

УДК 612.017.1:612.112.91
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-56-63>



Противоинфекционная защита организма человека с участием нейтрофильных сетей

Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ступин В.А., Ким А.Э., Титова Е.Г., Рогожина Л.С.

Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

РЕЗЮМЕ

Введение. Нейтрофильные экстраклеточные ловушки (НЭЛ) в форме сетей исследованы при воспалительных заболеваниях. Присутствие нейтрофильных сетей у инфицированных людей без клинических симптомов не изучено.

Цель. Выявление НЭЛ у неболевших людей в период пандемии гриппа H1N1 и вне этого периода, а также исследование функциональной активности НЭЛ.

Пациенты и методы. Две группы волонтеров (по 10 человек) в возрасте 20–25 лет. Первая группа добровольцев обследована в спокойный эпидемиологический период, при отсутствии острых заболеваний в течение 1 мес до исследования и хронических заболеваний в анамнезе. Волонтеры 2-й группы контактировали с больными гриппом, но при этом не заболели. В исследование также были включены больные (12 человек) с острым воспалением в брюшной полости (аппендицит, холецистит, абсцесс) и 9 – с неспецифическим язвенным колитом. Нейтрофилы выделяли из крови традиционным методом на градиенте фикола. Определяли количество, морфологию и функциональную активность НЭЛ (по захвату *Klebsiella pneumoniae*). Для визуализации и подсчета НЭЛ использовали флуоресцентную микроскопию с красителем SYBR Green.

Результаты. У здоровых волонтеров, не контактировавших с больными, спонтанного формирования НЭЛ не возникало. Нейтрофилы же добровольцев, контактировавших с больными, спонтанно формировали нейтрофильные сети. Количество НЭЛ у них достигало $8,58 \pm 0,51\%$, а размеры НЭЛ – $39,68 \pm 3,52$ мкм. НЭЛ эффективно захватывали клетки тестового микроорганизма, что сопровождалось ретракцией волокон сети и преобразованием сетевидной структуры в вуалеобразную, которая удерживает $89,38 \pm 5,86$ микробных клеток. Для сравнения: нейтрофильная сеть больных с острым воспалением брюшной полости захватывает и связывает $20,2 \pm 1,67$ микробных клеток, при неспецифическом язвенном колите – $5,53 \pm 0,34$.

Заключение. Высокая связывающая способность нейтрофильных сетей является фактором эффективной защиты от развития инфекционного заболевания с манифестацией клинических симптомов.

Ключевые слова: функциональная активность нейтрофильных сетей, нейтрофильные экстраклеточные ловушки, вуалеобразная форма, не болеющие волонтеры, грипп H1N1, *Klebsiella pneumoniae*, воспалительные заболевания

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Соответствие принципам этики. Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 203 от 21.12.2021).

Для цитирования: Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ступин В.А., Ким А.Э., Титова Е.Г., Рогожина Л.С. Противоинфекционная защита организма человека с участием нейтрофильных сетей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):56–63. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-56-63>.

Neutrophil extracellular traps in the anti-infectious defense of human organism

Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Stupin V.A., Kim A.E., Titova E.G., Rogozhina L.S.

Pirogov Russian National Research Medical University
1, Ostrovityanova Str., Moscow, 117997, Russian Federation

ABSTRACT

Background. Neutrophil extracellular traps (NETs) are net-like structures that have been investigated in inflammatory diseases. However, the presence of NETs in infected persons without clinical symptoms has not been yet studied.

Aim. To reveal NETs in healthy persons during and after the H1N1 influenza pandemic as well as to study the functional activity of NETs.

Materials and methods. The study included two groups of volunteers ($n = 10$ in each group) aged 20–25 years. The first group of volunteers was examined in the absence of acute diseases during one month before the study and in the absence of chronic diseases in the medical history. Volunteers of the second group were in contact with patients with influenza, but did not get sick. The comparative study also included patients with acute inflammation in the abdominal cavity (appendicitis, cholecystitis, abscess; 12 patients) and 9 patients with non-specific ulcerative colitis. Neutrophils were isolated from the blood by the traditional method of Ficoll density centrifugation. The number, morphology, and functional activity of NETs were determined (by capture of *Klebsiella pneumoniae*). SYBR Green I-based fluorescence microscopy was used to visualize and quantify NETs.

