

УДК 616-022.854.2:616.155.34
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-2-32-37>

Обострение поллиноза сопровождается спонтанным формированием нейтрофильных экстраклеточных ловушек в морфологической форме нейтрофильных сетей

Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ким А.Э., Ким Т.Э., Турищева О.О.

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

РЕЗЮМЕ

Цель. Исследование морфологической структуры и функциональной активности нейтрофильных экстраклеточных ловушек у больных сезонным аллергическим ринитом в период обострения заболевания.

Материалы и методы. В исследование включены 12 больных с поллинозом в период обострения заболевания. Исследовали морфологическую структуру и функциональную активность нейтрофильных экстраклеточных ловушек (НЭЛ) у больных поллинозом. Для визуализации НЭЛ использовали флуоресцентную микроскопию с красителем SYBR Green.

Результаты. Исследование нейтрофилов больных в период обострения заболевания показало спонтанное формирование НЭЛ в морфологической форме нейтрофильных сетей. Количество НЭЛ в течение 1 ч инкубации составляет 10 [8,3–14]%, а их размеры – 28 [17,5–35] мкм. Культивирование нейтрофилов аллергических пациентов в течение 2 ч не увеличивает численность НЭЛ, размеры НЭЛ увеличиваются в 2 раза, при этом происходит формирование 10% НЭЛ в форме одиночных нитей и волокон. Нейтрофильные сети имеют высокую функциональную активность.

Заключение. Результаты свидетельствуют, что при обострении поллиноза наблюдается образование НЭЛ, подобное развивающемуся при инфекционном воспалении, сочетающееся с высокой функциональной активностью нейтрофильных сетей.

Ключевые слова: поллиноз, сезонный аллергический ринит, период обострения заболевания, нейтрофильные экстраклеточные ловушки, нейтрофильные сети, аллергия

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

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

Соответствие принципам этики. Все лица подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 239 от 15.04.2024).

Для цитирования: Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ким А.Э., Ким Т.Э., Турищева О.О. Обострение поллиноза сопровождается спонтанным формированием нейтрофильных экстраклеточных ловушек в морфологической форме нейтрофильных сетей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2026;25(2):32–37. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-2-32-37>.

Spontaneous neutrophil extracellular trap formation during pollinosis exacerbation

Kazimirsky A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Kim A.E., Kim T.E., Turishcheva O.O.

Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov University)

1 Ostrovityanov St., 117997 Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the morphological structure and functional activity of neutrophil extracellular traps in patients with seasonal allergic rhinitis during the exacerbation period.

Materials and methods. The study included 12 patients with seasonal allergic rhinitis during the exacerbation period. We studied the morphological structure and functional activity of neutrophil extracellular traps (NET) in pollinosis patients. Fluorescence microscopy with SYBR Green dye was used to visualize NETs.

Results. The study of neutrophils from allergic patients during the exacerbation period showed spontaneous NETs formation in the morphological form of neutrophil networks. The number of NETs during 1 hour of incubation is 10 [8.3–14]%, and their size is 28 [17.5–35] μm . Culturing neutrophils from allergic patients for 2 hours does not increase the number of NETs, but the size of NETs doubles, and 10% of NETs form as single threads and fibers. Neutrophil networks have a high functional activity.

Conclusion. The results specify that during the exacerbation of seasonal allergic rhinitis, there is an NET formation similar to that observed during infectious inflammation, which is combined with high functional activity of neutrophil networks.

Keywords: pollinosis, seasonal allergic rhinitis, exacerbation period, neutrophil extracellular traps, neutrophil networks, allergy

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 declare no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All individuals signed a written consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee of Pirogov Russian National Research Medical University (Minutes No. 239 of April 15, 2024).

For citation: Kazimirsky A.N., Salmasi J.M., Poryadin G.V., Panina M.I., Kim A.E., Kim T.E., Turishcheva O.O. Spontaneous neutrophil extracellular trap formation during pollinosis exacerbation. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2026;25(2):32–37. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-2-32-37>.

