

© Коллектив авторов, 2022

УДК 616-002-008.953-092

Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И.

Новые возможности диагностики и исследования патогенеза различных видов воспаления

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, Россия, ул. Островитянова, д. 1

Нейтрофильные экстраклеточные ловушки (НЭЛ) возникают в результате высвобождения гранулярного и ядерного содержимого нейтрофилов во внеклеточное пространство в ответ на различные классы микроорганизмов, растворимые факторы и собственные модифицированные антигены организма. Во многих исследованиях продемонстрировано, что образование НЭЛ является эффективным механизмом борьбы с внедряющимися микроорганизмами, поскольку недостаточность формирования НЭЛ или гидролиз основной нуклеотидной цепи НЭЛ бактериальными ДНКазами делает организм человека восприимчивым к инфекциям. Основная роль НЭЛ – предотвращение распространения микроорганизмов в организме. Принято считать, что образование нейтрофильных экстраклеточных ловушек должно строго регулироваться, чтобы избежать повреждения тканей и избыточной гемокоагуляции. **Цель исследования** – морфологическая характеристика основных типов структур нейтрофильных экстраклеточных ловушек в зависимости от вида воспалительного процесса.

Методика. В исследование были включены 18 больных с различными видами воспаления (абсцесс брюшной полости, аппендицит, панкреонекроз, калькулезный холецистит) в острый период заболевания с высокими показателями лейкоцитоза (10-12 тыс/мкл). Для визуализации и подсчета нейтрофильных экстраклеточных ловушек использовали метод флуоресцентной микроскопии. Окрашивание НЭЛ проводили с помощью флуоресцентного красителя для двухцепочечной ДНК SYBR Green (Evrogen).

Результаты. Показано, что при благоприятном течении острого инфекционного процесса нейтрофилы выбрасывают одну или несколько нитей с ДНК, которые затем ветвятся и формируют структуру сети. В дальнейшем происходит ретракция волокон сети с захватом микроорганизмов. При постнекротическом воспалении сеть не формируется, а вместо неё возникает вуалеобразная структура, состоящая из тонких нитей с ДНК. Асептическое воспаление характеризуется особой морфологической формой – нитевидной. Нейтрофил, при этом виде воспаления, выбрасывает значительной длины одиночную нить с ДНК.

Заключение. Предложенный нами метод визуализации нативных нейтрофильных экстраклеточных ловушек показал высокую диагностическую эффективность. Он позволяет выявлять различия в структурах нейтрофильных экстраклеточных ловушек при разных типах воспаления.

Ключевые слова: нейтрофильные экстраклеточные ловушки; инфекционное воспаление; некротическое воспаление; асептическое воспаление; патогенез

Для цитирования: Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И. Новые возможности диагностики и исследования патогенеза различных видов воспаления. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(2): 34-42.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.02.34-42

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Порядин Г.В.; сбор и обработка материала, подготовка иллюстративного материала, написание текста – Казимирский А.Н.; статистическая обработка материала – Панина М.И.; редактирование – Салмаси Ж.М. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Казимирский Александр Николаевич, alnica10@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 31.01.2022

Принята к печати 31.03.2022

Опубликована 27.05.2022

Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I.

New opportunities for diagnosis and investigation of the pathogenesis of various types of inflammation

N.I. Pirogov Russian National Research Medical University,
Ostrovityanova St. 1, Moscow, 117997, Russian Federation

Neutrophil extracellular traps (NETs) arise as a result of the release of granular and nuclear contents of neutrophils into the extracellular space in response to various classes of microorganisms, soluble factors and own modified antigens. Many studies have demonstrated that the formation of NETs is an effective mechanism for combating invading microorganisms, since insufficient release of NETs or hydrolysis of the main nucleotide chain of NET by bacterial DNases increases susceptibility to infections. The main role of NET is to prevent the spread of microorganisms. It is generally believed that the formation of NETs should be strictly regulated to avoid tissue damage and excessive hemocoagulation.

The aim of the study was to identify the main morphological structures of NETs depending on the type of inflammatory process.

Methods. The study included 18 patients with various types of inflammation (abdominal abscess, appendicitis, pancreatic necrosis, calculous cholecystitis) in the acute period of the disease with high rates of leukocytosis ($10-12 \cdot 10^3/\mu\text{l}$). NETs were stained with a fluorescent dye for double-stranded DNA, SYBR Green (Evrogen), and visualized and counted using fluorescence microscopy.

Results. The study showed that, with a benign course of an acute infectious process, neutrophils emit one or more DNA strands, which then branch and form the network structure. In the future, the fibers of the network retract, capturing microorganisms. With necrotic inflammation, the network is not formed, but instead a veil-like structure consisting of thin strands of DNA appears. Aseptic inflammation is characterized by a special morphological form, i.e., a threadlike form. Neutrophils, with this type of inflammation, emit a single strand with DNA of considerable length.

Conclusion. Thus, our proposed method of visualization of native NETs has shown high efficiency. It allowed us to identify different structures of NETs in various types of inflammation (infectious, necrotic and aseptic), which seems relevant and opens up a new direction in pathophysiology of inflammation.