Results. In healthy volunteers who were not in contact with infected patients, spontaneous NETs formation did not occur. Neutrophils of persons who were in contact with infected patients spontaneously formed NETs. In this case the number of NETs reached $8.58 \pm 0.51\%$, and the size of NETs amounted to $39.68 \pm 3.52 \mu\text{m}$. NETs effectively captured cells of the tested microorganism, which was accompanied by retraction of network fibers and transformation of the network structure into a cloud-like one, which retained 89.38 ± 5.86 microbial cells. For comparison, the NETs in patients with acute inflammation in the abdominal cavity captured and bound 20.2 ± 1.67 microbial cells and with non-specific ulcerative colitis – 5.53 ± 0.34 cells.

Conclusion. High binding capacity of NETs is a factor contributing to effective defense of the body against the development of an infectious disease with manifested clinical symptoms.

Keywords: functional activity of NETs, neutrophil extracellular traps, cloud-like appearance, healthy volunteers, H1N1 influenza, *Klebsiella pneumoniae*, inflammatory diseases

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Pirogov Russian National Research Medical University (Protocol No. 203 of 21.12.2021).

For citation: Kazimirskii A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Stupin V.A., Kim A.E., Titova E.G., Rogozhina L.S. Neutrophil extracellular traps in the anti-infectious defense of human organism. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2024;23(1):56–63. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2024-1-56-63>.

ВВЕДЕНИЕ

Нейтрофилы формируют нейтрофильные экстраклеточные ловушки (НЭЛ, NETs) в качестве защитного механизма против патогенов, вторгающихся в организм человека. В ранее проведенных исследованиях, касающихся реакций клеток врожденно-

го иммунитета (нейтрофилов) в ответ на вирусное инфицирование (хантавирусы, аденовирусы, вирус иммунодефицита человека, вирусы гриппа), были получены данные о формировании нейтрофильных экстраклеточных ловушек у заболевших людей при различных острых вирусных заболеваниях [1–3]. В это же время исследователи обнаружили, что избы-

точное формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек опасно, поскольку может вызвать тканевое повреждение и привести к осложнениям основного заболевания [3–6]. Роль нейтрофилов при вирусном инфицировании имеет свои нюансы, и порог, при котором защитные функции уступают место механизмам повреждения, в том числе иммунопатологическим, еще недостаточно изучен.

В исследованиях последних лет установлено, что вирусы гриппа непосредственно способны индуцировать формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек в крови у здоровых доноров в экспериментах *in vitro* [7, 8]. В то же время выявлено, что формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек в форме нейтрофильных сетей, как реакция клеток врожденного иммунитета, способствующая естественному процессу борьбы с острой вирусной инфекцией, сопровождается выраженным противовирусным эффектом, который помогает контролировать системные уровни вируса [9]. Принято считать, что НЭЛ отсутствуют в организме здоровых людей и обнаруживаются только при воспалении. Нейтрофильные сети довольно подробно описаны, но их присутствие в организме людей без клинических проявлений заболевания неизвестно. Точных данных о наличии нейтрофильных сетей в периферической крови людей, находящихся в контакте с инфицированными индивидами, но не болеющими при этом, нет. Кроме того, механизмы, лежащие в основе формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек, все еще остаются неясными.

Неизвестны большинству исследователей различные варианты существующих морфологических форм нейтрофильных экстраклеточных ловушек, не изучена их функциональная активность. Один из подходов к выяснению этих вопросов заключается в определении численности нейтрофильных экстраклеточных ловушек, их морфологического строения и функциональной активности у не болеющих людей в период пандемии вируса гриппа и вне эпидемической обстановки.

Цель – выявление нейтрофильных экстраклеточных ловушек у неболеющих людей в период пандемии вируса гриппа H1N1 и вне этого периода, а также исследование их функциональной активности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены две группы волонтеров по 10 человек в каждой в возрасте 20–25 лет. Критерий включения – отсутствие острых заболеваний на момент исследования и указаний на хронические заболевания в анамнезе. Критерий исключения – острые инфекционные заболевания в течение 1 мес до дня исследования.

