

ОБЗОР

УДК 571.27

Нейтрофильные внеклеточные ловушки: новые аспекты

Н.В. Воробьева 

*Кафедра иммунологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12
e-mail: nvvorobjeva@mail.ru*

Нейтрофилы являются «первой линией» защиты от патогенов в очаге воспаления, где они используют такие эффекторные функции, как фагоцитоз, дегрануляцию и образование активных форм кислорода (АФК). В 2004 г. Артуро Циклински охарактеризовал еще одну эффекторную функцию нейтрофилов – выброс нейтрофильных внеклеточных ловушек, или NET (neutrophil extracellular traps). NET представляют собой модифицированный хроматин, «декорированный» бактерицидными белками гранул, ядра и цитоплазмы. Выброс NET может активироваться разнообразными физиологическими и фармакологическими стимулами и зависит от АФК, основным источником которых является NADPH-оксидаза. В процессе активации NET происходят выход бактерицидных компонентов гранул в цитоплазму, модификация гистонов, ведущая к деконденсации хроматина, разрушение ядерной оболочки и цитоплазматической мембраны при участии белка газдермина D и, наконец, выброс хроматина за пределы клетки. Вместе с тем, неконтролируемое образование NET является провоцирующим фактором развития многих воспалительных и аутоиммунных заболеваний. NET были обнаружены при таких аутоиммунных заболеваниях, как системная красная волчанка, ревматоидный артрит, псориаз и васкулиты; NET участвуют в патогенезе сердечно-сосудистых, легочных и онкологических заболеваний. В настоящем обзоре обсуждаются основные представления о механизмах образования NET, а также их роль в физиологических процессах и патогенезе ряда заболеваний, включая COVID-19.

Ключевые слова: *нейтрофил, нейтрофильные внеклеточные ловушки, NETоз, NADPH-оксидаза, активные формы кислорода, тромбообразование, сепсис*

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Введение.....	210
2. Механизмы образования NET	211
2.1. NETоз, происходящий с участием NADPH-оксидазы	211
2.2. NETоз, происходящий с участием митохондриальных АФК.....	214
2.3. Роль гистонов в образовании NET	214
2.4. Витальный выброс хроматина	214
3. Роль NET в защите хозяина и в патологии.....	215
3.1. NET и воспалительные заболевания легких	215
3.2. NET и тромбообразование	216
3.3. NET и рак.....	216
3.4. NET и аутоиммунные заболевания.....	217
3.5. Сепсис.....	217
Заключение.....	217
Список литературы	221

Введение

С момента расшифровки генетического кода в середине 60-х гг. прошлого века и до 2004 г. считалось, что ДНК служит исключительно для хранения генетической информации. Однако оказалось, что хроматин является также частью врожденного иммунитета и выполняет важные эффекторные функции в отношении большого

количества разнообразных патогенов. Это открытие принадлежит группе ученых, работающих под руководством Артуро Циклински и опубликовавших свою «революционную» работу в журнале Science в 2004 г. [1]. Выброс хроматина впервые наблюдали у нейтрофилов человека и мышей, и он получил название нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps,

NET). NET состоят из модифицированного хроматина, «декорированного» белками гранул, ядра и цитоплазмы. Поскольку первоначально было показано, что образование NET сопровождается гибелью нейтрофилов, этот процесс был назван НЕТозом [2], и он отличается по ряду признаков от апоптоза, некроза, некроптоза и аутофагии.

Образование NET может активироваться большим количеством разнообразных физиологических стимулов, таких как бактерии, грибы, простейшие, вирусы, компоненты бактериальной клеточной стенки – липополисахариды (ЛПС). Выброс NET могут индуцировать антитела и иммунные комплексы, цитокины и хемокины (IL-8, TNF- α , IFN- γ), холестерин, стеариламин, микрокристаллы, а также такие фармакологические стимулы, как форбол 12-миристинат 13-ацетат (ФМА), кальциевые (иономицин, A23187) и калиевые (нигерицин) ионофоры [3].

Выброс хроматина был обнаружен и у других типов гранулоцитов – эозинофилов [4], базофилов [5], тучных клеток [6], а также у лимфоцитов (Т-лимфоциты, В-лимфоциты, натуральные киллерные клетки) [7], моноцитов [8] и макрофагов [9]. Интересно, что деконденсированный хроматин используют для защиты от патогенов не только животные, но и низшие эукариоты – например, почвенная амеба *Dictyostelium discoideum* [10], а также растения. Так, в работе Хоза и соавт. [11] был обнаружен выброс хроматина корнями растений в ответ на патогенные грибы.

Помимо участия в защите хозяина от патогенов, NET играют существенную роль в патогенезе многих воспалительных и аутоиммунных заболеваний. NET были обнаружены при тяжелых легочных, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваниях. Компоненты NET являются триггерами для образования аутоантител, и NET-опосредованные иммунные комплексы были обнаружены при таких аутоиммунных патологиях, как системная красная волчанка (СКВ), ревматоидный артрит (РА), псориаз, васкулиты и др. В связи с этим, понимание сигнальных путей, лежащих в основе образования NET, крайне важно при создании лекарственных средств для борьбы с перечисленными недугами. В настоящее время накоплено достаточно много данных о механизмах образования NET, но их понимание является далеко не полным. В данном обзоре рассмотрены базовые представления о механизмах образования нейтрофильных ловушек, а также освещена их роль в патогенезе ряда заболеваний.

2. Механизмы образования NET

2.1. НЕТоз, происходящий с участием NADPH-оксидазы

НЕТоз, происходящий с участием NADPH-оксидазы и заканчивающийся гибелью нейтрофи-

ла, был исследован в первых работах А. Циклински и условно назван классическим или суицидальным [1]. Агонистами классического НЕТоза являются многие микроорганизмы и фармакологические стимулы, включая ФМА. Механизм этого типа НЕТоза в настоящее время подробно изучен (рис. 1 и 2). ФМА, имитируя действие диацилглицерола, активирует изоформы протеинкиназы C (ПКС), участвующие в фосфорилировании субъединиц NADPH-оксидазы [12]. Последующая сборка и активация NADPH-оксидазы приводят к превращению молекулярного кислорода в супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot -}$). Фармакологическое ингибирование NADPH-оксидазы или нейтрализация АФК подавляют образование NET [13]. Важно отметить, что нейтрофилы пациентов с мутациями в субъединицах NADPH-оксидазы не способны к образованию NET в ответ на фармакологические стимулы и микроорганизмы, что подтверждает важную роль АФК на генетическом уровне [14]. Супероксидный анион-радикал дисмутирует спонтанно или при участии супероксиддисмутазы с образованием пероксида водорода, который затем превращается в галоидные кислоты при участии миелопероксидазы (МПО). Было показано, что ингибиторы МПО также блокируют НЕТоз, и нейтрофилы пациентов с мутациями этого фермента не образуют NET [15].

МПО является частью белкового комплекса, называемого «азуромой» и расположенного в азурофильных гранулах. Азуросома включает восемь типов белков, таких как МПО, нейтрофильная эластаза (НЭ), азуроцидин, катепсин G, лактоферрин, протеиназа 3, лизоцим и эозинофильный катионный белок, причем три из них представляют собой высокомолекулярные сериновые протеазы (НЭ, катепсин G и азуроцидин) [16]. Показано, что пероксид водорода вызывает диссоциацию азуромы, что способствует выходу сериновых протеаз из гранул в цитозоль [16]. В цитозоле НЭ расщепляет F-актин, что приводит к диссоциации цитоскелета и иммобилизации нейтрофила [16]. Затем сериновые протеазы мигрируют из цитозоля в ядро, по-видимому, пассивно диффундируя через ядерные поры. В ядре НЭ расщепляет гистоны, способствуя деконденсации хроматина. МПО также перемещается в ядро, где действует синергетически с НЭ, хотя точная функция этого фермента в НЕТозе не известна. Из цитоплазмы в ядро также поступает пептидил-аргининдезаминаза 4 (PAD4) [17], которая обеспечивает цитруллинирование гистонов (дезаминирование положительно заряженных остатков аргининов с образованием электронейтральных цитруллинов), что приводит к ослаблению связи гистонов с хроматином и его последующей деконденсации. После разрушения ядерной и гранулярных мембран при участии порообразующего белка

газдермина D (GSDMD) [18] происходит электростатическое связывание содержимого гранул с деконденсированным хроматином. На завершающей стадии процесса в цитоплазматической мембране образуются поры, также сформированные газдермином D [18], через которые хроматин

выбрасывается во внеклеточное пространство — происходит НЕТоз [19].

Было показано, что в процессе классического сигнального пути индуцируются такие киназы, как c-Raf, MEK, Akt и ERK, также участвующие в активации NADPH-оксидазы [13].