Keywords: neutrophil extracellular traps; infectious inflammation; necrotic inflammation; aseptic inflammation; pathogenesis

For citation: Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I. New opportunities for diagnosis and investigation of the pathogenesis of various types of inflammation. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2022; 66(2): 34-42. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.02.34-42

Author's contribution: research concept and design of the study – Poryadin G.V.; collection and processing of material, preparation of illustrative material, writing the text – Kazimirskii A.N.; statistical processing of the material – Panina M.I.; editing – Salmasi J.M. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

For correspondence: Alexander N. Kazimirskii, Doctor of Biological Sciences, Associate Prof., Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation, e-mail: alnica10@mail.ru

Information about the authors:

Kazimirskii A.N., <https://orcid.org/0000-0002-3079-4089>

Salmasi J.M., <https://orcid.org/0000-0001-8524-0019>

Poryadin G.V., <https://orcid.org/0000-0003-2010-3296>

Panina M.I., <https://orcid.org/0000-0002-7651-0037>

Financing. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 31.03.2022

Accepted 31.03.2022.

Published 27.05.2022

Введение

Нейтрофильные экстраклеточные ловушки (НЭЛ) – форма реагирования активированных нейтрофилов на контактные взаимодействия с патогенами и клетками, находящимися в состоянии апоптоза. НЭЛ формируются в результате освобождения гранулярного и ядерного содержимого нейтрофилов во внеклеточное пространство в ответ на различные классы

микроорганизмов, растворимые факторы и собственные модифицированные антигены организма. НЭЛ состоят из деконденсированных волокон хроматина, покрытых антимикробными гранулярными и цитоплазматическими белками, такими как миелопероксидаза, эластаза нейтрофилов (NE) и α -дефенсин. Центральным внутриклеточным событием образова-

ния НЭЛ является удаление гистонов пептидиларгининдезаминазой 4 (PAD4) [1, 2]. Во многих исследованиях продемонстрировано, что образование НЭЛ является эффективным механизмом борьбы с вторгающимися микроорганизмами, поскольку недостаточность высвобождения НЭЛ или гидролиз основной нуклеотидной цепи НЭЛ бактериальными ДНКазами делает организм человека восприимчивым к инфекциям. Основная роль НЭЛ – предотвращение распространения микроорганизмов в организме. Избыток образования НЭЛ имеет и обратную сторону. Патогенная роль избыточного образования НЭЛ была описана для многих воспалительных заболеваний человека, как инфекционного, так и неинфекционного происхождения. Негативный эффект чрезмерного образования НЭЛ особенно важен при заболеваниях легких, поскольку НЭЛ могут легче формироваться в легочных альвеолах, вызывая повреждение. Более того, НЭЛ и связанные с ними молекулы способны напрямую вызывать гибель эпителиальных и эндотелиальных клеток. Массивное образование НЭЛ было зарегистрировано при целом ряде легочных заболеваний, включая бронхиальную астму, хроническую обструктивную болезнь легких, муковисцидоз, респираторно-синцитиальный вирусный бронхит, грипп, бактериальную пневмонию и туберкулез. В настоящее время общепринятым считается мнение о том, что образование нейтрофильных экстраклеточных ловушек должно строго регулироваться, чтобы избежать повреждения тканей и избыточной гемокоагуляции [1].

Однако обследование больных с воспалительными заболеваниями различного генеза показывают, что помимо изменений общей численности нейтрофильных экстраклеточных ловушек, существенно изменяется и их морфологическая структура. Эти наблюдения заставили углубленно подойти к корректной оценке численности НЭЛ и потребовали разработки метода, позволяющего визуализировать и регистрировать нативные нейтрофильные экстраклеточные ловушки.

Цель исследования – выявление и характеристика основных морфологических типов нейтрофильных экстраклеточных ловушек при воспалении.

Методика

Больные. В работе использовали периферическую кровь 18 больных, все исследования выполнялись по международным правилам работы с биоматериалом людей. Все больные находились на лечении в хирургическом отделении 31 ГКБ г. Москвы с воспалительными заболеваниями (абсцесс брюшной полости, аппендицит, панкреонекроз, калькулезный холеци-

стит). В исследование включались пациенты в острый период заболевания с высокими показателями лейкоцитоза (10–12 тыс/мкл). Все процедуры выполнялись в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменного информированного согласия всех пациентов. Работа одобрена этическим комитетом университета.

Препараты. Для модулирования формирования нейтрофильных экстраклеточных ловушек использовали микробную культуру *Klebsiella pneumoniae*, Sigma (LPS) в конечной концентрации 50 мкг/мл при культивировании с нейтрофилами 3 здоровых доноров.

