

СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О МЕХАНИЗМАХ ОБРАЗОВАНИЯ  
НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК

Косыбаева А.Е.<sup>1</sup>, Мараткызы М.<sup>1</sup>, Итаева Э.В.<sup>1</sup>, Кожамбердиева Д.А.,<sup>2</sup> Халмуминов  
А.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>- Карагандинский государственный медицинский университет

<sup>2</sup> - Казахский национальный медицинский университет имени С. Д. Асфендиярова

**Резюме.** Статья посвящена анализу результатов исследования с изучением современных представлений о нейтрофильных внеклеточных ловушках. Нейтрофилы являются доминирующими клетками иммунной системы и служат первой линией защиты организма от вторжения патогенных микроорганизмов. После активации нейтрофилы атакуют и уничтожают патогенные микроорганизмы благодаря фагоцитозу, в процессе которого высвобождаются бактерицидные пептиды, протеолитические ферменты, активные формы кислорода (АФК) и недавно описанные нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ). Одним из актуальных направлений исследования социально-значимых заболеваний является изучение внеклеточных нейтрофильных ловушек, обладающих двойной ролью: с одной стороны, выполняют защитную функцию, с другой - являются потенциальными медиаторами тканевого повреждения. В этой связи оценка образования внеклеточных ловушек представляет безусловную актуальность и важность поскольку во многом может определить развитие и исходы различной патологии. Согласно данным за последние годы, установлено, что нейтрофилы обладают большой фенотипической гетерогенностью и функциональной универсальностью, которые ставят нейтрофилы в качестве важных модуляторов как воспаления, так и иммунных реакций. Таким образом, представляет интерес оценка способности нейтрофилов к образованию внеклеточных ловушек при социально-значимых заболеваниях, поскольку внеклеточные ловушки определяют баланс между воспалительным процессом и клиренсом патогена.

Ключевые слова: нейтрофилы, нейтрофильные внеклеточные ловушки, механизмы образования.

MODERN REPRESENTATION OF THE NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS  
MECHANISMS FORMATION

Kossybaeva A.E.<sup>1</sup>, Maratkızı M.<sup>1</sup>, Itaeva E.V.<sup>1</sup>, Kozhamberdieva D.A.,<sup>2</sup> Khalmuminov A. D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Karaganda state medical university

<sup>2</sup> - Kazakh state medical university named by S.D. Asfendiyarov

Summary. The article is devoted to the analysis of research results with the study of modern concepts of neutrophil extracellular traps. Neutrophils are the dominant immune cells and serve as the front line of human organism against invading pathogens. Neutrophils are activated by pathogens which lead to attack and destroy pathogens by phagocytosis, along with releasing bactericidal peptides, proteolytic enzymes, reactive oxygen species (ROS), and the recently described neutrophil extracellular traps (NETs). One of the current areas of research for socially significant diseases is the study of extracellular neutrophilic traps with a dual role: on the one hand, they perform a protective function, on the other - they are potential mediators of tissue damage. In this regard, the assessment of the formation of extracellular traps is of absolute relevance and importance because it can largely determine the development and outcomes of various pathologies. According to data from recent years, it has been established that neutrophils have a high phenotypic heterogeneity and functional universality, which place neutrophils as important modulators of both inflammation and immune responses. Thus, it is of interest to evaluate the ability of neutrophils to form extracellular traps in case of socially significant diseases, since extracellular traps determine the balance between the inflammatory process and the clearance of the pathogen.

Key words: neutrophils, neutrophil extracellular traps, formation mechanisms.

**Введение.** Тщательное изучение морфологических форм нейтрофильных гранулоцитов и их функциональной активности всё ещё остается важной задачей практической медицины. Нейтрофильные гранулоциты активно участвуют в реакциях как врожденного так и приобретенного иммунитета, а также в поддержании гомеостаза организма в целом [1,2]. В современной литературе известно, что нейтрофилы обладают свойством сохранять свою антимикробную активность даже после того, как клетка заканчивает свой антимикробный цикл.

Цель данной статьи - изучить современные представления о механизмах формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек для формулирования дальнейших научных поисков по данной проблеме.

Материал исследования - аналитический обзор научных данных за последние 10 лет по проблеме исследования НВЛ; систематизация имеющихся материалов. Методы исследования – теоретический, методологический, организационный, построение научной гипотезы.