ВВЕДЕНИЕ

Благодаря стремительному развитию иммунологии для лечения аллергических заболеваний, разработано множество новых биологических препаратов, в том числе анти-иммуноглобулин Е (анти-IgE), анти-интерлейкин-5 (анти-IL-5) и антитимический стромальный лимфопоэтин (анти-TSLP/IL-4), но инициация аллергического (атопического) процесса все еще остается неясной [1]. Нарушение работы иммунной системы при аллергических (атопических) заболеваниях ассоциировано с изменениями в функционировании защитных систем организма.

Один из возможных механизмов связан с нарушением защитных функций нейтрофилов как участ-

ников системы врожденного иммунитета. Указание именно на эту патогенетическую связь было получено при обследовании больных, страдающих поллинозом (хроническим аллергическим ринитом) [2], где было продемонстрировано, что у нейтрофилов этих больных нарушена адгезия к пластику, снижены хемотаксис и бактерицидная активность. Зафиксирован повышенный уровень нейтрофилов в биоптатах слизистой оболочки носа у пациентов с аллергией в сезон цветения по сравнению со здоровыми людьми. Исследования показали, что нейтрофилы больных сезонным аллергическим ринитом частично активированы [3] и способны, в свою очередь, активировать Т-клетки и усиливать миграцию эозинофилов.

У исследователей в последнее время постепенно возникает понимание того, что для разработки эффективных стратегий лечения, учитывающих сложное взаимодействие между клетками иммунной системой и патогенами, необходимо углубленное изучение механизмов формирования нейтрофильных экстраклеточных ловушек (НЭЛ, NETs) при аллергических (атопических) заболеваниях. Можно обоснованно предполагать, что нейтрофильные экстраклеточные ловушки могут служить потенциальными биомаркерами и терапевтическими мишенями.

Цель – исследование морфологической структуры и функциональной активности нейтрофильных экстраклеточных ловушек у больных сезонным аллергическим ринитом в период обострения заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 12 больных с поллинозом в период обострения заболевания. Критерий включения – отсутствие других острых заболеваний на момент исследования и указаний на другие хронические заболевания в анамнезе. Критерий исключения – острые инфекционные заболевания в течение месяца до дня исследования.

Исследование проб крови проводили на кафедре патофизиологии и клинической патофизиологии Института биологии и патологии человека РНИМУ им. Н.И. Пирогова. 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 № 239 от 15.04.2024).

Выделение нейтрофилов из венозной крови больных, обработанной ЭДТА, проводили, как описано нами прежде [4]. Иммунофлуоресцентное исследование нейтрофильных экстраклеточных ловушек для определения их морфологического строения, а также изучение функциональной активности нейтрофильных внеклеточных структур с использованием культуры клеток патогена *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) проводили по методу [5].

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакетов программ Statistica 12.0 (StatSoft, США). Описательная статистика представлена в виде непрерывных количественных данных: при нормальном распределении в виде среднего значения (M) $\pm$ стандартной ошибки (m), при распределении, отличающемся от нормального, – в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_1-Q_3]$. Сравнение количественных признаков проводили по ранговому U -критерию Манна – Уитни. Различия

считали статистически значимыми при значениях двустороннего $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование нейтрофилов больных аллергическим ринитом в период обострения заболевания показало спонтанное формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек в морфологической форме нейтрофильных сетей.

Количество нейтрофильных сетей в течение 1 ч инкубации составляет 10 [8,3–14]%, а их размеры – 28 [17,5–35] мкм. Культивирование нейтрофилов аллергических пациентов в течение 2 ч не увеличивает численность НЭЛ, но размеры нейтрофильных экстраклеточных ловушек при этом увеличиваются почти в 2 раза (табл. 1).

Таблица 1

Параметры НЭЛ у больных с сезонным аллергическим ринитом ($n = 12$) в период обострения заболевания, $Me [Q_1-Q_3]$		
Количество НЭЛ, %	Размеры НЭЛ, мкм	Структура НЭЛ
Спонтанное формирование экстраклеточных структур (1 ч инкубации)		
10 [8,3–14]	28 [17,5–35]	сети
Спонтанное формирование экстраклеточных структур (2 ч инкубации)		
11,1 [8,3–21]	52,5 [35–70]*	сети, одиночные нити, волокна

* $p < 0,05$ по сравнению с инкубацией клеток в течение 1 ч.