Получение клеточных фракций. В исследовании использовали клеточные фракции нейтрофилов. Венозную кровь (10 мл) больных для предотвращения свертывания помещали в силиконизированную пробирку с ЭДТА. Для выделения нейтрофилов кровь разводили в 2 раза натрий-фосфатным буферным раствором (рН 7,4) и наслаивали на двойной градиент плотности стерильных растворов фикола-верографина. Плотность верхнего слоя градиента составляет 1,077, нижнего – 1,190. После центрифугирования (1600 об/мин, 30 мин) на границе между градиентами появляется кольцо гранулоцитов с чистотой 98–100%, эритроциты при этом осаждаются на дно пробирки. Кольцо нейтрофильных гранулоцитов отбирали, переносили в пробирки для центрифугирования, дважды отмывали от примесей фикола буферным раствором, используя центрифугирование для осаждения клеток (1200 об/мин, 15 мин). Стерильно выделенные нейтрофилы переносили в среду RPMI-1640 и использовали в экспериментах по культивированию. Жизнеспособность выделенных нейтрофилов (тест с 0,1% раствором трипанового синего) составляла не менее 90%.

Культивирование клеток крови с LPS. К стерильно выделенным нейтрофилам добавляли LPS и проводили инкубацию с клетками в атмосфере 5% CO₂ при 37 °С. В пробе (объем 200 мкл), приготовленной на среде RPMI-1640, содержались нейтрофилы и препарат LPS. Конечная концентрация клеток в среде культивирования составляла 2*10⁵ клеток/мл.

Иммунофлуоресцентное окрашивание нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Для обнаружения и подсчета нейтрофильных экстраклеточных ловушек использовали флуоресцентную микроскопию. Для этого нейтрофилы после окончания инкубации помещали в лунки на предметном стекле, образованные наплавлением пленки Parafilm (Sigma) на стекло. Диаметр лунки 5 мм. Стекло в лунках предварительно обрабатывали 0,1% поли-L-лизинном для увеличения адгезии

клеток. Затем в каждую лунку вносили 10 мкл суспензии нейтрофилов. Для адгезирования нейтрофилов предметные стекла с нанесенной суспензией нейтрофилов помещали во влажную камеру и инкубировали в течение 30 мин при 37 °С. После окончания процедуры адгезии в лунки добавляли 10 мкл флуоресцентного красителя SYBR Green (Evrogen) и выдерживали окрашенные пробы в течение 10 мин в темноте при 37 °С. Для удаления излишков красителя предметные стекла с адгезированными нейтрофилами промывали в натрий фосфатном буферном растворе в течение 2 мин и микроскопировали под иммерсией. Среди 100 нейтрофилов подсчитывали количество НЭЛ. Результаты выражали в процентах как отношение количества НЭЛ к общему количеству нейтрофилов.

Статистическая обработка. Статистическую обработку полученных результатов проводили при большой выборке с помощью критерия t Стьюдента, при малой выборке с ненормальным распределением, а также при сравнении попарно связанных вариант – с при-

менением непараметрических критериев Вилкоксона и Манна–Уитни

Результаты и обсуждение

В исследовании проводили определение количества НЭЛ у больных с различными видами воспаления, а также анализировали результаты экспериментов по формированию НЭЛ нейтрофилами здоровых доноров под влиянием LPS (*Klebsiella pneumoniae*). Данные представлены на **рис. 1** и в **таблице**.

Полученные результаты демонстрируют способность LPS активировать нейтрофилы, очевидно, действуя через TLR-рецепторы (рецепторы врожденного иммунитета), и индуцировать формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Морфология LPS-индуцированных НЭЛ во всех экспериментах имела характерную сетевидную форму.

В следующем разделе работы изучали морфологические варианты нейтрофильных экстраклеточных ловушек у больных. Было выявлено несколько типов

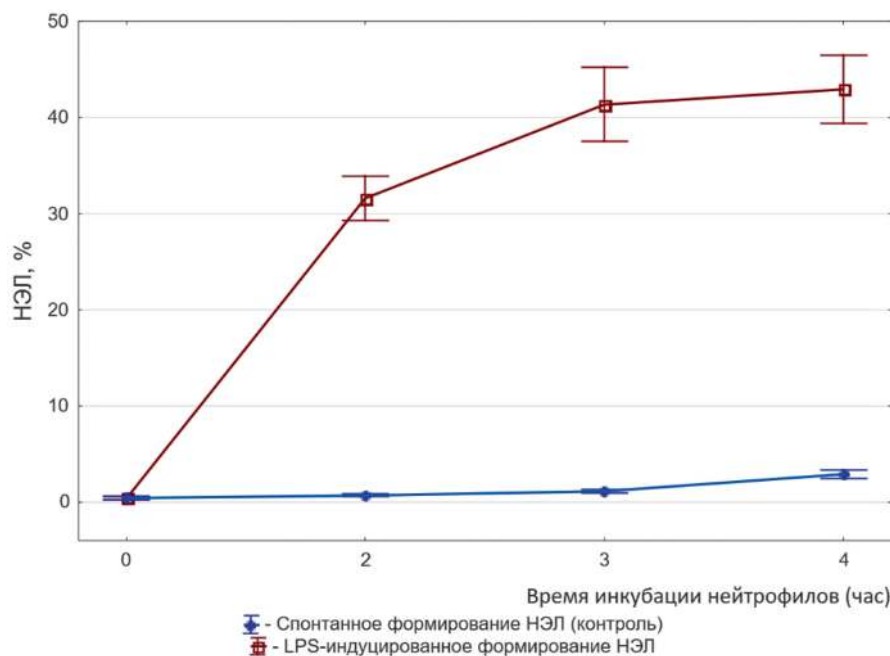


Рис. 1. Спонтанное и LPS-индуцированное формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек (НЭЛ) в условиях инкубации с нейтрофилами здоровых доноров под влиянием LPS (*Klebsiella pneumoniae*, Sigma).