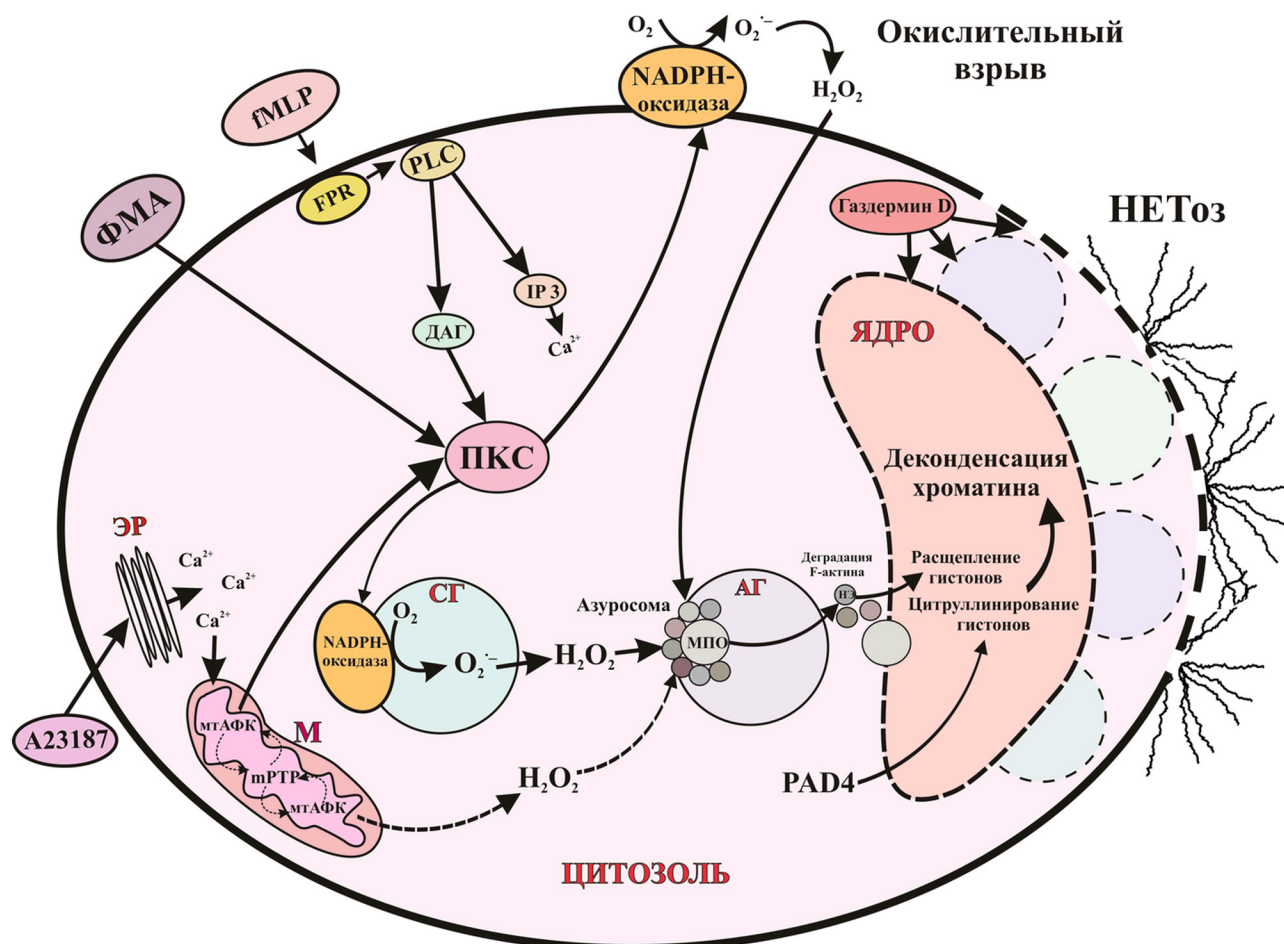


Рис. 1. Схематическое изображение классического НЕТоза

Стимулятор классического НЕТоза форбол 12-миристинат 13-ацетат (ФМА) активирует изоформы протеинкиназы С (ПКС), участвующие в фосфорилировании субъединиц NADPH-оксидазы. Последующая сборка и активация NADPH-оксидазы на мембранах специфических гранул (СГ) и на цитоплазматической мембране приводят к превращению молекулярного кислорода в супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot -}$). Затем супероксид дисмутирует спонтанно или при участии супероксиддисмутазы с образованием пероксида водорода (H_2O_2). NADPH-оксидаза может быть также активирована хемоаттрактантом *N*-формил-метионил-лейцил-фенилаланином (fMLP), который, связываясь со специфическим рецептором, активирует фосфолипазу С (PLC), стимулирующую образование диацилглицерола (ДАГ) и инозитолтрифосфата (IP3) из фосфатидилинозитолдифосфата. По невыясненным до сих пор причинам, fMLP не индуцирует НЕТоз. Пероксид водорода стимулирует диссоциацию «азуром», расположенных в мембранах азурофильных гранул (АГ) и состоящих из 8 типов белков, включая миелопероксидазу (МПО) и сериновые протеазы — нейтрофильную эластазу (НЭ), катепсин G и азуроцидин. Сериновые протеазы выходят в цитозоль и расщепляют F-актин, способствуя диссоциации актинового цитоскелета и иммобилизации нейтрофила. Затем сериновые протеазы мигрируют из цитозоля в ядро, где они (в основном, НЭ) расщепляют гистоны, способствуя деконденсации хроматина. МПО также перемещается в ядро, где действует синергетически с НЭ. Из цитоплазмы в ядро также поступает пептидил-аргининдезаминаза 4 (PAD4), которая обеспечивает цитруллинирование гистонов, что приводит к ослаблению связи гистонов с хроматином и его последующей деконденсации. Параллельно происходит везикуляция ядерной мембраны и разрушение мембран гранул при участии порообразующего белка газдермина D, что приводит к последующему электростатическому связыванию содержимого гранул с деконденсированным хроматином. На завершающей стадии процесса в цитоплазматической мембране образуются поры, также сформированные газдермином D, через которые хроматин выбрасывается во внеклеточное пространство — происходит НЕТоз. НЕТоз, вызванный кальциевым ионофором A23187, начинается с мобилизации Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума (ЭР). Последующее накопление Ca^{2+} в митохондриальном матриксе (М) приводит к активации неселективной митохондриальной поры (mPTP) и образованию митохондриальных активных форм кислорода (mtAФК). mtAФК затем выходят из митохондрий в цитозоль, где активируют NADPH-оксидазу, по-видимому, при участии протеинкиназы С (ПКС) [16, 18, 31].

Пунктирные стрелки указывают на гипотетический путь передачи информации.

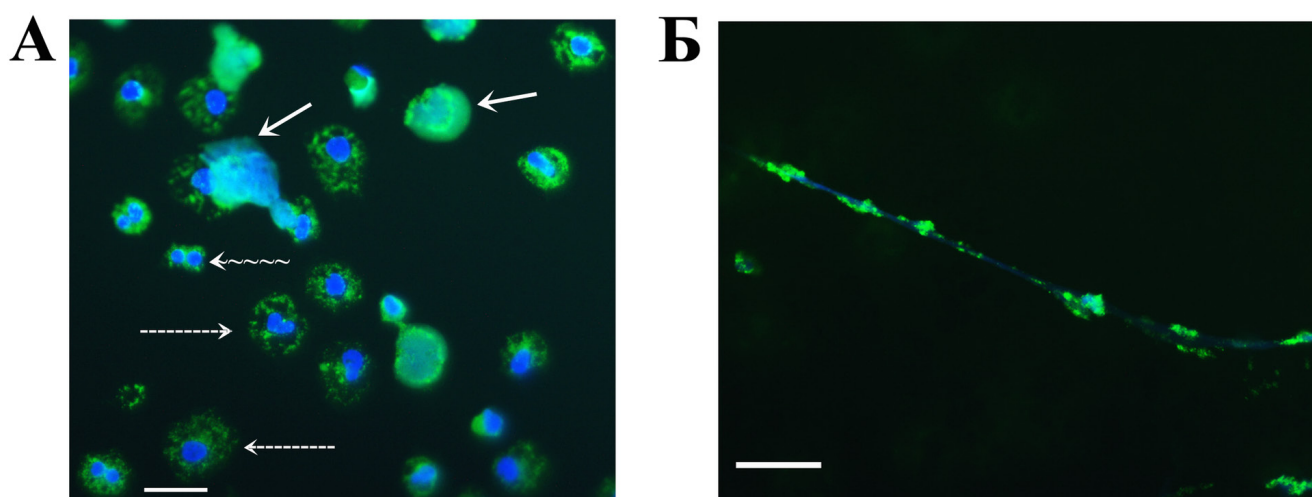


Рис. 2. Нейтрофильные внеклеточные ловушки (NET). Иммунофлуоресцентное окрашивание

На фотографии (А) можно видеть различные стадии образования NET после стимуляции нейтрофилов человека ФМА. Сплошные стрелки указывают на нетотические нейтрофилы, пунктирные — на активированные клетки с делобулированным ядром, волнистые — на интактные нейтрофилы.

Хроматин окрашен DAPI (голубое свечение), миелопероксидаза — FITC-мечеными антителами к МПО (зеленое свечение). Увеличение: 40×. Масштаб 25 μм.

На фотографии (Б) представлена нейтрофильная ловушка, полученная при стимуляции нейтрофилов ФМА. Остов ДНК окрашен DAPI (голубое свечение), катионный антимикробный белок кателицидин hCAP18 — FITC-мечеными антителами к LL-37 (зеленое свечение). Увеличение 100×. Масштаб 5 μм.

Фотографии получены Н.В. Воробьевой.

Следует отметить, что данные, касающиеся участия PAD4 в ФМА-индуцированном НЕТозе, являются противоречивыми. С одной стороны, было показано, что нейтрофилы мышей, имеющие нокаут по PAD4, не формируют NET в ответ на ФМА. Кроме того, фармакологическое подавление PAD4 хлорамидином GSK484 также приводило к ингибированию НЕТоза, индуцированного форболовым эфиром [20]. С другой стороны, с использованием конфокальной микроскопии было установлено, что ФМА не вызывает существенного дезаминарования гистонов при НЕТозе [21], основной функции PAD4.

Возможное участие PAD4 в классическом НЕТозе, индуцированном ФМА, вызывает другой интересный вопрос. Поскольку PAD4 является кальций-зависимым ферментом, то при активации НЕТоза ФМА необходимо повышение цитозольного Ca^{2+} . Однако, как было показано в ранних работах, ФМА не стимулирует высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума [22] или приток внеклеточного Ca^{2+} в цитозоль [23]. В связи с этим участие PAD4 в ФМА-индуцированном НЕТозе становится маловероятным. Вместе с тем, в нашей работе [24] было установлено, что ФМА-индуцированный НЕТоз подавляется эффективно и дозозависимым способом хелатором цитозольного Ca^{2+} ВАРТА-АМ, что свидетельствует о скрытом повышении содержания цитозольного Ca^{2+} , которого хватает для активации PAD4 и индукции НЕТоза.

Активация специфических рецепторов может не только стимулировать, но и подавлять НЕТоз. Например, простагландин E_2 ингибировал НЕТоз благодаря стимуляции соответствующих рецепторов (EP_2 и EP_4), связанных с G-белком, приводя к увеличению содержания внутриклеточного циклического АМФ и, далее, к подавлению ПКС и последующих стадий образования NET [25]. Кроме того, активированный С-белок (сериновая протеиназа, обладающая противосвертывающим и противовоспалительным действием) также ингибировал НЕТоз благодаря связыванию со специфическим рецептором (EPCR) или кооперативному взаимодействию с протеаза-активируемым рецептором 3 (PAR3) и интегринами CD11b/CD18 (Mac-1) [26]. Эти факты свидетельствуют о том, что НЕТоз может регулироваться как про-, так и противовоспалительными медиаторами.