Волонтеры 1-й группы подвергались исследованию в мае – июне 2022 г. В этот период регистрировали самую спокойную эпидемическую обстановку по гриппу и COVID-19. Члены этой группы не имели контактов с людьми, болеющими острыми респираторными заболеваниями.

Волонтеры 2-й группы были исследованы в декабре 2022 г. В этот период регистрировали превышение эпидемического порога по гриппу H1N1 у детей и взрослых. Более того, волонтеры 2-й группы в течение 1 мес, предшествующего дню обследования, находились в постоянном контакте с больными гриппом H1N1, но сами при этом не заболели.

В исследование также были включены больные, находящиеся на лечении в ГКБ № 51 г. Москвы. Больные 1-й группы (12 человек) были госпитализированы с острым инфекционным воспалением в брюшной полости (острый аппендицит, острый холецистит, абсцесс). Больные 2-й группы (9 человек) имели диагноз «неспецифический язвенный колит».

Исследование проб крови проводили на кафедре патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России. Все процедуры выполнялись в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации ВМА (в редакции 2004 г.) и письменного информированного согласия пациентов. Исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 203 от 21.12.2021).

Определение содержания нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Получение клеточных фракций нейтрофилов. Для взятия проб крови волонтеров использовали вакутайнер с ЭДТА для предотвращения свертывания. Выделение нейтрофилов из венозной крови, обработанной ЭДТА, проводили с помощью градиентного центрифугирования. Для этого кровь разводили в 4 раза натрий-фосфатным буферным раствором (рН 7,4) и наслаивали на двойной градиент плотности фиколла-верографина. Плотность верхнего слоя градиента составляла 1,077 г/см³, нижнего – 1,190 г/см³. После центрифугирования (1 600 об/мин, 30 мин) на границе между градиентами возникало скопление нейтрофилов с чистотой 98–100%. Нейтрофилы дважды отмывали от примесей фиколла натрий-фосфатным буферным раствором (50 мМ, рН 7,4). Осаждение клеток крови проводили при центрифугировании (1 200 об/мин, 15 мин). Выделенные нейтрофилы в среде RPMI-1640 использовали в экспериментах по кратковременному культивированию. Жизнеспособность выделенных нейтрофилов составляла не менее 95% (тест с 0,1%-м раствором трипанового синего).

Иммунофлуоресцентное определение нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Для обнаружения и подсчета нейтрофильных экстраклеточных ловушек использовали флуоресцентную микроскопию [10]. Результаты выражали в процентах, в виде отношения количества экстраклеточных ловушек к общему числу клеток в поле зрения. Выявление нейтрофильных экстраклеточных ловушек осуществляли с использованием флуоресцентного красителя SYBR Green (Evrogen, Россия), специфично взаимодействующего с двухцепочечной ДНК. Микроскопирование, подсчет и фоторегистрацию клеток и экстраклеточных структур проводили при увеличении $\times 1\,000$.

Захват тестового микроорганизма. Определение функциональной активности внеклеточных структур (нейтрофильных сетей) проводили с помощью теста на захват микроорганизма *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603). Для этого к нейтрофилам, иммобилизованным на стекле, покрытым полилизинном, добавляли микробную культуру *Klebsiella pneumoniae* в среде RPMI-1640 в концентрации 10^3 /мкл. Нейтрофильные сети захватывали тестовый микроорганизм в соответствии с потенциальной функциональной активностью НЭЛ. После окрашивания (SYBR Green, 15 мин) и отмывания избытка красителя в ходе микроскопирования определяли количество клеток *Klebsiella pneumoniae*, связанное каждой экстраклеточной структурой.

Полученные результаты обрабатывали в программе Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). Сравнение количественных признаков проводили по ранговому *U*-критерию Манна – Уитни и данным дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при значениях $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании *in vitro* определяли количественные и качественные характеристики нейтрофильных экстраклеточных ловушек. Определяли их варианты морфологической структуры, численность, размеры, функциональную активность нейтрофильных сетей (в тесте с захватом микроорганизма *Klebsiella pneumoniae*).