По горизонтальной оси – время инкубации LPS с нейтрофилами (ч), по вертикальной оси – количество нейтрофильных экстраклеточных ловушек в %.

Fig. 1. Spontaneous and LPS-induced formation of neutrophil extracellular traps (NETs) under conditions of incubation with neutrophils of healthy donors under the influence of LPS (*Klebsiella pneumoniae*, Sigma).

The horizontal axis – the incubation time of LPS with neutrophils (h), the vertical axis – the number of neutrophil extracellular traps in %.

морфологически различающихся структур в зависимости от характера воспалительного процесса. Этапы формирования нейтрофильных экстраклеточных ловушек при благоприятном течении острого инфекционного воспалительного процесса приведены на рисунках 2–5.

Начальные этапы формирования НЭЛ состоят в выбросе одной или нескольких нитей (чаще всего двух) с двухцепочечной ДНК, которые вытягиваются на значительное расстояние в несколько клеточных диаметров (рис. 2).

Дальнейшие наблюдения показывают, что при формировании нейтрофильных экстраклеточных ловушек наблюдается определенная этапность процесса

(рис. 3, 4). На следующем этапе происходит утолщение волокон с ДНК, которое вызвано скольжением новых волокон с ДНК вдоль первоначально образованных.

При достижении определенной толщины волокна происходит его ветвление (рис. 4). Затем на следующем этапе волокна нейтрофильной ловушки пересекаются, взаимодействуют между собой, формируют сеть и захватывают патогены или остатки апоптозирующих клеток.

На последнем этапе формирования нейтрофильных экстраклеточных ловушек развивается ретракция волокон с ДНК, и патогены или гибнущие клетки организма прочно удерживаются структурой сети (рис. 5, 6).

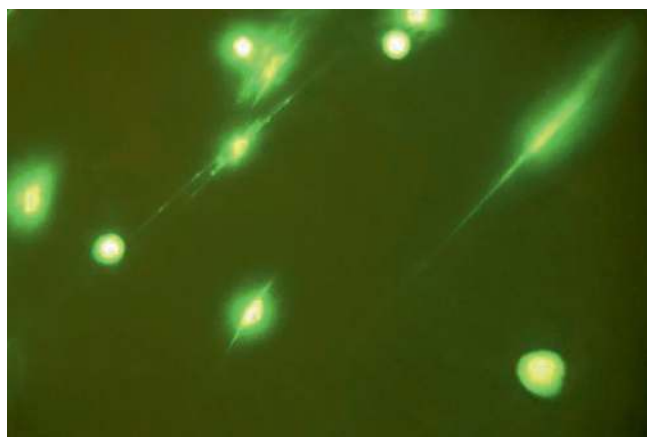


Рис. 2. Ранняя стадия формирования нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Выброс нитей с ДНК из клеточного ядра. Время инкубации 1 ч. Инфекционное воспаление.

Fig. 2. The early stage of the formation of neutrophil extracellular traps. Release of DNA strands from the cell nucleus. Incubation time 1 h. Infectious inflammation.

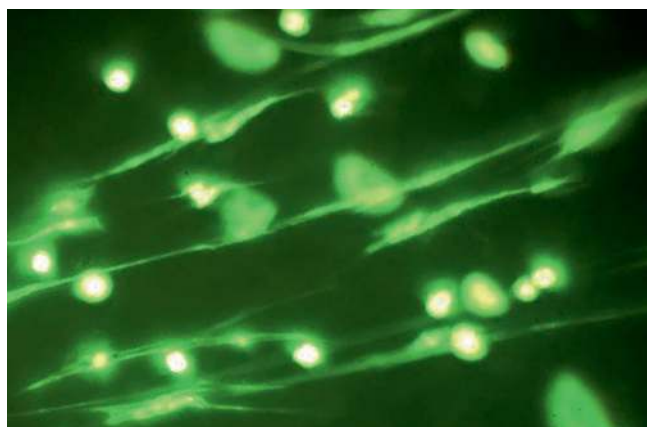


Рис. 3. Продолжение формирования нейтрофильных экстраклеточных ловушек.

Время инкубации 2 ч. Инфекционное воспаление.

Fig. 3. Continued formation of neutrophil extracellular traps. Incubation time 2 h. Infectious inflammation.

Таблица / Table

Формирование НЭЛ в условиях инкубации с нейтрофилами здоровых доноров
NEL formation under incubation conditions with neutrophils from healthy donors

НЭЛ, % (NET, %)	Время инкубации нейтрофилов (ч) Neutrophil incubation time (h)			
	0	2	3	4
Спонтанное формирование НЭЛ, контроль Spontaneous formation of NET (control)	0,41±0,17	0,74±0,12	1,14±0,20	2,93±0,45
LPS-индуцированное формирование НЭЛ LPS-induced formation NET	0,41±0,17	31,59±2,32*	41,38±3,83*	42,93±3,56*

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем; НЭЛ – нейтрофильные экстраклеточные ловушки.