Недавно было показано, что NADPH-оксидаза-зависимый НЕТоз происходит при активации циклин-зависимых киназ (cyclin-dependent kinases, CDK), которые способствуют переходу нейтрофилов из стадии G_0 обратно в клеточный цикл [27]. Поскольку нейтрофилы являются терминально дифференцированными клетками, участие белков клеточного цикла в НЕТозе является удивительным фактом. В нейтрофилах, индуцированных к НЕТозу, были обнаружены такие события клеточного цикла, как экспрессия маркера пролиферации — ядерного антигена Ki-67, фосфорилирование белка ретинобластомы и ядерных ла-

минов, а также разделение centrosомы, однако репликации ДНК и транскрипции гистоновых генов при этом не происходило [27]. Вышеописанные факты говорят о том, что нейтрофилы используют часть аппарата клеточного цикла для разрушения ядерной мембраны в процессе НЕТоза.

2.2. НЕТоз, происходящий с участием митохондриальных АФК

Ранее было показано, что кальциевые ионофоры A23187 и иономицин, а также калиевый ионофор нигерицин стимулируют НЕТоз, происходящий без участия NADPH-оксидазы [28, 29]. Однако оказалось, что АФК все же нужны для этой формы НЕТоза и их источником могут быть митохондриальные АФК (мтАФК) [30] или АФК, выделяемые самим патогеном [28].

В недавно проведенной нами работе [31] с использованием митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 и специфических ингибиторов NADPH-оксидазы было показано, что в НЕТозе, индуцированном A23187, принимают участие как митохондрии и мтАФК, так и NADPH-оксидаза, и между ними происходит перекрестное взаимодействие. Кроме того, с использованием ингибиторного анализа было показано, что образование мтАФК обусловлено обратимым открытием митохондриальной поры, mPTP [31] (рис. 1).

Вместе с тем, нейтрофилы, выделенные из крови пациентов с хронической гранулематозной болезнью (ХГБ) и имеющие нефункциональную NADPH-оксидазу (Х-сцепленная ХГБ), образовывали NET в ответ на A23187 без участия оксидазы [31]. Мы предполагаем, что у дефицитных по NADPH-оксидазе нейтрофилов мтАФК образуются с повышенной интенсивностью и их количества хватает для активации НЕТоза [31]. Такое повышенное образование мтАФК, вероятно, связано с отсутствием электрогенной функции фермента, которая в норме обеспечивает деполяризацию мембраны [32] и благодаря этому останавливает неконтролируемое поступление внеклеточного Ca^{2+} в цитозоль. Повышенная концентрация цитозольного Ca^{2+} была недавно продемонстрирована нами у нейтрофилов, выделенных из крови пациентов с ХГБ при активации НЕТоза с помощью A23187 [24]. По-видимому, избыточный приток Ca^{2+} в митохондрии вызывает aberrантно высокое образование мтАФК с участием mPTP [33], что стимулирует НЕТоз при активации A23187, но вместе с тем может быть причиной многих воспалительных и аутоиммунных заболеваний у таких пациентов.

Таким образом, по нашему мнению, НЕТоз, индуцированный кальциевыми ионофорами и часто называемый «NADPH-оксидаза-независимым», правильнее именовать «митохондриально-зависимым НЕТозом».

2.3. Роль гистонов в образовании NET

Гистоны представляют собой небольшие белки, принимающие участие в структурной организации хроматина, нейтрализуя за счет положительных зарядов аминокислотных остатков отрицательно заряженные фосфатные группы ДНК, что делает возможной плотную упаковку ДНК в ядре. Гистоны обладают как мощным противомикробным, так и токсическим действием в отношении животных клеток. Цитотоксичность гистонов в настоящее время хорошо изучена, и было показано, что антигистоновые антитела предотвращают патогенез различных заболеваний в мышинных моделях [34]. В процессе образования NET в ткани выбрасывается огромное количество гистонов, которые, с одной стороны, токсичны для патогенов, а с другой — вызывают повреждение тканей. По-видимому, антимикробная функция NET (по крайней мере, частично) обусловлена действием гистонов.

Установлено, что посттрансляционная модификация гистонов регулирует не только генную экспрессию, но и структуру хроматина [35]. Одной из таких модификаций, происходящих во время НЕТоза, является их необратимое расщепление сериновыми протеазами, что способствует деконденсации хроматина. В процессе НЕТоза гистоны также могут подвергаться цитруллинированию при участии пептидил-аргининдезаминаз (PAD) [20, 36]. Вместе с тем, данные, касающиеся участия PAD4 в НЕТозе, являются противоречивыми, и этот вопрос требует более тщательного исследования. Было установлено, что ацетилирование гистонов также способствует образованию NET [37], видимо, благодаря нейтрализации положительно заряженных групп гистонов.

2.4. Витальный выброс хроматина

Альтернативной формой суицидального НЕТоза является прижизненный, или витальный выброс внеклеточного хроматина, при котором клетки сохраняют свою жизнеспособность и естественные эффекторные функции. Было обнаружено, что этот процесс развивается значительно быстрее суицидального НЕТоза и может происходить с выбросом как ядерной, так и митохондриальной ДНК.

В модели, разработанной Кларком и соавт. [38], был описан витальный выброс хроматина, индуцированный компонентом клеточных стенок грамотрицательных бактерий — ЛПС. Этот тип НЕТоза был индуцирован взаимодействием TLR4-активированных тромбоцитов с нейтрофилами и происходил с выбросом ядерного хроматина, но без участия NADPH-оксидазы. В системе *in vivo* Ипп и соавт. [39] также показали стимуляцию витального выброса хроматина опсонизированными грамположительными бактериями, который был опосредован TLR2

и комплементом. Интересно, что такие нейтрофилы были способны к хемотаксису и фагоцитозу бактерий после образования нейтрофильных ловушек [39].

В 2010 г. Пилсчек и соавт. [40] описали выброс хроматина в составе везикул в ответ на токсин *Staphylococcus aureus* (Пантон-Валентина лейкотоксин) без активации NADPH-оксидазы.

В работах, выполненных под руководством Симона [4, 41], был описан прижизненный выброс хроматина нейтрофилами и эозинофилами, праймированными провоспалительными цитокинами GM-CSF и IL-5/IFN- γ соответственно, и стимулированными ЛПС. При этом оба типа гранулоцитов выбрасывали хроматин исключительно митохондриального происхождения, а сам процесс зависел от активности NADPH-оксидазы. Интересно, что эозинофильный хроматин, как и нейтрофильный, обладал бактерицидной активностью.

Удивительно, что витальный выброс хроматина был также обнаружен у лимфоцитов. Так, в оригинальной работе Ингельсон и соавт. [7] было впервые показано, что В-лимфоциты, Т-лимфоциты и натуральные киллерные клетки, выделенные из крови здоровых доноров, а также В-клетки пациентов с хроническим лимфолейкозом осуществляли быстрый выброс митохондриальной ДНК в виде длинных филаментов в ответ на олигодезоксинуклеотиды С-класса. Филаменты, образуемые В-лимфоцитами, были подробно исследованы и оказалось, что они не связаны с образованием АФК и клеточной гибелью [7]. Масс-спектрометрический анализ филаментов ДНК показал, что по белковому составу они отличаются от NET и не обладают бактерицидностью. Кроме того, филаменты индуцировали синтез IFN I типа мононуклеарами периферической крови, выполняя роль сигнальных молекул, а не бактерицидных ловушек.

3. Роль NET в защите хозяина и в патологии

Биологическая роль NET стала очевидной после того, как были обнаружены заболевания, связанные с нарушением их образования. Впервые значение NET в защите хозяина было показано при изучении нейтрофилов, выделенных из крови пациентов с ХГБ, имеющих мутантную NADPH-оксидазу и неспособных образовывать АФК. Такие пациенты страдают от рецидивирующих инфекций, наиболее частой причиной которых является инвазивный аспергиллез. Нейтрофилы таких больных также неспособны к образованию NET, однако генная терапия приводит к полному восстановлению этой функции нейтрофилов [14].

Вначале предполагали, что нейтрофилы образуют NET при столкновении с патогенами, которые они не способны фагоцитировать [42]. Одна-

ко данные, касающиеся способности NET убивать патогены, весьма противоречивы [28]. Оказалось, что способность NET к уничтожению того или иного патогена в значительной степени зависит от самого патогена, с которым сталкивается нейтрофил. Так, многие патогены синтезируют факторы вирулентности, например, капсулы [43] или эндонуклеазы [44], позволяющие им избежать действия нейтрофильных ловушек. В настоящее время считается общепризнанным, что NET предотвращают распространение инфекции из очага воспаления, способствуя их последующему уничтожению антимикробными белками и профессиональными фагоцитами.

После завершения инфекционного процесса NET должны быть элиминированы. Как показали Феррера и Фадил [45] в системе *in vitro*, вначале происходит деградация NET при участии ДНКазы I, после чего дебрис эндоситируется и лизируется макрофагами.

Однако неадекватное образование NET или, как иногда говорят, аберрантный NETоз, может привести к воспалительной и аутоиммунной патологии, а также к закупорке кровеносных сосудов. Такие состояния происходят как при гиперпродукции NET, так и при нарушении механизмов их устранения, например, в отсутствие ДНКазы I.

3.1. NET и воспалительные заболевания легких

При легочных заболеваниях NET могут играть как положительную, так и отрицательную роль. Так, было показано, что NET повышают вязкость слизи, защищающей организм от инфекции. NET были обнаружены в мокроте и других легочных секретах при бактериальных, грибковых и вирусных инфекциях [14, 46, 47]. Было также установлено, что NET участвуют в уничтожении *Aspergillus nidulans*, вызывающего тяжелый инвазивный аспергиллез легких [14].

Вместе с тем, при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) образование NET ухудшало функцию дыхания и вело к блокаде дыхательных путей, причем количество NET в мокроте пациентов с ХОБЛ коррелировало с тяжестью заболевания и составом микрофлоры [48].

При муковисцидозе или кистозном фиброзе также было обнаружено повышенное образование NET. Муковисцидоз представляет собой тяжелое наследственное заболевание, обусловленное мутацией гена *CFTR*, следствием которой является нарушение структуры и функции белка, получившего название «муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости». Мутации этого гена приводят к нарушению нормального транспорта ионов Cl^- через эпителий клеток и, как следствие, вызывают дегидратацию, сгущение секретов желез внешней секреции и затруднение их оттока. В случае легочной формы муковисци-

доза повышенная вязкость мокроты способствует колонизации легких бактериальной микрофлорой. Бактериальная колонизация далее привлекает нейтрофилы и стимулирует их к образованию NET, что еще сильнее повышает вязкость мокроты и снижает функцию дыхания у таких пациентов. Интересно, что ингаляция рекомбинантной ДНКазой улучшала функцию легких при муковисцидозе, а нейтрофильная эластаза способствовала растворению мокроты, делая ее более доступной для ДНКазы [49].