Особенность формирования НЭЛ у больных с сезонным аллергическим ринитом в период обострения заболевания состоит в том, что при более продолжительном культивировании нейтрофилов (в течение 2 ч) помимо нейтрофильных сетей обнаруживаются одиночные нити и волокна. Количество этих аномальных структур невелико и не превышает 10% от общего количества нейтрофильных сетей.

Формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек в морфологической форме нейтрофильных сетей (рис. 1) в сочетании с одиночными нитями и волокнами подтверждает, что нейтрофилы аллергических пациентов уже предварительно активированы [3].

Эти две морфологические структуры (нейтрофильные сети и одиночные нити) могут свидетельствовать о двух формах активации нейтрофилов в период обострения заболевания и могут быть обусловлены двумя различными процессами. Формирование нейтрофильных сетей у больных сезонным аллергическим ринитом в период обострения заболевания может быть индуцировано как контактными

взаимодействиями с патогенами [5], так и действием IL-8, способного индуцировать продукцию свободных радикалов и образование внеклеточных ловушек [6].

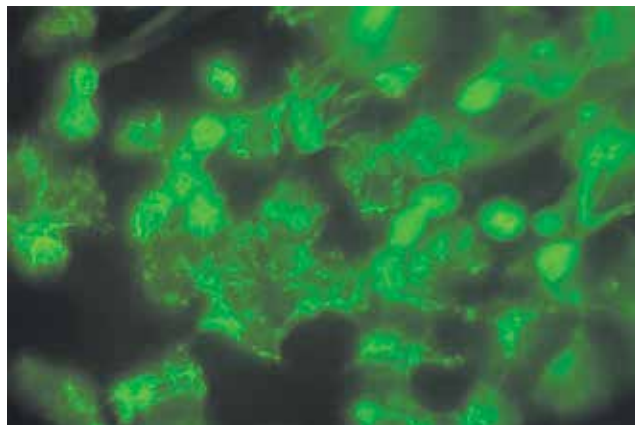


Рис. 1. Нейтрофильные сети у больных сезонным аллергическим ринитом в период обострения заболевания. Здесь и на рис. 2 время инкубации 1 ч. Окрашивание SYBR Green. $\times 1\,000$

При тяжелых инфекционных осложнениях/сепсисе было обнаружено, что концентрация IL-8 в плазме крови больных тесно связана с образованием НЭЛ, а ингибирование IL-8 с помощью моноклональных антител значительно ослабляет формирование нейтрофильных ловушек [7]. Эпителиальные клетки, стимулированные экстрактами пыльцы, выделяют IL-8, а также ряд провоспалительных цитокинов, в том числе IL-1, IL-6, и фактор некроза опухоли альфа [8]. Секреция проаллергических аларминов (стромального лимфопоэтина тимуса TSLP, IL-33, IL-25) способствует иммунному ответу с преобладанием Th2 и развитию сенсибилизации.

В связи с этим формирование нейтрофильных сетей у обследованных нами больных, вполне вероятно, обусловлено действием IL-8. Вместе с тем, как было показано нами ранее, формирование нейтрофильных сетей – проявление готовности организма к развитию защитных противоинфекционных реакций [5]. Выявление нейтрофильных экстраклеточных ловушек в морфологической форме одиночных нитей может быть интерпретировано как реакция нейтрофилов на контактные взаимодействия с поврежденным эндотелием сосудов [9].

Доминирующей нейтрофильной экстраклеточной структурой, обнаруженной у больных с сезонным аллергическим ринитом в период обострения заболевания, являются нейтрофильные сети. Исследование функциональной активности этих нейтрофильных структур показало, что, несмотря на относительно небольшие размеры нейтрофильных

сетей – 52,5 [35–70] мкм, при инкубации в течение 2 ч способность к захвату и связыванию клеток патогена *Klebsiella pneumoniae* у этих экстраклеточных структур довольно высокая (табл. 2).