Note. * $p < 0.05$ compared to the control; NET – neutrophils extracellular traps.

Рис. 2–6 отражают один процесс — раскрытие нейтрофильных экстраклеточных ловушек в организме больного, успешно преодолевающего инфекцию (благоприятное течение воспалительного процесса).

Неинфекционный (постнекротический) воспалительный процесс в организме больных (например, панкреонекроз) сопровождается совершенно иной морфологией ловушек (**рис. 7**).

Как видно из данных, представленных на рисунке **7 a, b, c** неинфекционный (постнекротический) воспалительный процесс характеризуется значительными нарушениями структуры нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Структура сети из волокон с ДНК при этом не образуется. Такие морфологические образования, очевидно, не способны захватывать гибну-

щие клетки и патогены с их последующим фагоцитозом. Необходимо отметить, что исследования морфологии нейтрофильных экстраклеточных ловушек при заболеваниях у людей практически отсутствуют. Не определялась также связь между видом воспалительного процесса и морфологией нейтрофильных ловушек.

Большинство исследований выполнено на нейтрофилах здоровых доноров при стимуляции клеток ФМА [3, 4], и в доступной для изучения литературе нет указаний на то, что морфология нейтрофильных экстраклеточных ловушек определяется видом воспаления.

В рамках настоящего исследования была проанализирована морфология нейтрофильных экстраклеточных ловушек при асептическом воспалении.

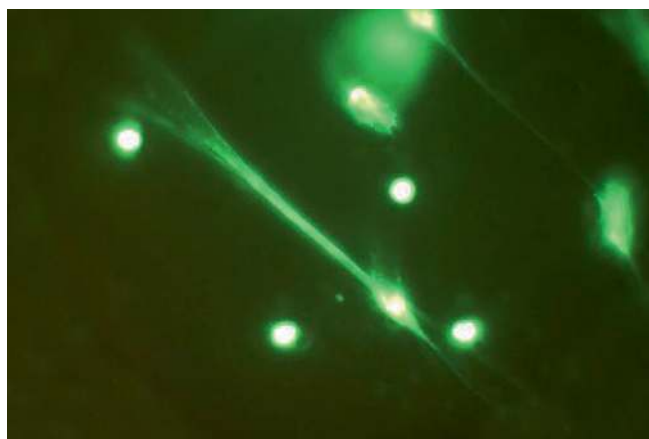


Рис. 4. Начало ветвления волокна нейтрофильной экстраклеточной ловушки.

Fig. 4. Initiation of branching of the neutrophil extracellular trap fiber.

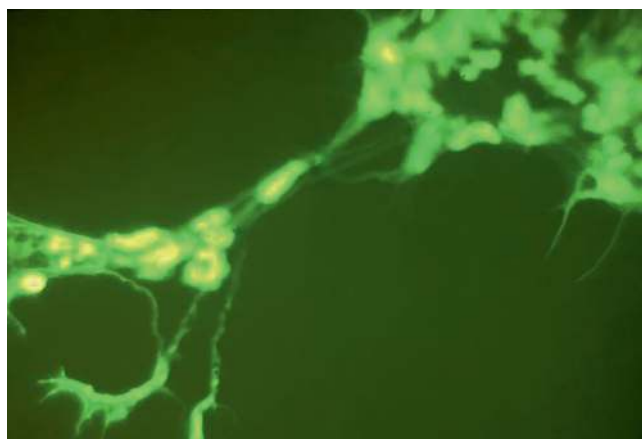


Рис. 5. Инфекционное воспаление (4 ч). Стадия ретракции нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Укорочение нитей ДНК вместе с захваченными ловушкой другими клетками.

Fig. 5. Infectious inflammation (4 h.). Retraction stage of neutrophil extracellular traps. Shortening of DNA strands together with other cells trapped by the trap.

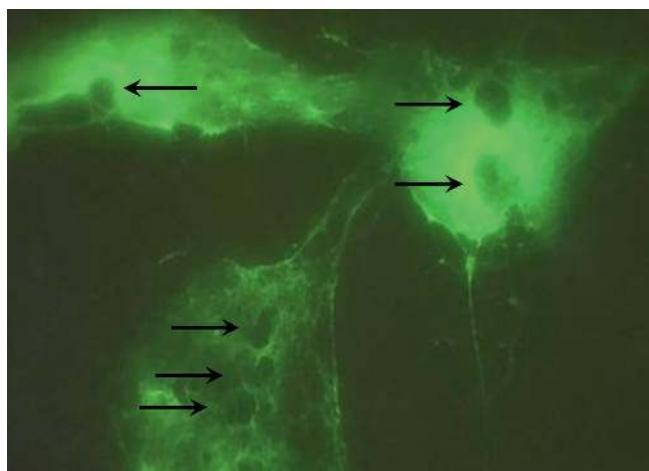


Рис. 6. Инфекционное воспаление (4 ч). Инкубация активированных нейтрофилов с *Staphylococcus Aureus*. Иллюстрация функционального теста на захватывающую способность нейтрофильными ловушками патогенов. Стадия ретракции нейтрофильных экстраклеточных ловушек вместе с захваченными ловушкой бактериями (отмечены стрелками).