Острое повреждение легких (ОПЛ) и более тяжелый острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) вызывают быстрое развитие легочной недостаточности и могут быть обусловлены разнообразной этиологией. У пациентов с трансфузионно-обусловленным ОПЛ содержание NET в плазме крови было более высоким, чем у людей без ОПЛ [50]. На животных моделях было также показано, что NET образуются в ответ на стимулы, индуцирующие ОПЛ, а ингибиторы NET снижают тяжесть заболевания и повышают выживаемость [50]. Нейтрофилы пациентов с ОРДС, обусловленным пневмонией, были праймированы к образованию NET, а степень прайминга и содержание NET в крови коррелировали с тяжестью заболевания и смертностью [51]. У пациентов с ОРДС было также обнаружено повышенное содержание гистонов в бронхоальвеолярном лаваже и плазме [52], что, вероятно, частично обусловлено образованием NET.

Тяжелая острая респираторная инфекция COVID-19 (corona virus disease-19), впервые зарегистрированная в декабре 2019 г. в китайском городе Ухань и впоследствии переросшая в пандемию, поразила на сегодняшний день более 35 млн человек из 250 стран. Заболевание было вызвано новым коронавирусом SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus-2) и сопровождалось гриппоподобными симптомами и вирусной пневмонией, часто переходящей в ОРДС и полиорганную недостаточность [53].

Одним из признаков тяжелого течения COVID-19 является повышенный уровень периферических нейтрофилов [54]. Предполагают, что активация NET может лежать в основе патогенеза этого заболевания. В оригинальной работе Цзо и соавт. [55] был впервые показан повышенный уровень маркеров NET (свободной ДНК, комплексов МПО-ДНК и цитруллинированного гистона H3) в сыворотках инфицированных SARS-CoV-2 пациентов. Более того, концентрация свободной ДНК коррелировала с уровнем белка острой фазы – С-реактивным белком, маркером тромбоза D-димером и маркером гибели клеток лактатдегидрогеназой, а также с абсолютным количеством нейтрофилов. Интересно, что сыворотки пациентов с COVID-19 индуцировали образование NET нейтрофилами здоровых доно-

ров в системе *in vitro*. Активаторами НЕТоза, по предположению авторов, могли быть эпителиальные клетки, пораженные вирусом, активированные тромбоциты и эндотелиальные клетки, а также провоспалительные цитокины: IL-1 β , IL-8, G-CSF.

3.2. NET и тромбообразование

NET играют важную роль в тромбообразовании [56], активируя тромбоциты и индуцируя коагуляцию [57]. Пока неизвестно, играют ли NET-индуцированный тромбоз/коагуляция роль во врожденном иммунитете, обеспечивая гомеостаз организма, или являются патологическим следствием aberrантного НЕТоза. Однако на многочисленных моделях тромботических заболеваний было показано, что добавление ДНКазы существенно снижает закупорку сосудов [58]. Недавно проведенный анализ сердечно-сосудистых заболеваний человека показал, что прогноз и тяжесть таких заболеваний коррелируют с наличием свободной ДНК [59]. У человека NET были обнаружены при инсульте [60], тромботических микроангиопатиях [61], атеросклерозе [62] и антифосфолипидном синдроме [63]. И хотя роль NET в патогенезе перечисленных заболеваний до конца не выяснена, на модели атеросклероза установлено, что дефицит сериновой протеазы или введение ДНКазы снижают размер атеросклеротических бляшек [62].

Агрегированные NET были индуцированы микрокристаллами карбоната кальция и изменением pH [64], что вело к закупорке панкреатического протока и панкреатиту. Добавление ДНКазы в модели панкреатита мышей смягчало тяжесть заболевания [65].

Подагра развивается в результате накопления кристаллов натриевых солей мочевой кислоты (уратов), вызывающих временные артриты. Кристаллы уратов индуцируют образование агрегированных NET с высокой концентрацией протеаз, способных деградировать провоспалительные цитокины и хемокины [66]. Деградация цитокинов при подагре при участии NET предотвращала развитие хронического заболевания [66].

3.3. NET и рак

Рак является гетерогенным заболеванием, и роль NET в онкологии зависит от типа опухоли. На моделях рака молочной железы было показано, что NET способствуют метастазированию, поскольку этот процесс подавлялся введением ДНКазы [67]. Считается, что NET-индуцированная коагуляция является осложнением ряда онкологических заболеваний [68]. На модели рака кишечника было показано, что ДНКазы снижают коагуляцию и канцерогенез [69]. С другой стороны, терапевтическое вирусное инфицирование опухолей индуцировало обусловленную нейтро-

филами внутриопухолевую коагуляцию и уничтожение раковых клеток. Однако предстоит еще выяснить, действительно ли этот процесс связан с образованием NET [70].

3.4. NET и аутоиммунные заболевания

NET играют важную роль в аутоиммунитете [19, 71]. Так, у пациентов с СКВ, РА и васкулитами, ассоциированными с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА-ассоциированные васкулиты — ААВ) были обнаружены аутоантитела, распознающие такие компоненты NET, как двуспиральную ДНК [72], цитруллинированные белки [73] и компоненты азурофильных гранул [74] соответственно. Эти антитела могут появляться благодаря длительному присутствию NET, обусловленному их избыточным образованием или сниженной способностью их деградации ДНКазой I. Было показано, что генетически обусловленные дефициты ДНКазы ведут к развитию ювенильной формы СКВ [75]. Кроме того, на модели РА было установлено, что поглощение NET антиген-презентирующими клетками управляет аутоиммунным процессом, поскольку фибробласты, нагруженные NET, стимулировали образование антител против цитруллинированных пептидов [76]. Интересно, что антитела против NET были также способны ингибировать деградацию ловушек, обостряя тем самым заболевание [77]. Иммуные комплексы с компонентами NET были обнаружены при гломерулонефрите (клубочковый нефрит), распространенном осложнении при СКВ и ААВ [77, 78]. Было показано, что антигистоновые антитела защищают мышей от развития почечной недостаточности на модели некротизирующего гломерулонефрита [79].

3.5. Сепсис

Сепсис представляет собой острое осложнение тяжелого инфекционного процесса, характеризующегося высокой смертностью. Патология этого системного заболевания сложная, но, как было выяснено, NET могут способствовать выживанию при сепсисе. Оказалось, что нейтрофилы пациентов, выживших после сепсиса, производят больше NET в системе *in vitro*, чем нейтрофилы впоследствии умерших пациентов [80]. Это может быть отчасти обусловлено бактерицидным действием NET на ранних стадиях заболевания. Так, на мультимикробной мышинной модели было показано, что введение ДНКазы ускоряло развитие сепсиса [81]. Однако по мере прогрессирования заболевания NET могут повреждать легкие (ОПЛ и ОРДС) и печень [82, 83]. Интересно, что прямые инъекции мышам гистонов имитировали сепсис, а антигистоновые антитела защищали мышей на многочисленных инфекционных моделях [84]. Тромбоз также может вносить вклад в поврежде-

ние органов при сепсисе. Так же, как и при тромботических заболеваниях, наличие свободной ДНК коррелировало с тяжелым течением сепсиса у пациентов и с повреждением органов у мышей [85]. Введение ДНКазы снижало выраженность повреждения органов и повышало выживаемость мышей, но только в сочетании с антибиотикотерапией [85]. Эти факты указывают на двойственную роль NET в сепсисе: положительную на ранних стадиях заболевания и отрицательную на поздних стадиях, ассоциированных с патологией органов.

Заключение

На сегодняшний день расшифрованы многие сигнальные пути, ведущие к образованию NET. Показано, что NET могут быть индуцированы большим количеством как физиологических (микроорганизмы и их компоненты), так и фармакологических стимулов. Установлено существование двух механизмов образования NET: классического (или суицидального), приводящего к гибели клетки (NETоз), и витального, при котором клетки сохраняют не только свою жизнеспособность, но и все естественные эффекторные функции. Установлено, что необходимым участником классического NETоза является ферментный комплекс NADPH-оксидаза и образованные при его участии АФК. Однако при активации NETоза другими стимулами, например, Ca^{2+} -ионофорами, «в игру вступают» митохондриальные АФК.

После открытия NET оказалось, что эти структуры являются источником антигенов и поддерживают, а часто и активируют аутоиммунные процессы [71, 72]. Так, NET были обнаружены в сыворотках больных практически всеми аутоиммунными заболеваниями, включая СКВ, РА, псориаз и другие. NET были обнаружены при многих воспалительных неинфекционных заболеваниях, например, болезни Альцгеймера, панкреатите, раке (таблица). В этой связи создание лекарственных средств для лечения перечисленных заболеваний в значительной степени зависит от расшифровки сигнальных путей, ведущих к образованию NET, и их таргетных медиаторов. И хотя за прошедшие 16 лет с момента первого описания NET многие механизмы и медиаторы были расшифрованы, остается еще достаточное количество невыясненных вопросов, ответы на которые ожидаются в ближайшее время.

Работа выполнена в рамках проекта «Молекулярные и клеточные основы иммунитета» (госбюджет, раздел 0110 (для тем по госзаданию), номер 21-1-16, номер ЦИТИС АААА-А16-116021660081-0).

