assay for high-throughput detection and quantification of neutrophil extracellular traps in mixed cell populations. *Cytometry.* 2019;95(3):268–278. doi: 10.1002/cyto.a.23672
54. Dolgushin II, Savochkina AJu, Shishkova JuS. Metody obnaruzhenija nejtrofil'nyh vnekletochnyh lovushek i ih primenenie v klinicheskoy laboratornoj diagnostike. *Russian Journal of Infection and Immunity (Infektsiya i immunitet).* 2012;2(1-2):259–260.
55. Yu X, Tan J, Diamond SL. Hemodynamic force triggers rapid NETosis within sterile thrombotic occlusions. *J Thromb Haemost.* 2018;16(2):316–329. doi: 10.1111/jth.13907
56. Gusakova N, Yarets Yu, Hamaliaka A. NET: the hunt goes on. *Science and Innovation.* 2017;(4):68–72.
57. Shiogama K, Onouchi T, Mizutani Y, et al. Visualization of neutrophil extracellular traps and fibrin meshwork in human fibrinopurulent inflammatory lesions: light microscopic study. *Acta Histochem Cytochem.* 2016;49(4):109–116. doi: 10.1267/ahc.16015
58. Thanabalasuriar A, Scott BNV, Peiseler M, et al. Neutrophil extracellular traps confine *Pseudomonas aeruginosa* ocular biofilms and restrict brain invasion. *Cell Host Microbe.* 2019;25(4):526–536. doi: 10.1016/j.chom.2019.02.007
59. Seki M. The role of neutrophil extracellular traps in infectious diseases. *J Infect Dis.* 2017;5:321.
60. Twaddell SH, Baines KJ, Grainge C, Gibson PG. The emerging role of neutrophil extracellular traps in respiratory disease. *Chest.* 2019;156(4):774–782. doi: 10.1016/j.chest.2019.06.012
61. Sultan AR, Hoppenbrouwers T, Lemmens-den Toom NA, et al. During the early stages of *Staphylococcus aureus* biofilm formation, induced neutrophil extracellular traps (NETs) are degraded by autologous thermonuclease. *Infect Immun.* 2019;87(12):e00605–e00619. doi: 10.1128/IAI.00605-19
62. Allen ER, Whitefoot-Keliin KM, Palmatier EM, et al. Extracellular vesicles from A23187-treated neutrophils cause cGAS/STING-dependent IL-6 production by macrophages. *Front Immunol.* 2022;13:949451. doi: 10.3389/fimmu.2022.949451
63. Jorch SK, Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med.* 2017;23(3):279–287. doi: 10.1038/nm.4294. PMID: 28267716
64. Laridan E, Denorme F, Desender L, et al. Neutrophil extracellular traps in ischemic stroke thrombi. *Ann Neurol.* 2017;82(2):223–232. doi: 10.1002/ana.24993
65. Rayes RF, Mouhanna JG, Nicolau I, et al. Primary tumors induce neutrophil extracellular traps with targetable metastasis promoting effects. *JCI Insight.* 2019;5(16):25. doi: 10.1172/jci.insight.128008
66. Lv D, Xu Y, Cheng H, et al. A novel cell-based assay for dynamically detecting neutrophil extracellular traps-induced lung epithelial injuries. *Exp Cell Res.* 2020;394(2):112101. doi: 10.1016/j.yexcr.2020.112101
67. Lood C, Blanco LP, Purmalek MM, et al. Neutrophil extracellular trap senrichedin oxidized mitochondrial DNA are inter ferogenicand contribute to lupus-like disease. *Nat Med.* 2016;22(2):146–153. doi: 10.1038/nm.4027
68. Martinod K, Wagner DD. Thrombosis: tangled up in NETs. *Blood.* 2014;123(18):2768–2776. doi: 10.1182/blood-2013-10-463646
69. Vallés J, Lago A, Santos MT, et al. Neutrophil extracellular traps are increased in patients with acute ischemic stroke: prognostic significance. *Thromb Haemost.* 2017;117(10):1919–1929. doi: 10.1160/TH17-02-0130
70. Ducroux C, Di Meglio L, Loyau S, et al. Thrombus neutrophil extracellular traps content impair tPA-induced thrombolysis in acute ischemic stroke. *Stroke.* 2018;49(3):754–757. doi: 10.1161/STROKEAHA.117.019896
71. Klopff J, Brostjan C, Eilenberg W, Neumayer C. Neutrophil extracellular traps and their implications in cardiovascular and inflammatory disease. *Int J Mol Sci.* 2021;22(2):559. doi: 10.3390/ijms22020559
72. Mun Y, Hwang JS, Shin YJ. Role of neutrophils on the ocular surface. *Int J Mol Sci.* 2021;22(19):10386. doi: 10.3390/ijms221910386