Fig. 6. Infectious inflammation (4 hours). Incubation of activated neutrophils with *Staphylococcus Aureus*. Illustration of a functional test for neutrophil trapping capacity of pathogens. Retraction stage of neutrophil extracellular traps along with trapped bacteria (marked by arrows).

Асептический воспалительный процесс (больные с калькулёзным холециститом) также характеризуется значительными изменениями в морфологии НЭЛ. Эта форма воспаления приводит к формированию нейтрофильных экстраклеточных ловушек в виде **одиночных** волокон с ДНК, которые, видимо, не способны захватывать гибнущие клетки и не способны к ретракции с последующим фагоцитозом (**рис. 8, 9**).

Представленные результаты (**рис. 8, 9**) показывают, что асептический воспалительный процесс характеризуется особой нитевидной формой НЭЛ, и обнаружение таких структур перспективно в плане диагностики и лучшего понимания патогенеза.

Обсуждение

Актуальность проведенного исследования определяется ролью нейтрофильных экстраклеточных ловушек в организме человека. С их помощью реализуется важная противовирусная и антибактериальная

функция защитных систем организма [5–10]. Нейтрофильные экстраклеточные ловушки являются факторами сопряжения врожденного и адаптивного иммунитета, благодаря секреции аргиназы в межклеточное пространство [7–10], подавляющей адаптивный иммунитет на ранних этапах воспаления. Правильная, последовательная активация двух частей иммунной системы при контакте организма человека с патогеном дает возможность сформировать адекватный иммунный ответ. А нарушение этапов активации иммунной системы вызывает ослабление синтеза противомикробных иммуноглобулинов, создает условия для тканевого повреждения и гемокоагуляции [7]. Избыточную реактивность нейтрофилов в отношении раскрытия нейтрофильных экстраклеточных ловушек необходимо не только ограничивать, но и разрабатывать.

Таким образом, исследование различных видов воспаления выявило выраженное нарушение структуры нейтрофильных ловушек. Сетевидная форма, способ-