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Таблица

Заболевания, связанные с образованием NET

Заболевание	Ссылки	Биомаркеры	Результаты
Нейродегенеративные заболевания			
Болезнь Альцгеймера	[86]	дсДНК	В сосудах и паренхиме головного мозга пациентов с болезнью Альцгеймера, а также на животных моделях были обнаружены NET, что указывало на их потенциальную повреждающую роль при этом заболевании.
Воспалительные заболевания легких			
Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ)	[48]	ДНК-НЭ-комплексы, гистон-НЭ-комплексы, свободная ДНК	Обнаружено повышенное образование NET у пациентов с тяжелой формой ХОБЛ.
Муковисцидоз (кистозный фиброз, КФ)	[49]	NET, НЭ	Повышенная вязкость мокроты, характерная для больных КФ, была частично обусловлена образованием NET. Ингаляция рекомбинантной ДНКазы улучшала функцию легких при КФ, а НЭ способствовала растворению мокроты, делая ее более доступной для эндогенной ДНКазы.
Острое повреждение легких (ОПЛ)	[50]	дсДНК, гистоны	У пациентов с трансфузионно-обусловленным ОПЛ содержание NET в плазме крови было более высоким, чем у людей без ОПЛ. На животных моделях было также показано, что NET образуются в ответ на стимулы, индуцирующие ОПЛ, а ингибиторы NET снижают тяжесть заболевания и повышают выживаемость.
Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС)	[51]	ДНК-МПО-комплексы	Нейтрофилы пациентов с ОРДС, обусловленным пневмонией, были праймированы к образованию NET, а степень прайминга и содержание NET в крови коррелировали с тяжестью заболевания и смертностью.
Астма	[87]	дсДНК, NET	Показана ассоциация дсДНК с воспалением дыхательных путей, обусловленным нейтрофилами, увеличением содержания растворимых компонентов NET и повышением содержания каспазы-1 и IL-1 β . В экспериментах <i>in vitro</i> NET вызывали цитотоксический эффект по отношению к эпителиальным клеткам дыхательных путей, который подавлялся добавлением ДНКазы.
Тяжелая острая респираторная инфекция COVID-19	[55]	дсДНК, МПО-ДНК-комплексы, цитр. гистон H3	Впервые показан повышенный уровень маркеров NET в сыворотке крови инфицированных SARS-CoV-2 пациентов. Концентрация свободной ДНК коррелировала с уровнем белка острой фазы – С-реактивным белком, маркером тромбоза D-димером и маркером гибели клеток лактатдегидрогеназой, а также абсолютным количеством нейтрофилов.
Воспалительные заболевания кишечника			
Болезнь Крона (БК)	[88]	дсДНК, МПО	Показана повышенная экспрессия цитруллинированного гистона H3 и PAD4, а также способность нейтрофилов к образованию NET у мышей с индуцированной БК. Ингибирование медиатора NETоза PAD4 с помощью хлорамидина эффективно снижало клинические признаки БК и воспаление тканей.
Язвенный колит (ЯК)	[89]	дсДНК, МПО-ДНК-комплексы	Сравнивали экспрессию NET-ассоциированных белков в биопсийном материале кишечника, полученного от пациентов с ЯК, БК и у здоровых доноров. Показали, что экспрессия NET-ассоциированных белков в воспаленном кишечнике пациентов с ЯК значительно выше, чем у пациентов с БК и здоровых доноров. Циркулирующие нейтрофилы пациентов с ЯК образовывали NET в ответ на TNF- α , а при лечении антицитокиновыми ингибиторами выход NET и экспрессия NET-ассоциированных белков снижались. Авторы полагают, что NET играют существенную роль в поддержании воспаления слизистой оболочки при ЯК.
Аппендицит	[1]	дсДНК, NET	NET были обнаружены в большом количестве в содержимом аппендикса при аппендиците.
Заболевания поджелудочной железы			
Панкреатит	[64]	МПО, дсДНК	Показано, что образование NET в протоках поджелудочной железы, вызванное микрокристаллами карбоната кальция, может привести к развитию панкреатита.
Аномалия беременности			
Преэклампсия (ПЭ)	[90]	NET	ПЭ представляет собой тяжелое заболевание, возникающее на поздних сроках беременности и характеризующееся повышенным артериальным давлением и протеинурией у женщин, не страдавших этими недугами до беременности. ПЭ – мультисистемное нарушение беременности, обусловленное спазмом сосудов и дисфункцией эндотелия как у матери, так и плода. Это происходит благодаря повышенному выбросу воспалительных фрагментов синцитиотрофобласта (STBM), обусловленному его аномальным развитием. Авторы показали, что STBM активируют нейтрофилы и индуцируют образование NET <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i> .

Продолжение таблицы

Заболевание	Ссылки	Биомаркеры	Результаты
Заболевания, связанные с тромбообразованием			
Ишемический инсульт	[60]	NET	Гистологический анализ артериальных тромбов при ишемическом инсульте показал наличие NET в 100% случаев, что коррелировало с плохим прогнозом.
Атеросклероз	[62]	дсДНК, нуклеосомы, цитр. гистон H4, МПО-ДНК-комплексы	Впервые обнаружен повышенный уровень дсДНК, нуклеосом и МПО-ДНК-комплексов у пациентов с тяжелым атеросклерозом по сравнению с показателями у здоровых доноров.
Тромботические микроангиопатии	[61]	дсДНК	Показана связь между образованием NET и повреждением эндотелия сосудов, активацией комплемента и тромботической микроангиопатией при трансплантации.
Антифосфолипидный синдром (АФС)*	[63]	дсДНК, МПО-ДНК-комплексы, NET, нейтрофилы низкой плотности	АФС представляет собой аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, вызванное антифосфолипидными антителами (АФА). АФС провоцирует образование тромбов (тромбоз) как в артериях, так и венах, а также такие связанные с беременностью осложнения, как выкидыш, мертворождение, преждевременные роды и тяжелая ПЭ. В работе был обнаружен повышенный уровень свободной ДНК и NET в сыворотках и плазме пациентов с АФС. Нейтрофилы пациентов с АФС были предрасположены к спонтанному образованию NET. Сыворотки пациентов с АФС и их IgG-антитела стимулировали образование NET нейтрофилами здоровых доноров. Образование NET, стимулированное АФА, подавлялось ингибиторами АФС.
Аутоиммунные заболевания			
Системная красная волчанка (СКВ)	[72]	МПО-ДНК-комплексы	Впервые была исследована роль NET при СКВ человека и их связь с тяжестью заболевания. Показан повышенный уровень NET у пациентов с СКВ, ассоциированный с количеством иммунных комплексов.
Ювенильная форма СКВ	[75]	дсДНК, МПО-ДНК-комплексы	Авторами была обнаружена редкая аутосомно-рецессивная форма СКВ, обусловленная мутацией гена <i>DNAse1L3</i> и встречающаяся исключительно в детском возрасте. Показана важная роль нарушения утилизации деградированной ДНК в патогенезе СКВ.
Ревматоидный артрит (РА)	[73]	цитр. гистон H4	Показано, что цитруллинированный гистон H4 и NET являются мишенями аутоантител, выделенных из сывороток крови пациентов с РА.
Псориаз	[19]	дсДНК, МПО-ДНК-комплексы	Псориаз представляет собой хроническое неинфекционное заболевание, дерматоз, поражающее в основном кожу. В настоящее время предполагается аутоиммунная природа этого заболевания. В многочисленных исследованиях было показано, что нейтрофилы, привлекаемые в псориазные поражения, кластеризуются с образованием провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8 и IL-17s. IL-17 индуцирует экспрессию кератиноцитами антимикробного пептида LL-37, происходящего из кателицидина, и дефензинов. Эти провоспалительные агенты стимулируют образование NET и патологическое состояние в отсутствие инфекции у таких пациентов.
АНЦА-ассоциированные васкулиты	[74]	МПО	Впервые у пациентов с системным васкулитом показано наличие аутоантител, специфичных к МПО.
Диабет I типа (Д1Т)	[91]	дсДНК, МПО-ДНК-комплексы	Д1Т — аутоиммунное заболевание, характеризующееся разрушением β-клеток поджелудочной железы (ПЖ), что приводит к гипергликемии — повышенному уровню сахара в крови. Ранее авторами было показано, что количество циркулирующих нейтрофилов снижено у пациентов с Д1Т. В работе установлено, что степень подавления функции β-клеток ПЖ коррелирует со снижением количества периферических нейтрофилов в крови у пациентов с Д1Т; нейтрофилы инфильтруют ПЖ задолго до появления симптомов Д1Т; часть нейтрофилов, заселивших ПЖ, выбрасывает NET, что указывает на их специфическую патогенетическую роль. NET и ДНК/антиДНК-IgG-иммунные комплексы ПЖ активируют плазматический дендритный клетки, стимулируя их к синтезу интерферонов I типа, запускающих в свою очередь аутоиммунные процессы, опосредованные Т-лимфоцитами.
Онкологические заболевания			
Метастазирующий рак молочной железы	[67]	NET	Показано, что метастазирующие клетки опухоли молочной железы индуцируют образование NET, поддерживающих в свою очередь метастазирование. Подавление образования NET или разрушение NET с помощью ДНКазы I приводило к ингибированию этого процесса.

Продолжение таблицы

Заболевание	Ссылки	Биомаркеры	Результаты
Опухоль тонкого кишечника	[69]	Нейтрофилы низкой плотности, NET, МПО	Впервые на модели рака тонкого кишечника показана связь канцерогенеза с гиперкоагуляцией и нейтрофилией. Гиперкоагуляция коррелировала с появлением нейтрофилов низкой плотности, спонтанно подвергающихся НЕТОзу.
Карцинома легкого Льюиса	[92]	NET, цитр. гистон H3	Впервые показано, что клетки карциномы легкого Льюиса активно высвобождают белок HMGB1 (high mobility group box 1), способствующий образованию NET.
Оториноларингологические заболевания			
Воспаление среднего уха (отит)	[93]	NET	На модели отита мышей показано, что совместное инфицирование <i>Streptococcus pneumoniae</i> и вирусом гриппа группы А способствует репликации пневмококков. Это явление обусловлено антител-зависимым образованием в среднем ухе NET, способствующих дальнейшему размножению пневмококков.
Хронический риносинусит (ХР)	[94]	дсДНК, цитр. гистон H3	Впервые показано повышение образования NET в назальных секретах при обострении риносинусита, способствующее секреции хемокинов и инфильтрации нейтрофилов.
Заболевания глаз			
Синдром сухого глаза (ССГ)	[95]	NET	Показан высокий уровень NET и их компонентов на поверхности глаз, а также недостаток нуклеаз в слезной жидкости у пациентов с ССГ. Лечение тяжелой формы ССГ глазными каплями, содержащими рекомбинантную ДНКазу I, приводило к снижению уровня NET и значительному улучшению состояния глаз. Установлено, что индуктором образования NET при ССГ является гиперосмолярность слезной жидкости.
Бактериальный и грибковый кератит	[96, 97]	NET	Кератит – воспаление роговицы глаза, проявляющееся преимущественно ее помутнением, изъязвлением, болью и покраснением. Бактериальный кератит, часто связанный с бактериальной инфекцией <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , обычно возникает у лиц, носящих контактные линзы, и может привести к ухудшению зрения. В работе [96] показано, что NET играют положительную роль в защите роговицы от бактериальной инфекции. Показано участие NET в иммунном ответе на грибковую инфекцию роговицы глаза [97].
Стоматологические заболевания			
Пародонтит	[98]	цитр. гистон H3, МПО	Пародонтит – хроническое воспалительное заболевание, которое поражает ткани, поддерживающие зуб, и проявляется широким спектром клинических, микробиологических и иммунологических реакций. Развитие болезни начинается с образования сложной бактериальной биопленки, в которую входят около 700 видов бактерий. Биопленка образует оболочку корня зуба, а ее структура защищает зуб от антимикробных агентов. У здоровых людей существует гомеостаз между биопленкой пародонта и иммунными ответами хозяина. Однако у хозяина с ослабленным иммунитетом биопленка может способствовать развитию воспаления, которое приводит к дисбактериозу, дальнейшему разрушению пародонта и потере зуба. Установлено, что нарушение образования NET в тканях пародонта играет важную роль в патогенезе пародонтита.
Метаболические заболевания			
Подагра	[66]	NET, МПО, антимикробный пептид LL-37, НЭ	Подагра представляет собой метаболическое заболевание, которое характеризуется отложением в различных тканях организма кристаллов уратов в форме моноурата натрия или мочевой кислоты. Авторами было показано, что НЕТОз, индуцированный кристаллами мочевой кислоты, сопровождается выбросом литических ферментов, которые расщепляют провоспалительные цитокины в очаге воспаления. Предполагается, что НЕТОз при подагре предотвращает развитие хронического заболевания.
Диабет 2 типа (Д2Т)	[99]	дсДНК, НЭ, МПО	Сахарный Д2Т (инсулиннезависимый диабет) – метаболическое заболевание, характеризующееся повышенным уровнем глюкозы в крови – хронической гипергликемией, развивающейся в результате нарушения взаимодействия инсулина с клетками тканей. Показано, что высокий уровень глюкозы в системе <i>in vitro</i> и гипергликемия у пациентов с Д2Т усиливают образование NET и маркеров NET соответственно, что указывает на связь нейтрофилов с воспалением и повреждением тканей при Д2Т.