В 2004 году описан новый механизм антимикробного действия нейтрофилов – образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellulartraps, NETs или НВЛ). Длительный период времени апоптоз считался единственной физиологической формой программируемой гибели нейтрофилов в процессе поддержания гомеостаза. Тем не менее, в исследованиях последних лет было обнаружено, что для эффективного разрешения исхода воспаления в нейтрофилах предусмотрены и иные антибактериальные стратегии – дегрануляция и нетоз (внеклеточные ловушки, НВЛ). Эти пути взаимодействия организма и патогена также играют ключевую роль в повреждении тканей, обеспечивая цитотоксические функции.

Нейтрофилы являются одним из важнейших компонентов неспецифической защитной системы организма. После активации нейтрофилов патогенными микроорганизмами в них происходит каскад окислительных реакций. Окислительные реакции провоцируют формирование большого количества свободных радикалов, обладающих выраженным бактерицидным действием. Нейтрофильные гранулы содержат ряд веществ, разрушающие клеточную стенку бактерий: лизоцим и лактоферрин, а также и гидролитические ферменты [3]. Нейтрофилы, являясь первыми иммунными клетками, достигающие места повреждения или инфицирования, являются ключевыми компонентами в уничтожении микробов [4, 5]. Следовательно, нейтрофилы выступают в качестве первой линии защиты от патогенных микроорганизмов посредством фагоцитоза, выделения активных форм кислорода (АФК) и дегрануляции [6,7].

В системе противoinфекционной защиты организма нейтрофилы рассматриваются как высокопрофессиональные «киллеры», имеющие большой спектр мощных бактерицидных и цитотоксических продуктов (Долгушин И.И., 2001). Нейтрофилы обладают специализированным набором рецепторов, помогающим им дифференцированно реагировать на изменение гомеостаза организма (Ковальчук Л.В. и др., 2005; Семенов Б.Ф., Зверев В.В., 2007; Hoffmann J.A. et al., 1999; Hoffmann J.A. et al., 2003). Выявлено два способа действия активированных нейтрофилов на сигнал, вызвавший их активацию, одним из которых является фагоцитоз, способствующий фагоцитировать патоген и уничтожить его в фаголизосомах, а также секретировать наружу бактерицидные продукты, представляющие собой содержимое гранул [Долгушин И.И., Бухарин О.В., 2001]. Нейтрофилы погибают после фагоцитирования чужеродных частиц, секретирова биологически активные вещества. По мнению ряда исследователей, активированные нейтрофилы являются цитотоксичными для окружающих тканей, так как продуцируют большой спектр цитокинов. Продукция провоспалительных цитокинов приводит к дисбалансу между про- и противовоспалительным пулом [8].

Процесс формирования внеклеточных ловушек отличается от некроза морфологическими изменениями ядра, предшествующие образованию сетей. Ядерная мембрана во время некроза остается обычно неизменной, а при образования сетей распадается на большое количество пузырьков. Нейтрофилы нейтрализуют или локализируют распространение патогенных микроорганизмов, образовав внеклеточные ловушки в тех случаях, когда поглощаемый патоген слишком велик для фагоцитоза [9]. Еще одной отличительной особенностью в процессе формирования НВЛ является специфическая активация нейтрофила с участием NADPH оксидазы. Выявлено, что большинство нейтрофильных гранулоцитов имеют способность генерировать внеклеточные сети. Литературные источники свидетельствуют, что существуют механизмы регулирования программы запуска нейтрофилов, которая завершается формированием НВЛ [10]. Данная стратегия действия нейтрофилов является последним шагом в программе активной контролируемой клеточной гибели нейтрофилов. По мнению ряда исследователей, установлено, что генерация нейтрофилами внеклеточных ловушек является важным механизмом врожденного иммунного ответа, защищающий организм от большинства инфекционных агентов [11, 12].

В результате проведенных исследований были предложены две модели формирования нейтрофильных ловушек. Первая модель генерации нейтрофилами ловушек является одной из форм запрограммируемой клеточной гибели, характеризующаяся нарушением целостности клеточной мембраны с последующей секрецией деконденсированного хроматина и содержимого гранул во внеклеточное пространство [13]. Эта модель формирования ловушек является зависимой от НАДФН-оксидазы. Данный механизм характеризуется фрагментацией ядерной оболочки, секрецией деконденсированного хроматина вместе с гистоновыми белками в цитоплазму. Впоследствии чего происходит сокращение нитей цитоскелета, клеточная мембрана теряет свою целостность, и сформированная масса биологически активных веществ высвобождается во внеклеточное пространство [14]. Механизм формирования сети занимает 120–240 минут [15].