Результаты исследования двух групп волонтеров, не имевших контактов с заболевшими (1-я группа) и контактировавших с больными людьми, но при этом не имеющих клинических признаков заболевания (2-я группа), приведены в таблице.

У здоровых волонтеров, не имевших контактов с больными людьми и обследованных вне периода пандемии (1-я группа), спонтанного формиро-

вания нейтрофильных экстраклеточных ловушек не возникало.

Т а б л и ц а

Результаты исследования нейтрофильных сетей неболеющих волонтеров, $M \pm m$			
Показатель	Параметры нейтрофильных сетей		
	Морфологическая структура НЭЛ	Количество НЭЛ, %	Размеры НЭЛ, мкм
Волонтеры, не имевшие контактов с больными, контроль, $n = 10$	–	0,00	0,00
Контактировавшие с больными и незаболевшие, $n = 10$	сети	$8,58 \pm 0,51^*$	$39,68 \pm 3,52^*$

* $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Нейтрофилы 1-й группы волонтеров были представлены в виде классических зрелых сегментоядерных гранулоцитов (рис. 1).

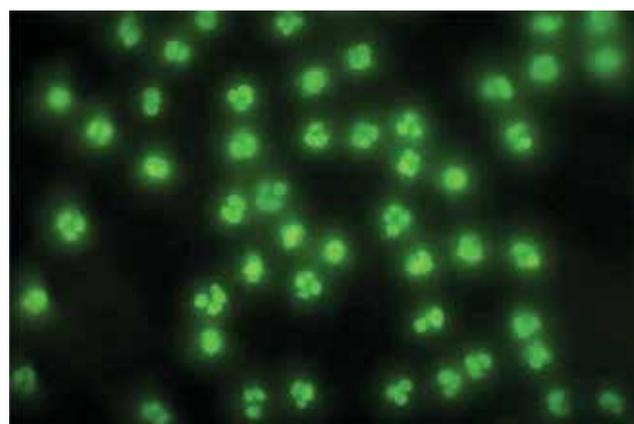


Рис. 1. Нейтрофилы здоровых людей, не имевших контактов с больными людьми: окрашивание SYBR Green, $\times 1\,000$

У неболеющих волонтеров, но имевших контакты с больными людьми (2-я группа), результаты оказались иные. Нейтрофилы этих неболеющих людей спонтанно формировали нейтрофильные сети (рис. 2, 3). Количество нейтрофильных экстраклеточных ловушек у них составляло $8,58 \pm 0,51\%$, а размеры НЭЛ соответствовали $39,68 \pm 3,52$ мкм. Нейтрофилы в этой группе испытуемых спонтанно, без всякой дополнительной стимуляции формировали нейтрофильные сети. Следовательно, участники этой группы волонтеров, имевшие контакты с больными пациентами, сами были инфицированы, а их нейтрофилы были предварительно активированы.

В следующей серии экспериментов определяли функциональную активность нейтрофильных сетей, обнаруженных у неболеющих волонтеров, но

имевших контакты с больными людьми (2-я группа), в тесте с захватом микроорганизма *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603).

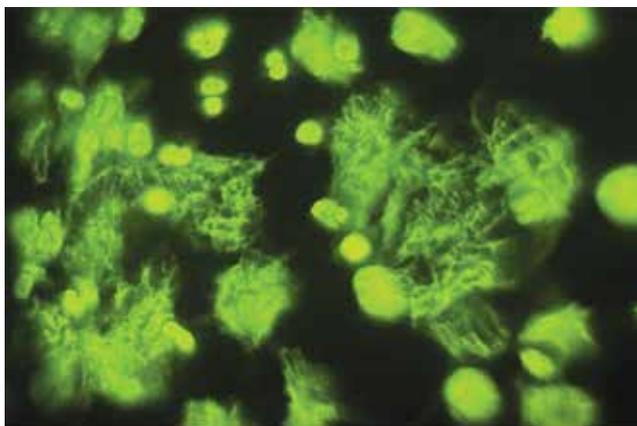


Рис. 2. Нейтрофильные сети неболевших людей (волонтер А.), находящихся в контакте с больными пациентами: время инкубации 1 ч, окрашивание SYBR Green, $\times 1\ 000$