Окончание таблицы

Заболевание	Ссылки	Биомаркеры	Результаты
Системные заболевания			
Сепсис	[85]	дсДНК, МПО-ДНК-комплексы	Сепсис представляет собой тяжелый воспалительный синдром, вызванный чрезмерным ответом иммунной системы на инфекцию. Показано, что NET систематически образуются при сепсисе и играют двойственную роль. С одной стороны, NET контролируют инфекцию, а с другой — вызывают повреждение тканей и органов.

* — заболевание относится также к группе аутоиммунных заболеваний.

Сокращения:

АНЦА-ассоциированные васкулиты (ААВ) — васкулиты, ассоциированные с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами;

АФК — активные формы кислорода;

дсДНК — двуспиральная ДНК;

ЛПС — липополисахарид;

МРО — миелопероксидаза;

НЕТоз — процесс образования NET, сопровождающийся гибелью нейтрофила;

НЭ — нейтрофильная эластаза;

ОПЛ — острое повреждение легких;

ОРДС — острый респираторный дистресс-синдром;

РА — ревматоидный артрит;

СКВ — системная красная волчанка;

ФМА — форбол 12-миристенат 13-ацетат;

ХГБ — хроническая гранулематозная болезнь;

ХОБЛ — хроническая обструктивная болезнь легких;

ПКС — протеинкиназа С;

цитр. гистон — цитруллинированный гистон;

mPTP — неселективная митохондриальная пора (mitochondrial permeability transition pore);

NADPH-оксидаза — оксидаза восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidases);

NET — нейтрофильные внеклеточные ловушки (neutrophil extracellular traps);

PAD4 — пептидил-аргининдезаминаза 4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria // *Science*. 2004. Vol. 303. N 5663. P. 1532–1535.
2. Steinberg B.E., Grinstein S. Unconventional roles of the NADPH oxidase: signaling, ion homeostasis, and cell death // *Sci. STKE*. 2007. Vol. 2007. N 379: pe11.
3. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease // *Nat. Rev. Immunol.* 2018. Vol. 18. N 2. P. 134–147.
4. Yousefi S., Gold J.A., Andina N., Lee J.J., Kelly A.M., Kozłowski E., Schmid I., Straumann A., Reichenbach J., Gleich G.J., Simon H.U. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense // *Nat. Med.* 2008. Vol. 14. N 9. P. 949–953.
5. Morshed M., Hlushchuk R., Simon D., Walls A.F., Obata-Ninomiya K., Karasuyama H., Djonov V., Eggel A., Kaufmann T., Simon H.U., Yousefi S. NADPH oxidase-independent formation of extracellular DNA traps by basophils // *J. Immunol.* 2014. Vol. 192. N 11. P. 5314–5323.
6. von Köckritz-Blickwede M., Goldmann O., Thulin P., Heinemann K., Norrby-Teglund A., Rohde M., Medina E. Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation // *Blood*. 2008. Vol. 111. N 6. P. 3070–3080.
7. Ingelsson B., Söderberg D., Strid T., Söderberg A., Bergh A.C., Loitto V., Lotfi K., Segelmark M., Spyrou G., Rosén A. 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.
8. Granger V., Faille D., Marani V., Noël B., Gallais Y., Szely N., Flament H., Pallardy M., Chollet-Martin S., de Chaisemartin L. Human blood monocytes are able to form extracellular traps // *J. Leukoc. Biol.* 2017. Vol. 102. N 3. P. 775–781.
9. Chow O.A., von Köckritz-Blickwede M., Bright A.T., Hensler M.E., Zinkernagel A.S., Cogen A.L., Gallo R.L., Monestier M., Wang Y., Glass C.K., Nizet V. Statins enhance formation of phagocyte extracellular traps // *Cell Host Microbe*. 2010. Vol. 8. N 5. P. 445–454.
10. Zhang X., Zhuchenko O., Kuspa A., Soldati T. Social amoebae trap and kill bacteria by casting DNA nets // *Nat. Commun.* 2016. Vol. 7: 10938.
11. Hawes M., Allen C., Turgeon B.G., Curlango-Rivera G., Minh Tran T., Huskey D.A., Xiong Z. Root border cells and their role in plant defense // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2016. Vol. 54. P. 143–161.
12. Belambri S.A., Rolas L., Raad H., Hurtado-Nedelec M., Dang P.M., El-Benna J. NADPH oxidase activation in neutrophils: Role of the phosphorylation of its subunits // *Eur. J. Clin. Invest.* 2018. Vol. 48. Suppl. 2: e12951.
13. Hakkim A., Fuchs T.A., Martinez N.E., Hess S., Prinz H., Zychlinsky A., Waldmann H. Activation of the Raf-MEK-ERK pathway is required for neutrophil extracellular trap formation // *Nat. Chem. Biol.* 2011. Vol. 7. N 2. P. 75–77.
14. Bianchi M., Hakkim A., Brinkmann V., Siler U., Seger R.A., Zychlinsky A., Reichenbach J. Restoration of

NET formation by gene therapy in CGD controls aspergillosis // *Blood*. 2009. Vol. 114. N 13. P. 2619–2622.

15. Metzler K.D., Fuchs T.A., Nauseef W.M., Reumaux D., Roesler J., Schulze I., Wahn V., Papayannopoulos V., Zychlinsky A. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity // *Blood*. 2011. Vol. 117. N 3. P. 953–959.

16. Metzler K.D., Goosmann C., Lubojemska A., Zychlinsky A., Papayannopoulos V. A myeloperoxidase-containing complex regulates neutrophil elastase release and actin dynamics during NETosis // *Cell Rep*. 2014. Vol. 8. N 3. P. 883–896.

17. Anzilotti C., Pratesi F., Tommasi C., Migliorini P. Peptidylarginine deiminase 4 and citrullination in health and disease // *Autoimmun. Rev*. 2010. Vol. 9. N 3. P. 158–160.

18. Sollberger G., Choidas A., Burn G.L., Habenberger P., Di Lucrezia R., Kordes S., Menninger S., Eickhoff J., Nussbaumer P., Klebl B., Krüger R., Herzig A., Zychlinsky A. Gasdermin D plays a vital role in the generation of neutrophil extracellular traps // *Science Immunol*. 2018. Vol. 3: eaar6689.

19. Pinegin B., Vorobjeva N., Pinegin V. Neutrophil extracellular traps and their role in the development of chronic inflammation and autoimmunity // *Autoimmun. Rev*. 2015. Vol. 14. N 7. P. 633–640.

20. Li P., Li M., Lindberg M.R., Kennett M.J., Xiong N., Wang Y. PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps // *J. Exp. Med*. 2010. Vol. 207. N 9. P. 1853–1862.

21. Douda D.N., Khan M.A., Grasemann H., Palaniyar N. SK3 channel and mitochondrial ROS mediate NADPH oxidase-independent NETosis induced by calcium influx // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2015. Vol. 112. N 9. P. 2817–2822.

22. Mahomed A.G., Anderson R. Activation of human neutrophils with chemotactic peptide, opsonized zymosan and the calcium ionophore A23187, but not with a phorbol ester, is accompanied by efflux and store-operated influx of calcium // *Inflammation*. 2000. Vol. 24. N 6. P. 559–569.

23. Hu T.H., Bei L., Qian Z.M., Shen X. Intracellular free calcium regulates the onset of the respiratory burst of human neutrophils activated by phorbol myristate acetate // *Cell. Signal*. 1999. Vol. 11. N 5. P. 355–360.

24. Vorobjeva N.V., Chernyak B.V. NADPH oxidase modulates Ca^{2+} -dependent formation of neutrophil extracellular traps // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull*. 2020. Vol. 75. N 3. P. 104–109.

25. Shishikura K., Horiuchi T., Sakata N., Trinh D.A., Shirakawa R., Kimura T., Asada Y., Horiuchi H. Prostaglandin E2 inhibits neutrophil extracellular trap formation through production of cyclic AMP // *Br. J. Pharmacol*. 2016. Vol. 173. N 2. P. 319–331.

26. Healy L.D., Puy C., Fernández J.A., Mitrugno A., Keshari R.S., Taku N.A., Chu T.T., Xu X., Gruber A., Lupu F., Griffin J.H., McCarty O.J.T. 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.

27. Amulic B., Knackstedt S.L., Abu Abed U., Deigendesch N., Harbort C.J., Caffrey B.E., Brinkmann V., Heppner F.L., Hinds P.W., Zychlinsky A. Cell-cycle proteins control production of neutrophil extracellular traps // *Dev. Cell*. 2017. Vol. 43. N 4. P. 449–462.e5.

28. Kenny E.F., Herzig A., Krüger R., Muth A., Mondal S., Thompson P.R., Brinkmann V., Bernuth H.V., Zychlinsky A. Diverse stimuli engage different neutrophil extracellular trap pathways // *eLife*. 2017. Vol. 6: e24437.

29. Neeli I., Radic M. Opposition between PKC isoforms regulates histone deimination and neutrophil extracellular chromatin release // *Front. Immunol*. 2013. Vol. 4: 38.