Вторая модель (альтернативный механизм) формирования ловушек представлена образованием сетей из митохондриальной ДНК интактных нейтрофилов, содержащих пузырьки, которые секретируют деконденсированный хроматин и гранулярные гистоновые белки в межклеточное пространство. Альтернативный механизм образования внеклеточных ловушек зависит от индукции активных форм кислорода, протекающий быстро (в течение 5–60 мин). Данная модель не связана с клеточной гибелью, но ассоциирована с аутофагией [16]. Из анализа литературных источников установлено, что нейтрофильная внеклеточная ловушка, образованная из митохондриальной ДНК отличается от ловушек, полученных из

ядерной ДНК. Исследования показали, что митохондриальные внеклеточные ловушки содержат гистоновые белки и ферменты гранул нейтрофилов с митохондриальной ДНК, в которых отсутствовали ядерные протеины (Yousefi et al. 2009).

Исследованиями ученых выявлено, что количество формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек зависит от течения заболевания. Распределение нейтрофилов и нейтрофильных внеклеточных ловушек при сердечно-сосудистой патологии обусловлено в различных типах осложнений бляшек или кровоизлияний. Ученые доказали, что присутствие нейтрофильных сетей обратно пропорционально возрасту массы тромба или кровотечения, но остается высоким в продолжающихся кровотечениях.

Таким образом, доказано что образование нейтрофильных внеклеточных ловушек может способствовать прогрессированию тромботических или геморрагических осложнений, приводящих к формированию клинических коронарных ишемических синдромов [17, 18].

Представления о роли НВЛ при онкологии сильно варьируют. С одной стороны, есть данные об антиканцерогенных свойствах НВЛ, связанных с прямым разрушением опухолевых клеток и стимуляцией иммунной системы. Миелоидные клетки секретируют нейтрофильную эластазу и внеклеточные ловушки нейтрофилов в ответ на сигналы в микроокружении опухоли, что приводит к усилению активности при различных типах рака. Нейтрофильная эластаза, действительно, может быть движущей силой онкогенеза, в качестве стимулирующего фактора при раке, уделяя особое внимание точным механизмам, с помощью которых она способствует росту первичной опухоли и метастазированию вторичных органов [19].

Высокая заболеваемость внебольничной пневмонией и возрастающая доля в их числе резистентных и тяжелых форм, приводящих к летальному исходу, определяют необходимость углубленных исследований патогенетических механизмов тяжелых пневмоний в целях открытия путей оптимизации диагностики и лечения.

Одним из актуальных направлений исследования ВП является изучение внеклеточных нейтрофильных ловушек, обладающих двоякой ролью: с одной стороны, выполняют защитную функцию, с другой - являются потенциальными медиаторами тканевого повреждения [20]. В этой связи оценка образования внеклеточных ловушек представляет безусловную актуальность и важность поскольку во многом может определить развитие и исходы острой пневмонии и ХОБЛ.

Таким образом, представляет интерес оценка способности нейтрофилов к образованию внеклеточных ловушек при социально-значимых заболеваниях. Необходимо провести дальнейшие исследования, которые расширят представление о механизмах формирования НВЛ при различной патологии. Полученные результаты исследования возможно внесут

определенный вклад в изучение механизмов развития внеклеточных ловушек и определить новые цели для терапевтического воздействия.