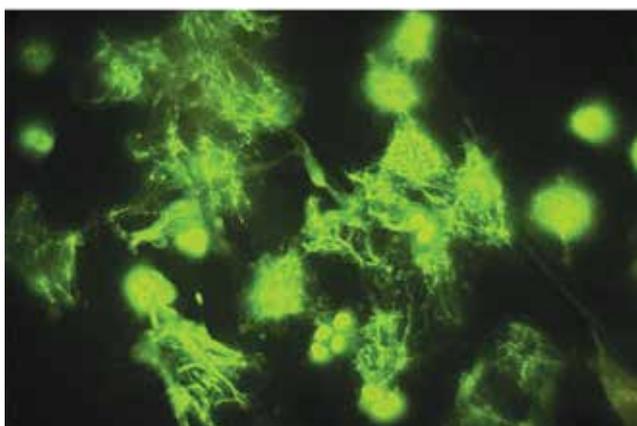


Рис. 3. Нейтрофильные сети неболевших людей (волонтер К.), находящихся в контакте с больными пациентами, время инкубации 1 ч, окрашивание SYBR Green, $\times 1\ 000$

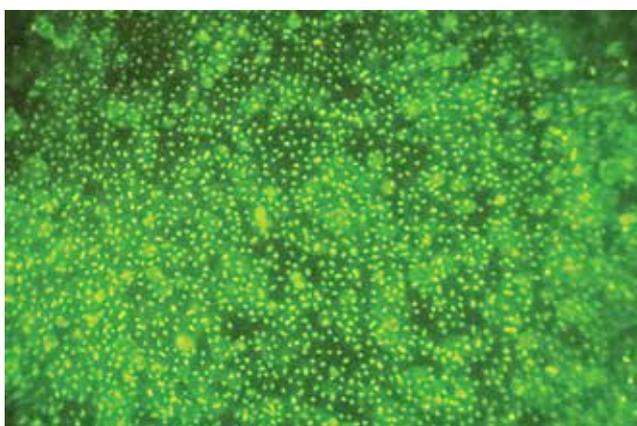


Рис. 4. Клетки *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), размещенные на стекле: окрашивание SYBR Green, $\times 1\ 000$

К клеткам тестового микроорганизма *Klebsiella pneumoniae*, размещенным на стекле (рис. 4), добавляли нейтрофилы неболевших волонтеров 2-й группы. Нейтрофилы этих волонтеров, обследованных в неблагоприятный эпидемиологический период, но не имевших клинических признаков заболевания, формировали нейтрофильные сети (см. рис. 2, 3) и захватывали клетки тестового микроорганизма. Мы наблюдали, что в ходе этого процесса развивается ретракция волокон сети и происходит преобразование сетевидной структуры в вуалеобразную. Причем размеры вторично образующихся нейтрофильных «вуалей» вместе с захваченными клетками *Klebsiella pneumoniae* становились в 2–3 раза меньше, чем размеры исходных нейтрофильных сетей (рис. 5). Наши наблюдения показывают, что захват клеток тестового микроорганизма был очень эффективным. Сплошной газон клеток *Klebsiella pneumoniae* практически полностью очищался от этого патогена, а все микроорганизмы были сосредоточены внутри вуалеобразных нейтрофильных структур (см. рис. 4). Каждая вуалеобразная структура, происходящая из нейтрофильной сети неболевших волонтеров, но имевших контакты с больными людьми, захватывает и удерживает $89,38 \pm 5,86$ клеток тестового микроорганизма *Klebsiella pneumoniae* (рис. 5).