30. Lood C., Blanco L.P., Purmalek M.M., Carmona-Rivera C., De Ravin S.S., Smith C.K., Malech H.L., Ledbetter J.A., Elkon K.B., Kaplan M.J. Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease // *Nat. Med*. 2016. Vol. 22. N 2. P. 146–153.

31. Vorobjeva N., Galkin I., Pletjushkina O., Golyshev S., Zinovkin R., Prikhodko A., Pinegin V., Kondratenko I., Pinegin B., Chernyak B. Mitochondrial permeability transition pore is involved in oxidative burst and NETosis of human neutrophils // *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Basis. Dis*. 2020. Vol. 1866. N 5: 165664.

32. Geiszt M., Kapus A., Ligeti E. Chronic granulomatous disease: more than the lack of superoxide? // *J. Leukoc. Biol*. 2001. Vol. 69. N 2. P. 191–196.

33. Bernardi P., Rasola A., Forte M., Lippe G. The mitochondrial permeability transition pore: channel formation by F-ATP synthase, integration in signal transduction, and role in pathophysiology // *Physiol. Rev*. 2015. Vol. 95. P. 1111–1155.

34. Wildhagen K.C., García de Frutos P., Reutelingsperger C.P., Schrijver R., Aresté C., Ortega-Gómez A., Deckers N.M., Hemker H.C., Soehnlein O., Nicolaes G.A. Nonanticoagulant heparin prevents histone-mediated cytotoxicity in vitro and improves survival in sepsis // *Blood*. 2014. Vol. 123. N 7. P. 1098–1101.

35. Bannister A.J., Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications // *Cell Res*. 2011. Vol. 21. N 3. P. 381–395.

36. Lewis H.D., Liddle J., Coote J.E., et al. Inhibition of PAD4 activity is sufficient to disrupt mouse and human NET formation // *Nat. Chem. Biol*. 2015. Vol. 11. N 3. P. 189–191.

37. Hamam H.J., Khan M.A., Palaniyar N. Histone acetylation promotes neutrophil extracellular trap formation // *Biomolecules*. 2019. Vol. 9. N 1: 32.

38. Clark S.R., Ma A.C., Tavenor S.A., et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood // *Nat. Med*. 2007. Vol. 13. N 4. P. 463–469.

39. Yipp B.G., Petri B., Salina D., Jenne C.J., Scott B.N.V., Zbytnuik L.D., Pittman K., Asaduzzaman M., Wu K., Meijndert H.C., Malawista S.E., de Boisleury Chevance A., Zhang K., Conly J., Kubes P. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo // *Nat. Med*. 2012. Vol. 18. N 9. P. 1386–1393.

40. Pilsczek F.H., Salina D., Poon K.K., Fahey C., Yipp B.G., Sibley C.D., Robbins S.M., Green F.H.Y., Surette M.G., Sugai M., Bowden M.G., Hussain M., Zhang K., Kubes P. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus* // *J. Immunol*. 2010. Vol. 185. N 12. P. 7413–7425.

41. Yousefi S., Mihalache C., Kozłowski E., Schmid I., Simon H.U. Viable neutrophils release mitochondrial DNA

to form neutrophil extracellular traps // *Cell. Death. Differ.* 2009. Vol. 16. N 11. P. 1438–1444.

42. Branzk N., Lubojemska A., Hardison S.E., Wang Q., Gutierrez M.G., Brown G.D., Papayannopoulos V. Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens // *Nat. Immunol.* 2014. Vol. 15. N 11. P. 1017–1025.

43. Wartha F., Beiter K., Albiger B., Fernebro J., Zychlinsky A., Normark S., Henriques-Normark B. Capsule and D-alanylated lipoteichoic acids protect *Streptococcus pneumoniae* against neutrophil extracellular traps // *Cell. Microbiol.* 2007. Vol. 9. N 5. P. 1162–1171.

44. Wilton M., Halverson T.W.R., Charron-Mazenod L., Parkins M.D., Lewenza S. Secreted phosphatase and deoxyribonuclease are required by *Pseudomonas aeruginosa* to defend against neutrophil extracellular traps // *Infect. Immun.* 2018. Vol. 86. N 9: e00403-18.

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.

46. Cortjens B., de Boer O.J., de Jong R., Antonis A.F., Sabogal Pineros Y.S., Lutter R., van Woensel J.B., Reinout A., Bem R.A. Neutrophil extracellular traps cause airway obstruction during respiratory syncytial virus disease // *J. Pathol.* 2016. Vol. 238. N 3. P. 401–411.

47. Hamaguchi S., Seki M., Yamamoto N., Hirose T., Matsumoto N., Irisawa T., Takegawa R., Shimazu T., Tomono K. Case of invasive nontypable *Haemophilus influenzae* respiratory tract infection with a large quantity of neutrophil extracellular traps in sputum // *J. Inflamm. Res.* 2012. Vol. 5. P. 137–140.

48. Dicker A.J., Crichton M.L., Pumphrey E.G., et al. Neutrophil extracellular traps are associated with disease severity and microbiota diversity in patients with chronic obstructive pulmonary disease // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018. Vol. 141. N 1. P. 117–127.

49. Papayannopoulos V., Staab D., Zychlinsky A. Neutrophil elastase enhances sputum solubilization in cystic fibrosis patients receiving DNase therapy // *PLoS One.* 2011. Vol. 6. N 12: e28526.

50. Caudrillier A., Kessenbrock K., Gilliss B.M., Nguyen J.X., Marques M.B., Monestier M., Toy P., Werb Z., Looney M.R. Platelets induce neutrophil extracellular traps in transfusion-related acute lung injury // *J. Clin. Invest.* 2012. Vol. 122. N 7. P. 2661–2671.

51. Bendib I., de Chaisemartin L., Granger V., Schlemmer F., Maitre B., Hue S., Surenaud M., Beldi-Ferchiou A., Carteaux G., Razazi K., Chollet-Martin S., Dessap A.M., de Prost N. Neutrophil extracellular traps are elevated in patients with pneumonia-related acute respiratory distress syndrome // *Anesthesiology.* 2019. Vol. 130. N 4. P. 581–591.

52. Lv X., Wen T., Song J., Xie D., Wu L., Jiang X., Jiang P., Wen Z. Extracellular histones are clinically relevant mediators in the pathogenesis of acute respiratory distress syndrome // *Respir. Res.* 2017. Vol. 18. N 1: 165.

53. Pedersen S.F., Ho Y.C. SARS-CoV-2: a storm is raging // *J. Clin. Invest.* 2020. Vol. 130. N 5. P. 2202–2205.

54. Mehta P., McAuley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J., HLH Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression // *Lancet.* 2020. Vol. 395. N 10229. P. 1033–1034.

55. Zuo Y., Yalavarthi S., Shi H., Gockman K., Zuo M., Madison J.A., Blair C.N., Weber A., Barnes B.J., Egeblad M., Woods R.J., Kanthi Y., Knight J.S. Neutrophil extracellular traps in COVID-19 // *JCI Insight.* 2020. Vol. 5. N 11: e138999.

56. Martinod K., Wagner D.D. Thrombosis: tangled up in NETs // *Blood.* 2014. Vol. 123. N 18. P. 2768–2776.

57. Fuchs T.A., Brill A., Duerschmied D., Schatzberg D., Monestier M., Myers D.D., Wroblewski S.K., Wakefield T.W., Hartwig J.H., Wagner D.D. Extracellular DNA traps promote thrombosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010. Vol. 107. N 36. P. 15880–15885.

58. Brill A., Fuchs T.A., Savchenko A.S., Thomas G.M., Martinod K., De Meyer S.F., Bhandari A.A., Wagner D.D. Neutrophil extracellular traps promote deep vein thrombosis in mice // *J. Thromb. Haemost.* 2012. Vol. 10. N 1. P. 136–144.

59. Jimenez-Alcazar M., Kim N., Fuchs T.A. Circulating extracellular DNA: cause or consequence of thrombosis? // *Semin. Thromb. Hemost.* 2017. Vol. 43. N 6. P. 553–561.

60. Novotny J., Oberdieck P., Titova A., et al. Thrombus NET content is associated with clinical outcome in stroke and myocardial infarction // *Neurology.* 2020. Vol. 94. N 22. P. e2346–e2360.

61. Gloude N.J., Khandelwal P., Luebbering N., Lounder D.T., Jodele S., Alder M.N., Lane A., Wilkey A., Lake K.E., Litts B., Davies S.M. Circulating dsDNA, endothelial injury, and complement activation in thrombotic microangiopathy and GVHD // *Blood.* 2017. Vol. 130. N 10. P. 1259–1266.

62. Borissoff J.I., Joosen I.A., Versteilen M.O., Brill A., Fuchs T.A., Savchenko A.S., Gallant M., Martinod K., Ten Cate H., Hofstra L., Crijns H.J., Wagner D.D., Kietselaer B.L.J.H. Elevated levels of circulating DNA and chromatin are independently associated with severe coronary atherosclerosis and a prothrombotic state // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013. Vol. 33. N 8. P. 2032–2040.

63. Yalavarthi S., Gould T.J., Rao A.N., Mazza L.F., Morris A.E., Nunez-Alvarez C., Hernandez-Ramirez D., Bockenstedt P.L., Liaw P.C., Cabral A.R., Knight J.S. Release of neutrophil extracellular traps by neutrophils stimulated with antiphospholipid antibodies: a newly identified mechanism of thrombosis in the antiphospholipid syndrome // *Arthritis Rheumatol.* 2015. Vol. 67. N 11. P. 2990–3003.

64. Leppkes M., Maueroeder C., Hirth S., et al. Externalized decondensed neutrophil chromatin occludes pancreatic ducts and drives pancreatitis // *Nat. Commun.* 2016. Vol. 7: 10973.

65. Merza M., Hartman H., Rahman M., Hwaiz R., Zhang E., Renstrom E., Luo L., Morgelin M., Regner S., Thorlacius H. Neutrophil extracellular traps induce trypsin activation, inflammation, and tissue damage in mice with severe acute pancreatitis // *Gastroenterology.* 2015. Vol. 149. N 7. P. 1920–1931.e8.

66. Schauer C., Janko C., Munoz L.E., et al. Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines // *Nat. Med.* 2014. Vol. 20. N 5. P. 511–527.

67. Park J., Wysocki R.W., Amoozgar Z., et al. Cancer cells induce metastasis-supporting neutrophil extracellular DNA traps // *Sci. Transl. Med.* 2016. Vol. 8. N 361: 361ra138.