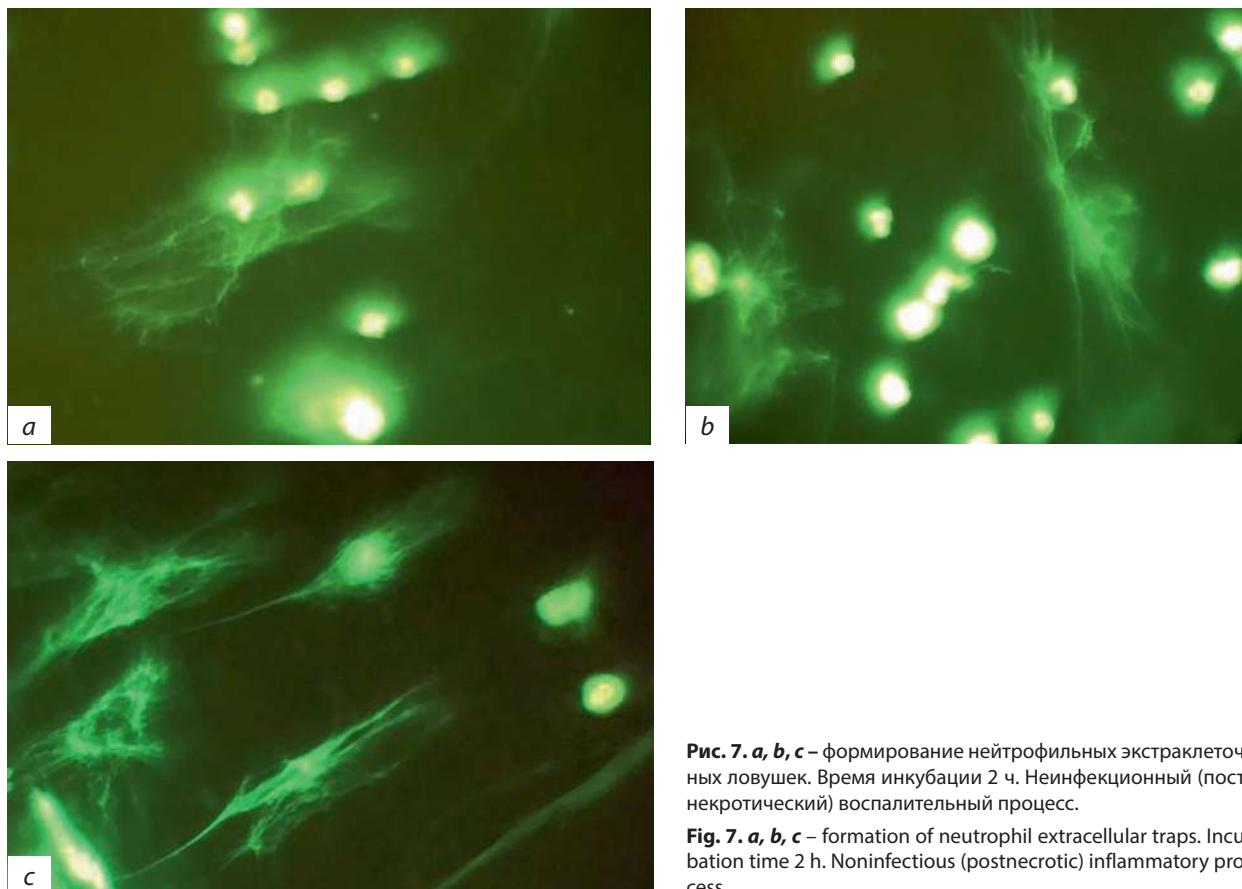


Рис. 7. a, b, c – формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Время инкубации 2 ч. Неинфекционный (постнекротический) воспалительный процесс.

Fig. 7. a, b, c – formation of neutrophil extracellular traps. Incubation time 2 h. Noninfectious (postnecrotic) inflammatory process.

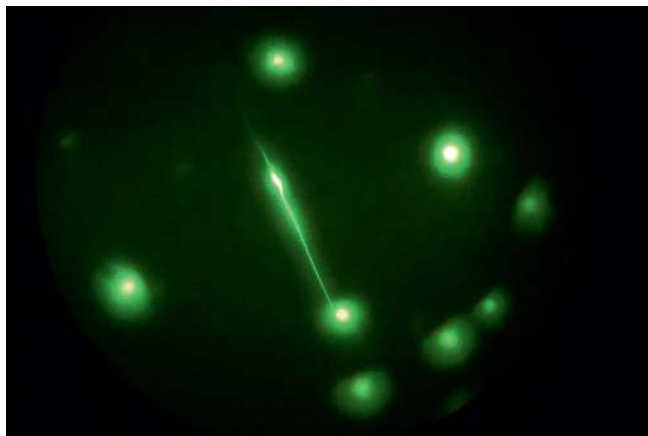


Рис. 8. Нитевидная форма нейтрофильных экстраклеточных ловушек у больных с асептическим воспалением (калькулезный холецистит).

Fig. 8. Thread-shaped neutrophilic extracellular traps in patients with aseptic inflammation (calculous cholecystitis).

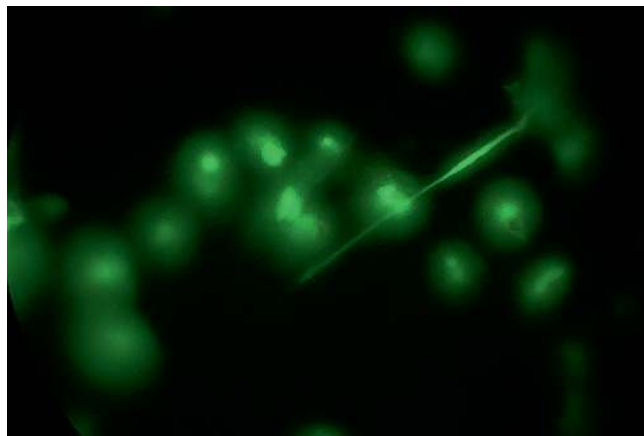


Рис. 9. Нейтрофильные экстраклеточные ловушки у больных с асептическим воспалением (калькулезный холецистит) в нитевидной форме.

Fig. 9. Neutrophil extracellular traps in patients with aseptic inflammation (calculous cholecystitis) in filamentous form.

ная к захвату патогенов и погибающих клеток организма, выявлена нами при остром воспалительном процессе с благоприятным течением. Способность такой структуры к ретракции важна в отношении последующего фагоцитоза моноцитами/макрофагами, развивающимися впоследствии процессы антигенной презентации.

Нейтрофильные экстраклеточные ловушки в виде неорганизованного пучка тонких нитей с ДНК обнаружены нами у больных с некротическими процессами в организме. Можно обоснованно предположить, что в дальнейшем эти тонкие нити будут испытывать ферментативную деградацию за счет ДНК-аз, локализованных на самом хроматине, которые активируются при снижении степени спирализации хроматина. Процесс ферментативного гидролиза нитей с ДНК приводит к образованию большого количества нуклеотидов во внеклеточном пространстве. Ферменты деградации нуклеотидов CD39 и CD73 могут высвобождать азотистые основания, которые, обладая выраженной липофильностью, способны присоединяться к поверхности клеток и дополнительно индуцировать повреждения, то есть являться факторами вторичной алтерации. Поэтому перспективной и актуальной задачей является поиск средств коррекции нарушенной морфологии нейтрофильных экстраклеточных ловушек. В настоящее время эта задача тем более актуальна, так как, по-видимому, этот механизм присутствует в патогенезе нового, недавно выявленного постковидного синдрома.