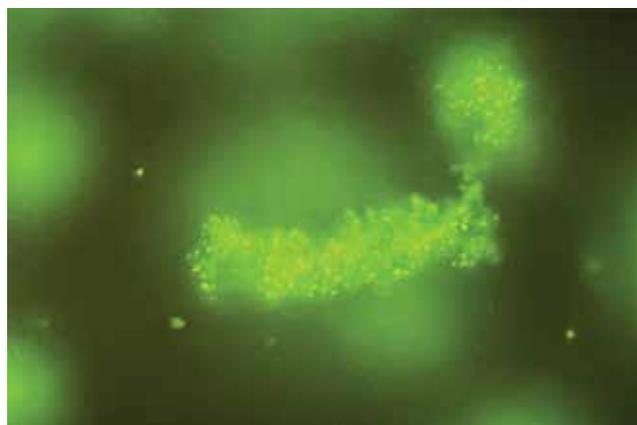


Рис. 5. Нейтрофильные сети эффективно захватывают и связывают клетки *Klebsiella pneumoniae* и превращаются в вуалеобразные структуры: время инкубации нейтрофильных сетей с клетками *Klebsiella pneumoniae* 2 ч, окрашивание SYBR Green, $\times 1\ 000$

Для сравнения: уровень функциональной активности нейтрофилов волонтеров, успешно преодолевающих вирусную инфекционную нагрузку, сопоставляли с результатами, полученными в тесте с захватом микроорганизма *Klebsiella pneumoniae*, у двух групп больных. Исследовали захват и связывание клеток тестового микроорганизма нейтрофильными сетями у больных с острым инфекционным

воспалением в брюшной полости (острый аппендицит, острый холецистит, абсцесс) и у больных с неспецифическим язвенным колитом.

Функциональная активность нейтрофильных сетей у больных с острыми воспалительными процессами в брюшной полости оказалась пониженной. Каждая нейтрофильная сеть у таких больных захватывает и связывает $20,2 \pm 1,67$ микробных тел. Наблюдалось снижение этой связывающей способности по сравнению с клинически здоровыми, не болеющими волонтерами, более чем в 4 раза (рис. 6).

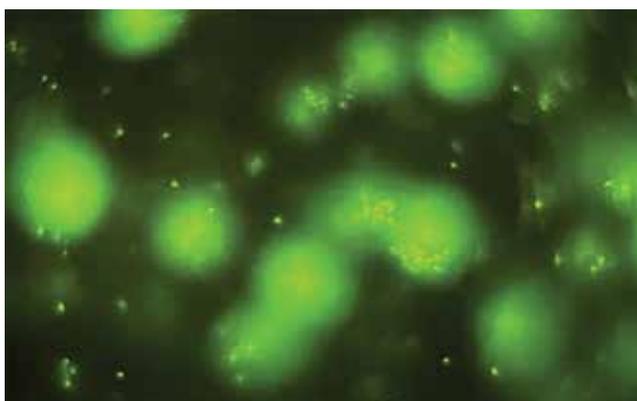


Рис. 6. Ослабление связывания патогена у больных с острыми воспалительными процессами брюшной полости. Нейтрофильные сети больных с воспалительными процессами в брюшной полости захватывают и связывают клетки *Klebsiella pneumoniae* и превращаются в вуалеобразные структуры: время инкубации нейтрофильных сетей с клетками *Klebsiella pneumoniae* 2 ч, окрашивание SYBR Green, $\times 1\ 000$

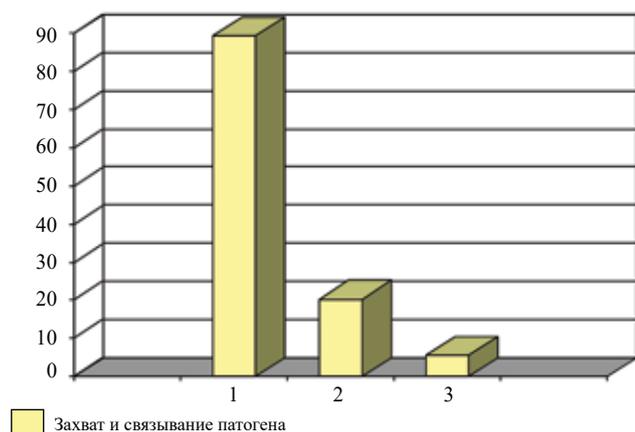


Рис. 7. Захват и связывание патогена *Klebsiella pneumoniae* нейтрофильными сетями у неболевших людей и у больных с различными воспалительными заболеваниями: по оси ОУ – количество микробных тел, захваченных одной нейтрофильной структурой, по оси ОХ – не болеющие волонтеры, имевшие контакты с больными людьми (1); больные с острым инфекционным воспалением в брюшной полости (2); больные неспецифическим язвенным колитом (3)