Таблица 2

Функциональная активность нейтрофильных сетей, одиночных нитей и волокон у больных с сезонным аллергическим ринитом ($n = 12$) в период обострения заболевания при инкубации в течение 2 ч, $Me [Q_1-Q_3]$

Структура НЭЛ	Размеры НЭЛ, мкм	Конверсия НЭЛ после взаимодействия с патогеном	Захват клеток патогена <i>Klebsiella pneumoniae</i>
Нейтрофильные сети	52,5 [35–70]	нейтрофильные вуали	50 [40–60]
Одиночные нити, волокна	130 [112,5–157,5]	одиночные нити, волокна	0,00

Каждая нейтрофильная сеть связывает 50 [40–60] клеток патогена. При этом строение нейтрофильной сети изменяется: она испытывает морфофункциональную трансформацию, т.е. преобразуется в вуалеобразную структуру (рис. 2).

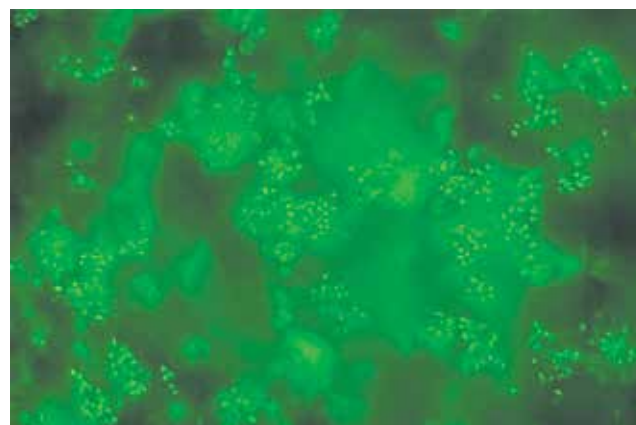


Рис. 2. Нейтрофильные сети больных сезонным аллергическим ринитом в период обострения захватывают и связывают клетки патогена *Klebsiella pneumoniae*

Такая морфофункциональная трансформация нейтрофильных сетей при контактных взаимодействиях с патогеном была описана нами прежде у больных с инфекционным воспалением в абдоминальной области [10].

Необходимо отметить, что в процессе активации нейтрофилов здоровых людей каждая нейтрофильная сеть способна захватывать и удерживать в среднем 80 [60–100] клеток *Klebsiella pneumoniae*. У больных с воспалительными заболеваниями брюшной полости (аппендицит, холецистит, панкреатит) в послеоперационном периоде функциональная активность НЭЛ ослаблена по сравнению со здоровыми

донорами в несколько раз. Нейтрофильные внеклеточные структуры у этих больных захватывают и связывают в среднем не более 20 клеток тестового микроорганизма, причем часть клеток инфекционного патогена остается несвязанной внеклеточными нейтрофильными структурами, что создает вероятность развития послеоперационного инфекционного осложнения у этих больных [9]. Функциональная активность спонтанных нейтрофильных сетей больных с сезонным аллергическим ринитом в период обострения заболевания в 1,6 раза ниже, чем активность индуцированных НЭЛ у здоровых доноров, но в 2,5 раза превышает этот же параметр у больных с воспалительными заболеваниями брюшной полости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования морфологической структуры и функциональной активности нейтрофильных экстраклеточных ловушек у больных поллинозом (сезонным аллергическим ринитом) в период обострения заболевания свидетельствуют, что при обострении поллиноза наблюдается образование НЭЛ, аналогичное тому, которое развивается при инфекционном воспалении, сочетающееся при этом с относительно высокой функциональной активностью нейтрофильных сетей.

Проведенное исследование позволяет предположить, что формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек в морфологической форме нейтрофильных сетей представляет собой универсальную реакцию нейтрофилов на патогены.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Wang J., Zhou Y., Zhang H., Hu L., Liu J., Wang L. et al. Pathogenesis of allergic diseases and implications for therapeutic interventions. *Sig. Transduct. Target Ther.* 2023;8(1):138. DOI: 10.1038/s41392-023-01344-4.
2. Lianou P., Fortis A., Papadopoulos N., Trakas N. Defective neutrophil function in patients with perennial allergic rhi-