## Литература

1. Gura, T. Innate immunity: ancient system gets new respect / T. Gura // *Science*. – 2001 Mar. – Vol.291, N 5511. – P. 2068–2070.
2. Долгушин, И. И. Нейтрофилы и гомеостаз / И. И. Долгушин, О. В. Бухарин. – Екатеринбург: Изд-во УрОРАН, 2001. – 256 с. 3. Пинегин, Б. В. Нейтрофилы: структура и функция / Б. В. Пинегин, А. Н. Маянский // *Иммунология*. – 2007. – № 6. – С. 374-382.
3. Palmer L.J. Neutrophil extracellular traps in periodontitis. A thesis submitted to The University of Birmingham for the degree of doctor of philosophy 2010; 307.
4. Brinkmann V., Goosmann C., Kühn L.I., Zychlinsky A. Automatic quantification of invitro NET formation. *Front. Immunol.* 2013; 3: 413. doi: 10.3389/fimmu.2012.00413,
5. Fush T.A., Abed U., Goosmann C., Hurwitz R., Schulze I., Wahn V. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol.* 2007; 176: 231–41.
6. Branzk N., Papayannopoulos V. Molecular mechanisms regulating NETosis in infection and disease. *Semin Immunopathol.* 2013; 35(4): 513–30. doi: 10.1007/s00281-013-0384-6.
7. Patel S., Kumar S., Jyoti A., Srinag B.S., Keshari R.S., Saluja R., Verma A., Mitra K., Barthwal M. K Krishnamurthy H. Nitricoxide donors release extracellular traps from human neutrophils by augmenting free radical generation. *Nitric Oxide.* 2010; 22: 226–34.
8. Rao A.N., Kazzaz N.M., Knight J.S. Do neutrophil extracellular traps contribute to the heightened risk of thrombosis in inflammatory diseases? *World J Cardiol.* 2015; 7(12): 829–42. doi: 10.4330/wjc.v7.i12.829
9. Fuchs T.A., Abed U., Goosmann C. et al. Novel cells death program leads to neutrophil extracelllula rtraps. *J. CellBiol.* 2007; 176(2):231\_241.
10. Yousefi S., Gold J. A., Andina N., Lee J. J. et al. Catapult\_like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense. *Nature Medicine* 2008; 14(9): 949\_953.
11. Brinkmann V., Rechard U., Goosmann C. et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004; 303: 1532\_1535. 28. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to, make NETs. *NatureRev.* 2007; 5: 577\_582.
12. Fuchs H. J., Borowitz D. S., Christiansen D. H. et al. Effect of Aerosolized Recombinant Human Dnase on Exacerbationsof Respiratory Symptoms and on Pulmonary\_Function in Patients with Cystic\_Fibrosis. *New England Journal of Medicine* 1994; 331(10): 637\_642.
13. Lee W. L., Grinstein S. The tangled webs that neutrophils weave. *Science* 2004; 303(5663): 1477-1478.

14. Oehmcke S., Morgelin M., Herwald H. Activation of the Human Contact System on Neutrophil Extracellular Traps. *J. Innate Immun.* 2009; 1:225-230.
15. *Autoimmun Rev.* 2018 Nov;17(11):1138-1149. doi: 10.1016 /j .autrev. 2018.06.006. Epub 2018 Sep 11. Neutrophils: Novel key players in Rheumatoid Arthritis. Current and future therapeutic targets. Cecchi I, Arias de la Rosa I, Menegatti E, Roccatello D, Collantes-Estevez E, Lopez-Pedraza C, Barbarroja N.
16. Citrullinated Histone H3: Early Biomarker of Neutrophil Extracellular Traps in Septic Liver Damage. Nomura K, Miyashita T, Yamamoto Y, Munesue S, Harashima A, Takayama H, Fushida S, Ohta T. *J Surg Res.* 2019 Feb;234:132-138. doi: 10.1016/j.jss.2018.08.014. Epub 2018 Oct 10. PMID: 30527465.
17. *Thromb Haemost* 2018; 118(06): 1078-1087 DOI: 10.1055/s-0038-1641749/Atherosclerosis and Ischaemic Disease/ Neutrophil Extracellular Traps Participate in All Different Types of Thrombotic and Haemorrhagic Complications of Coronary Atherosclerosis Pertiwi KR, van der Wal AC, Pabittei DR, Mackaaij C, van Leeuwen MB, Li X, de Boer OJ.
18. *Steroids.* 2018 May;133:96-101. doi: 10.1016/j.steroids.2017.11.006. Epub 2017 Nov 16. Neutrophil elastase in the tumor microenvironment. Lerman I, Hammes SR.
19. Chronic obstructive pulmonary disease and mortality from pneumonia: a meta-analysis / Y.K. Loke [et al.] // *Int. J. Clin. Pract.* – 2013. – Vol. 67, № 5. – P. 477–487.
20. Zhou X, Dai Q, Huang X. Neutrophils in acute lung injury // *Front Biosci (Landmark Ed).* – 2012. – 1;17. – P.2278-2283.