Исследование захвата и связывания патогена нейтрофильными сетями больных неспецифическим язвенным колитом выявило очень слабую функциональную способность нейтрофильных сетей у данной группы больных. Количество захваченных микроорганизмов *Klebsiella pneumoniae* нейтрофильными сетями больных язвенным колитом составляло всего $5,53 \pm 0,34$ микробных тел.

Таким образом, результаты сравнительного исследования связывания клеток тестового микроорганизма *Klebsiella pneumoniae* (рис. 7) показывают, что наиболее высокой связывающей способностью обладают нейтрофильные сети неболевших волонтеров, имевшие контакты с больными людьми. Высокая связывающая способность нейтрофильных сетей этих людей, по-видимому, является фактором эффективной защиты их от развития инфекционного заболевания с манифестацией клинических симптомов.

Нейтрофильные сети больных с острым инфекционным воспалением (аппендицит, холецистит, абсцесс) обладают пониженной способностью к захвату и связыванию патогенов, но эта их способность сохраняется на довольно высоком уровне. Преобразование нейтрофильных сетей этих больных в вуалеобразные структуры сопровождается ослаблением их связывающей способности по отношению к клеткам тестового микроорганизма.

Наиболее низкой способностью связывания клеток патогена обладают нейтрофильные сети больных с неспецифическим язвенным колитом. Ослабление захвата и связывания тестового микроорганизма у больных с этим хроническим аутоиммунным заболеванием свидетельствует о пониженной функциональной активности нейтрофильных сетей и, видимо, лежит в основе коморбидности больных с неспецифическим язвенным колитом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получение детальной информации о морфологических вариантах нейтрофильных экстраклеточных ловушек опирается на адекватный метод их визуализации, описанный нами прежде [10]. Результаты проведенного исследования *in vitro* демонстрируют строение нейтрофильных экстраклеточных ловушек, изменение их морфологии в ходе реакции нейтрофилов на патоген, что указывает на ведущую роль этих клеток врожденного иммунитета в противомикробной защите организма.

Полученные результаты показывают, что группа неболевших волонтеров, находящихся в контакте с больными людьми, защищена от инфекции благодаря эффективной работе нейтрофильного звена врожденного иммунитета. Нейтрофилы этих людей

уже были предварительно активированы, поскольку способны спонтанно формировать нейтрофильные сети. Сетевидные структуры весьма эффективно захватывают клетки патогена, развивают ретракцию волокон и превращаются в ходе этого процесса в компактные вуалеобразные структуры. Затем эти образования закономерно подвергаются фагоцитозу, развиваются процессы внутриклеточного гидролиза и происходит презентация антигенов. С этого момента начинается включение реакций адаптивного иммунитета.

У больных с острым инфекционным воспалением (аппендицит, холецистит, абсцесс) в эксперименте подтверждено ослабление захвата и связывания нейтрофильными сетями клеток тестового микроорганизма, что в клинических условиях может повысить риск развития осложнений основного заболевания. Резко ослаблена функциональная активность нейтрофильных сетей у больных с неспецифическим язвенным колитом, что объясняет повышенную чувствительность к инфекции и высокую коморбидность этих больных.

Результаты проведенного исследования показывают, что противоинфекционная защита организма с участием клеток врожденного иммунитета состоит в эффективном захвате и связывании патогена. Ослабление связывания клеток микроорганизма нейтрофильными сетями несет потенциальный риск развития осложнений.