Нейтрофильные экстраклеточные ловушки у больных с асептическим воспалением представлены в ви-

де одиночных нитей с ДНК и по своей морфологии значительно отличаются от таковых при благоприятном развитии инфекционного воспалительного процесса. Можно обоснованно предполагать, что в случае асептического воспаления возможна индукция дополнительного тканевого повреждения за счет токсического действия внеклеточных азотистых оснований.

Заключение

В настоящем исследовании предложен новый метод визуализации нейтрофильных экстраклеточных ловушек, позволяющий наблюдать динамику процесса. Предложенный метод визуализации нативных нейтрофильных экстраклеточных ловушек (НЭЛ) показал высокую эффективность. Он позволил выявить различную структуру нейтрофильных экстраклеточных ловушек при различных видах воспаления (инфекционном, постнекротическом и асептическом), что представляется актуальным и открывающим новое направление патофизиологии воспаления.

Литература

(п.п. 1; 2; 9 см. References)

3. Воробьева Н.В., Пинегин Б.В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, роль в норме и при патологии. *Биохимия*. 2014; 79(12): 1580-91.
4. Пинегин Б.В., Дагиль Ю.А., Воробьева Н.В., Пашенков М.В. Влияние азоксимера бромиды на формирование внеклеточных нейтрофильных ловушек. *РМЖ*. 2019; 1(II): 42–6.
5. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н. Механизм действия бензидамина на локальное инфекционное воспаление. *Фарматека*. 2018; 13(366): 76-83.

6. Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н., Антонова Е.А., Порядин Г.В. Влияние препаратов местной антимикробной терапии на свойства клеток врожденного и адаптивного иммунитета. *Медицинский совет*. 2019; 8: 76-82. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-8-76-82>
7. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В. Антивирусная система врожденного иммунитета: патогенез и лечение Covid-19. *Вестник РГМУ*. 2020; 5: 5-14. <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2020.000>
8. Казимирский А.Н., Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Семенова Л.Ю. Эндогенные регуляторы иммунной системы (sCD100, малоновый диальдегид, аргиназа). *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017; 164(11): 652-60. <https://doi.org/10.24075/brsmu.2020.054>
10. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В. Нейтрофильные экстраклеточные ловушки — регуляторы формирования врожденного и адаптивного иммунитета. *РМЖ. Медицинское обозрение*. 2020; 1:3 8-41. <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2020-4-1-38-41>
3. Vorobjeva N.V., Pinegin B.V. Neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in health and disease. *Biochemistry (Moscow)*. 2014; 79(12): 1286-96.
4. Pinegin B.V., Dagil Yu.A., Vorobieva N.V., Pashchenkov M.V. Azoximer bromide effect on the neutrophil extracellular traps formation. *RMJ*. 2019; 1(II): 42–6. (in Russian)
5. Poryadin G.V., Salmasi J.M., Kazimirskii A.N. Mechanism of benzidamine action on local infectious inflammation. *Farmateka*. 2018; 13(366): 76-83. (in Russian)
6. Salmasi J.M., Kazimirskiy A.N., Antonova E.A., Poryadin G.V. Evaluation of influence several drugs with local antimicrobial activity against local immunity cells. *Meditinskiy sovet*. 2019; (8): 76-82. (in Russian). <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-8-76-82>
7. Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V. Antiviral system of innate immunity: COVID-19 pathogenesis and treatment. *Bulletin of RSMU*. 2020; (5): 5–13. (in Russian). <https://doi.org/10.24075/brsmu.2020.054>
8. Kazimirskii A.N., Poryadin G.V., Salmasi J.M., Semenova L.Y. Endogenous regulators of the immune system (sCD100, malonic dialdehyde, and arginase). *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018; 164(5): 693-700. <https://doi.org/10.1007/s10517-018-4061-6>
9. Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V. Coordination of Innate and Adaptive Immunity Depending on Neutrophilic Extracellular Traps Formation. *Austin J Clin Immunol*. 2019; 6(1): 1037.
10. Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V. Neutrophil extracellular traps regulate the development of innate and adaptive immune system. *RMZH. Meditsinskoe obozrenie*. 2020; 4(1): 38–41. (in Russian). <https://doi.org/10.32364/2587-6821-2020-4-1-38-41>

References

1. Porto B.N., Stein R.T. Neutrophil Extracellular Traps in Pulmonary Diseases: Too Much of a Good Thing? *Front Immunol*. 2016; 7: 311. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00311>
2. Ting Liu I, Fa-Ping Wang I, Geng Wang I, Hui Mao I. Role of Neutrophil Extracellular Traps in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Chin Med J (Engl)*. 2017; 130(6): 730-6. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.201608>

Сведения об авторах:

Казимирский Александр Николаевич, доктор биол. наук, доцент, вед. науч. сотр. отдела молекулярных технологий, ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», alnica10@mail.ru;

Салмаси Жан Мустафеевич, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета, ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», profjms@yandex.ru;

Порядин Геннадий Васильевич, чл.-корр. РАН, доктор мед. наук, проф. каф. патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета, ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», poryadin_GV@rsmu.ru;

Панина Марина Ивановна, доктор мед. наук, проф., каф. патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета, ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», pan-mar@list.ru