68. Levi M. Management of cancer-associated disseminated intravascular coagulation // *Thromb. Res.* 2016. Vol. 140. Suppl. 1. P. S66–S70.
69. Guglietta S., Chiavelli A., Zagato E., Krieg C., Gandini S., Ravenda P.S., Bazolli B., Lu B., Penna G., Rescigno M. Coagulation induced by C3aR-dependent NETosis drives protumorigenic neutrophils during small intestinal tumorigenesis // *Nat. Commun.* 2016. Vol. 7: 11037.
70. Breitbach C.J., De Silva N.S., Falls T.J., et al. Targeting tumor vasculature with an oncolytic virus // *Mol. Ther.* 2011. Vol. 19. N 5. P. 886–894.
71. 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.
72. Moore S., Juo H.H., Nielsen C.T., Tyden H., Bengtsson A.A., Lood C. Role of neutrophil extracellular traps regarding patients at risk of increased disease activity and cardiovascular comorbidity in systemic lupus erythematosus // *J. Rheumatol.* 2019. Vol. 47. N 10: 190875.
73. Pratesi F., Dioni I., Tommasi C., Alcaro M.C., Paolini I., Barbetti F., Boscaro F., Panza F., Puxeddu I., Rovero P., Migliorini P. Antibodies from patients with rheumatoid arthritis target citrullinated histone 4 contained in neutrophils extracellular traps // *Ann. Rheum. Dis.* 2014. Vol. 73. N 7. P. 1414–1422.
74. Falk R.J., Jennette J.C. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis // *N. Engl. J. Med.* 1988. Vol. 318. N 25. P. 1651–1657.
75. Al-Mayouf S.M., Sunker A., Abdwani R., et al. Loss-of-function variant in DNASE1L3 causes a familial form of systemic lupus erythematosus // *Nat. Genet.* 2011. Vol. 43. N 12. P. 1186–1188.
76. Carmona-Rivera C., Carlucci P.M., Moore E., et al. Synovial fibroblast-neutrophil interactions promote pathogenic adaptive immunity in rheumatoid arthritis // *Sci. Immunol.* 2017. Vol. 2. N 10: eaag3358.
77. Hakkim A., Furnrohr B.G., Amann K., Laube B., Abed U.A., Brinkmann V., Herrmann M., Voll R.E., Zychlinsky A. Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010. Vol. 107. N 21. P. 9813–9818.
78. O'Sullivan K.M., Lo C.Y., Summers S.A., Elgass K.D., McMillan P.J., Longano A., Ford S.L., Gan P.Y., Kerr P.G., Kitching A.R., Holdsworth S.R. Renal participation of myeloperoxidase in anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated glomerulonephritis // *Kidney Int.* 2015. Vol. 88. N 5. P. 1030–1046.
79. Kumar S.V., Kulkarni O.P., Mulay S.R., Darisipudi M.N., Romoli S., Thomasova D., Scherbaum C.R., Hohenstein B., Hugo C., Müller S., Liapis H., Anders H.J. Neutrophil extracellular trap-related extracellular histones cause vascular necrosis in severe GN // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2015. Vol. 26. N 10. P. 2399–2413.
80. Park S.Y., Shrestha S., Youn Y.J., et al. Autophagy primes neutrophils for neutrophil extracellular trap formation during sepsis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017. Vol. 196. N 5. P. 577–589.
81. Meng W., Paunel-Görgülü A., Flohé S., Hoffmann A., Witte I., MacKenzie C., Baldus S.E., Windolf J., Lögters T.T. Depletion of neutrophil extracellular traps in vivo results in hypersusceptibility to polymicrobial sepsis in mice // *Crit. Care.* 2012. Vol. 16. N 4: R137.
82. Saffarzadeh M., Juenemann C., Queisser M.A., Lochnit G., Barreto G., Galuska S.P., Lohmeyer J., Preissner K.T. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones // *PLoS One.* 2012. Vol. 7. N 2: e32366.
83. Weber C. Liver: neutrophil extracellular traps mediate bacterial liver damage // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2015. Vol. 12. N 5: 251.
84. Xu J., Zhang X., Pelayo R., Monestier M., Ammollo C.T., Semeraro F., Taylor F.B., Esmon N.L., Lupu F., Esmon C.T. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis // *Nat. Med.* 2009. Vol. 15. N 11. P. 1318–1321.
85. Czaikoski P.G., Mota J.M., Nascimento D.C., Sonego F., Castanheira F.V., Melo P.H., Scortegagna G.T., Silva R.L., Barroso-Sousa R., Souto F.O., Pazin-Filho A., Figueiredo F., Alves-Filho J.C., Cunha F.Q. Neutrophil extracellular traps induce organ damage during experimental and clinical sepsis // *PLoS One.* 2016. Vol. 11. N 2: e0148142.
86. Pietronigro E.C., Bianca V.D., Zenaro E., Constantin G. NETosis in Alzheimer's disease // *Front. Immunol.* 2017. Vol. 8: 211.
87. Lachowicz-Scroggins M.E., Dunican E.M., Charbit A.R., et al. Extracellular DNA, neutrophil extracellular traps, and inflammasome activation in severe asthma // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2019. Vol. 199. N 9. P. 1076–1085.
88. Zhang T., Mei Y., Dong W., Wang J., Huang F., Wu J. Evaluation of protein arginine deiminase-4 inhibitor in TNBS-induced colitis in mice // *Int. Immunopharmacol.* 2020. Vol. 84: 106583.
89. Dinallo V., Marafini I., Di Fusco D., Laudisi F., Franzè E., Di Grazia A., Figliuzzi M.M., Caprioli F., Stolfi C., Monteleone I., Monteleone G. Neutrophil extracellular traps sustain inflammatory signals in ulcerative colitis // *J. Crohns Colitis.* 2019. Vol. 13. N 6. P. 772–784.
90. Gupta A.K., Hasler P., Holzgreve W., Gebhardt S., Hahn S. Induction of neutrophil extracellular DNA lattices by placental microparticles and IL-8 and their presence in preeclampsia // *Hum. Immunol.* 2005. Vol. 66. N 11. P. 1146–1154.
91. Vecchio F., Lo Buono N., Stabilini A., et al. Abnormal neutrophil signature in the blood and pancreas of presymptomatic and symptomatic type 1 diabetes // *JCI Insight.* 2018. Vol. 3. N 18: e122146.
92. Zhou J., Yang Y., Gan T., Li Y., Hu F., Hao N., Yuan B., Chen Y., Zhang M. Lung cancer cells release high mobility group box 1 and promote the formation of neutrophil extracellular traps // *Oncol. Lett.* 2019. Vol. 18. N 1. P. 181–188.
93. Short K.R., von Köckritz-Blickwede M., Langereis J.D., Chew K.Y., Job E.R., Armitage C.W., Hatcher B., Fujihashi K., Reading P.C., Hermans P.W., Wijburg O.L., Diavatopoulos D.A. Antibodies mediate formation of neutrophil extracellular traps in the middle ear and facilitate secondary pneumococcal otitis media // *Infect. Immun.* 2014. Vol. 82. N 1. P. 364–370.

94. Hwang J.W., Kim J.H., Kim H.J., Choi I.H., Han H.M., Lee K.J., Kim T.H., Lee S.H. Neutrophil extracellular traps in nasal secretions of patients with stable and exacerbated chronic rhinosinusitis and their contribution to induce chemokine secretion and strengthen the epithelial barrier // *Clin. Exp. Allergy*. 2019. Vol. 49. N 10. P. 1306–1320.

95. Tibrewal S., Ivanir Y., Sarkar J., Nayeb-Hashemi N., Bouchard C.S., Kim E., Jain S. Hyperosmolar stress induces neutrophil extracellular trap formation: implications for dry eye disease // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2014. Vol. 55. N 12. P. 7961–7969.

96. Shan Q., Dwyer M., Rahman S., Gadjeva M. Distinct susceptibilities of corneal *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates to neutrophil extracellular trap-mediated immunity // *Infect. Immun*. 2014. Vol. 82. N 10. P. 4135–4143.

97. Jin X., Zhao Y., Zhang F., Wan T., Fan F., Xie X., Lin Z. Neutrophil extracellular traps involvement in corneal fungal infection // *Mol. Vis*. 2016. Vol. 22. P. 944–952.

98. Magán-Fernández A., Al-Bakri S.M., O'Valle F., Benavides-Reyes C., Abadía-Molina F., Mesa F. Neutrophil extracellular traps in periodontitis // *Cells*. 2020. Vol. 9. N 6: E1494.

99. Menegazzo L., Ciciliot S., Poncina N., Mazzucato M., Persano M., Bonora B., Albiero M., de Kreutzenberg S.V., Avogaro A., Fadini G.P. NETosis is induced by high glucose and associated with type 2 diabetes // *Acta Diabetol*. 2015. Vol. 52. N 3. P. 497–503.

Поступила в редакцию 12.08.2020 г.

После доработки 28.09.2020 г.

Принята в печать 03.10.2020 г.

REVIEW

Neutrophil extracellular traps: new aspects

N.V. Vorobjeva 

*Department of Immunology, Biology Faculty, Lomonosov Moscow State University,
Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia
e-mail: nvvorobjeva@mail.ru*

Neutrophils are the first line of defense against invading pathogens in the focus of inflammation, where they use effector functions such as phagocytosis, degranulation and formation of reactive oxygen species (ROS). In 2004, Arturo Zychlinsky described an additional neutrophil effector function – the release of neutrophil extracellular traps or NETs. NETs consist of the modified chromatin “decorated” with bactericidal proteins from granules, nucleus, and cytoplasm. The release of NETs can be activated by a variety of physiological and pharmacological stimuli, and depends on the formation of ROS, the main source of which is enzymatic complex NADPH oxidase. In the process of NET formation, bactericidal granule components exit from granules into cytoplasm, the modification of histones leading to chromatin decondensation, the destruction of the nuclear envelope and cytoplasmic membrane, and the extrusion of chromatin outside the cell are taking place. However, the uncontrolled NET release is a provoking factor in the development of various inflammatory and autoimmune diseases. NETs have been discovered at autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, psoriasis, and vasculitis; NETs are involved in the pathogenesis of cardiovascular, pulmonary, and oncological diseases. In this review, the basic molecular mechanisms of NETs formation, as well as their role in the physiological processes and pathogenesis of a number of diseases including COVID-19 are discussed.

Keywords: *neutrophil, neutrophil extracellular traps, NETosis, NADPH oxidase, reactive oxygen species, thrombosis, sepsis*

Сведения об авторе

Воробьева Нина Викторовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры иммунологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Тел.: 8-495-939-46-46; e-mail: nvvorobjeva@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5233-9338>