- nitis. *Allergology International*. 2001;50(1):15–20. DOI: 10.1046/j.1440-1592.2001.00196.x.
3. Arebro J., Ekstedt S., Hjalmarsson E., Winqvist O., Kumlien Georén S. et al. A possible role for neutrophils in allergic rhinitis revealed after cellular subclassification. *Sci. Rep.* 2017;7:43568. DOI: 10.1038/srep43568.
4. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ким А.Э., Чахалян А.Г., Турищева О.О. ДНК-содержащие экстраклеточные структуры опухолевых клеток подавляют формирование нейтрофильных экстраклеточных ловушек *in vitro*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2025;24(2):36–43.
5. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ступин В.А., Ким А.Э. и др. Противомикробная защита организма человека с участием нейтрофильных сетей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(1):56–63. DOI: 10.20538/1682-0363-2024-1-56-63
6. Keshari R.S., Jyoti A., Dubey M., Kothari N., Kohli M., Bogra J. et al. Cytokines induced neutrophil extracellular traps formation: implication for the inflammatory disease condition. *PloS One*. 2012;7(10):e48111. DOI: 10.1371/journal.pone.0048111.
7. Abrams S.T., Morton B., Alhamdi Y., Alsabani M., Lane S., Welters I.D. et al. A novel assay for neutrophil extracellular trap formation independently predicts disseminated intravascular coagulation and mortality in critically ill patients. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2019;200(7):869–880. DOI: 10.1164/rccm.201811-2111OC.
8. Hosoki K., Brasier A.R., Kurosky A., Boldogh I., Sur S. Reply: protease plays a role in ragweed pollen-induced neutrophil recruitment and epithelial barrier disruption. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2017;56(2):272–273. DOI: 10.1165/rcmb.2016-0281LE.
9. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ким А.Э., Рогожина Л.С. Нейтрофильные экстраклеточные ловушки как маркеры инфекционного и асептического воспаления. *Инфекция и иммунитет*. 2024;14(3):505–510. DOI: 10.15789/2220-7619-NET-16602.
10. Казимирский А.Н., Салмаси Ж.М., Порядин Г.В., Панина М.И., Ким А.Э., Рогожина Л.С. Трансформация нейтрофильных сетей под влиянием патогенов и иммуноглобулинов класса G. *Бюллетень сибирской медицины*. 2024;23(4):22–30. DOI: 10.20538/1682-0363-2024-4-22-30.

Вклад авторов

Порядин Г.В., Салмаси Ж.М. – концепция и дизайн исследования. Казимирский А.Н., Ким А.Э., Ким Т.Э. – экспериментальные исследования. Казимирский А.Н., Турищева О.О. – подготовка иллюстративного материала. Панина М.И. – статистическая обработка материала. Казимирский А.Н. – написание текста статьи. Панина М.И., Салмаси Ж.М. – редактирование рукописи. Вклад авторов – равнозначный.

Информация об авторах

Казимирский Александр Николаевич – д-р биол. наук, доцент, профессор кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии, Институт биологии и патологии человека, вед. науч. сотрудник, отдел молекулярных технологий, НИИ трансляционной медицины, РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Пироговский университет), г. Москва, alnica10@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3079-4089>

Салмаси Жеан Мустафаевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии и клинической патофизиологии, Институт биологии и патологии человека, РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Пироговский университет), г. Москва, profjms@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8524-0019>

Порядин Геннадий Васильевич – член-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии, Институт биологии и патологии человека, РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Пироговский университет), г. Москва, poryadin_GV@rsmu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2010-3296>

Панина Марина Ивановна – д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры патофизиологии и клинической патофизиологии, Институт биологии и патологии человека, РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Пироговский университет), г. Москва, pan-mar@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7651-0037>

Ким Анна Эрнестовна – ст. преподаватель, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, Институт биологии и патологии человека, РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Пироговский университет), г. Москва, infoany@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8119-772X>

Ким Татьяна Эрнестовна – ассистент, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, Институт биологии и патологии человека, РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Пироговский университет), г. Москва, kimtany@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0000-0677-9076>

Турищева Ольга Олеговна – канд. мед. наук, доцент, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии, Институт биологии и патологии человека, РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Пироговский университет), г. Москва, turishevaolia@mail.ru, 0009-0009-6000-9131

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

Поступила в редакцию 22.12.2025;
одобрена после рецензирования 13.01.2026;
принята к публикации 22.01.2026