Авторы обращают внимание на то, что это первое исследование, посвященное изучению функциональной активности нейтрофильных сетей в организме человека.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Raftery M.J., Lalwani P., Krautkrämer E., Peters T., Scharffetter-Kochanek K., Krüger R. et al. $\beta 2$ integrin mediates hantavirus-induced release of neutrophil extracellular traps. *J. Exp. Med.* 2014;211(7):1485–1497. DOI: 10.1084/jem.20131092.
2. Saitoh T., Komano J., Saitoh Y., Misawa T., Takahama M., Kozaki T. et al. Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. *Cell. Host. Microb.* 2012;12(1):109–116. DOI: 10.1016/j.chom.2012.05.015.
3. Jenne C.N., Kubes P. Virus-induced NETs-critical component of host defense or pathogenic mediator? *PLoS Pathog.* 2015;11(1):e1004546. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004546.
4. Veras F.P., Gomes G.F., Silva B.M.S., Caetité D.B., Almeida C.J.L.R., Silva C.M.S. et al. Targeting neutrophils extracellular traps (NETs) reduces multiple organ injury in a COVID-19 mouse model. *Respir. Res.* 2023;24(1):66. DOI: 10.1186/s12931-023-02336-2.
5. Narasaraju T., Yang E., Samy R.P., Ng H.H., Poh W.P., Liew A.A. et al. Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonia. *Am. J. Pathol.* 2011;179(1):199–210. DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.03.013.
6. Liuluan Z., Lu L., Yue Z., Lin P., Jingyuan L., Xingwang L. et al. High level of neutrophil extracellular traps correlates with poor prognosis of severe influenza a infection. *The Journal of Infectious Disease.* 2018;217(3):428–437. DOI: 10.1093/infdis/jix475.
7. Chan L.L.Y., Nicholls J.M., Peiris J.S.M., Lau Y.L., Chan M.C.W., Chan R.W.Y. Host DNA released by NETosis in neutrophils exposed to seasonal H1N1 and highly pathogenic H5N1 influenza viruses. *Respir. Res.* 2020;21(1):160. DOI: 10.1186/s12931-020-01425-w.
8. George S.T., Lai J., Ma J., Stacey H.D., Miller M.S., Mullarkey C.E. Neutrophils and influenza: a thin line between helpful and harmful. *Vaccines.* 2021;9(6):597. DOI: 10.3390/vaccines9060597.
9. Hiroki C.H., Toller-Kawahisa J.E., Fumagalli M.J., Colon D.F., Figueiredo L.T.M., Fonseca B.A.L.D. et al. Neutrophil extracellular traps effectively control acute chikungunya virus infection. *Front. Immunol.* 2020; 10:3108. DOI: 10.3389/fimmu.2019.03108.
10. 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.

Вклад авторов

Казимирский А.Н. – экспериментальные исследования, подготовка иллюстративного материала, написание текста. Салмаси Ж.М. – редактирование. Порядин Г.В., Ступин В.А. – концепция и дизайн исследования. Панина М.И. – редактирование, статистическая обработка материала. Ким А.Э. – экспериментальные исследования. Титова Е.Г. – экспериментальные исследования, сбор и обработка материала. Рогожина Л.С. – сбор и обработка материала.

Информация об авторах

Казимирский Александр Николаевич – д-р биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, отдел молекулярных технологий, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, alnica10@mail.ru, 0000-0002-3079-4089

Салмаси Жеан Мустафаевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, profjms@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8524-0019>

Порядин Геннадий Васильевич – д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, poryadin_GV@rsmu.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2010-3296>

Панина Марина Ивановна – д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, pan-mar@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7651-0037>.

Ступин Виктор Александрович – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной хирургии № 1, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, stvictor@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9522-8061>

Ким Анна Эрнестовна – ассистент, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, infoanu@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8119-772X>

Титова Екатерина Геннадиевна – ст. преподаватель, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, Eka-gen@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1655-322X>

Рогожина Людмила Сергеевна – ассистент, кафедра госпитальной хирургии № 1, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва, lusy-090909@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3983-7890>

(✉) **Казимирский Александр Николаевич**, alnica10@mail.ru

Поступила в редакцию 14.06.2023;
одобрена после рецензирования 24.07.2023;
принята к публикации 14.09.2023