- 73.** Yang H, Biermann MH, Brauner JM, et al. New insights into neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in inflammation. *Front Immunol.* 2016;7:302. doi: 10.3389/fimmu.2016.00302
- 74.** Cedervall J, Zhang Y, Olsson AK. Tumor-induced NETosis as a risk factor for metastasis and organ failure. *Cancer Res.* 2016;76(15):4311–4315. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3051
- 75.** Thierry AR, Roch B. SARS-CoV2 may evade innate immune response, causing uncontrolled neutrophil extracellular traps formation and multi-organ failure. *Clin Sci (Lond).* 2020;134(12):1295–1300. doi: 10.1042/CS20200531
- 76.** Sivanandham R, Brocca-Cofano E, Krampe N, et al. Neutrophil extracellular trap production contributes to pathogenesis in SIV-infected nonhuman primates. *J Clin Invest.* 2018;128(11):5178–5183. doi: 10.1172/JCI99420
- 77.** Wong SL, Demers M, Martinod M, et al. Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis, which impairs wound healing. *Nat Med.* 2015;2(7):815–819. doi: 10.1038/nm.3887
- 78.** Cools-Lartigue J, Spicer J, McDonald B, et al. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis. *J Clin Invest.* 2013;123(8):3446–3458. doi: 10.1172/JCI67484
- 79.** Kessenbrock K, Krumbholz M, Schönemarker U, et al. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat Med.* 2009;15(6):623–625. doi: 10.1038/nm.1959
- 80.** Carmona-Rivera C, Kapla MJ. Low-density granulocytes: a distinct class of neutrophils in systemic autoimmunity. *Semin Immunopathol.* 2013;35(4):455–463. doi: 10.1007/s00281-013-0375-7
- 81.** van Dam LS, Rabelink TJ, van Kooten C, Teng YKO. Clinical implications of excessive neutrophil extracellular trap formation in renal autoimmune diseases. *Kidney Int Rep.* 2019;4(2):196–211. doi: 10.1016/j.ekir.2018.11.005
- 82.** Jariwala MP, Laxer RM. NETosis in rheumatic diseases. *Curr Rheumatol Rep.* 2021;23(2):9. doi: 10.1007/s11926-020-00977-6
- 83.** Shida H, Hashimoto N, Kusunoki Y, et al. Anti-neutrophil extracellular trap antibody in a patient with relapse of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: a case report. *BMC Nephrol.* 2018; 19(1):145. doi: 10.1186/s12882-018-0953-y
- 84.** Gupta S, Kaplan MJ. The role of neutrophils and NETosis in autoimmune and renal diseases. *Nat Rev Nephrol.* 2016;12(7):402–413. doi: 10.1038/nrneph.2016.71
- 85.** Khandpur R, Carmona-Rivera C, Vivekanandan-Giri A, et al. NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med.* 2013;5(178):178ra40. doi: 10.1126/scitranslmed.3005580
- 86.** Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol.* 2018;18(2):134–147. doi: 10.1038/nri.2017.105
- 87.** Sabbatini M, Magnelli V, Renò F. NETosis in wound healing: when enough is enough. *Cells.* 2021;10(3):494. doi: 10.3390/cells10030494
- 88.** Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J Exp Med.* 2020;217(6):e20200652. doi: 10.1084/jem.20200652
- 89.** Zuo Y, Yalavarthi S, Shi H, et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight.* 2020;5(11):e138999. doi: 10.1172/jci.insight.138999

ОБ АВТОРАХ

* **Миргородская Ольга Евгеньевна**, к.б.н.;
адрес: Россия, 194044, Санкт-Петербург,
ул. Академика Лебедева, д. 6;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3380-9223>;
eLibrary SPIN: 4318-7410;
e-mail: mirgolga@yandex.ru

Одинцова Ирина Алексеевна, д.м.н., профессор;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0143-7402>;
eLibrary SPIN: 1523-8394

Русакова Светлана Эдуардовна, к.б.н., доцент;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1574-6705>;
eLibrary SPIN: 5429-4630

Горбулич Алена Валентиновна;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5540-4684>;
eLibrary SPIN: 7264-0438

Гололобов Валерий Григорьевич, д.м.н., профессор;
eLibrary SPIN: 4740-7404

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

* **Olga E. Mirgorodskaya**, Cand. Sci. (Biol.);
address: 6 Academician Lebedeva street,
194044 Saint Petersburg, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3380-9223>;
eLibrary SPIN: 4318-7410;
e-mail: mirgolga@yandex.ru

Irina A. Odintsova, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0143-7402>;
eLibrary SPIN: 1523-8394

Svetlana E. Rusakova, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1574-6705>;
eLibrary SPIN: 5429-4630

Alena V. Gorbulich;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5540-4684>;
eLibrary SPIN: 7264-0438

Valery G. Gololobov, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor;
eLibrary SPIN: 4740-7404