

# Феномен НЕТоза как функциональная особенность нейтрофилов периферической крови и его возможная роль в патогенезе инфекционных и онкологических заболеваний

А.Е. Глухарева<sup>✉1</sup>, Г.В. Афонин<sup>1</sup>, А.А. Мельникова<sup>1</sup>, Л.Ю. Гривцова<sup>1</sup>, И.В. Колобаев<sup>1</sup>, С.А. Иванов<sup>1</sup>, А.Д. Каприн<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия;

<sup>3</sup>ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия

## Аннотация

В обзоре рассматривается особый механизм противомикробной защиты нейтрофилов – НЕТоз, заключающийся в формировании нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ), представляющих собой нити ДНК, гистоны и белки. Описывается роль НВЛ в аутоиммунных заболеваниях, COVID-19, а также в патогенезе других неинфекционных заболеваний. На основании данных литературы проанализированы роль НВЛ в развитии и течении онкологических заболеваний и значимость данного феномена в отношении метастазирования и прогрессии опухолевого процесса. Охарактеризованы два типа нейтрофилов: нейтрофилы низкой плотности и нейтрофилы высокой плотности. Детальное изучение данного вопроса будет полезным как с фундаментальных позиций в первую очередь для детализации механизмов метастатического каскада опухолей, так и с практической точки зрения для разработки новых иммунотерапевтических подходов в отношении метастатических опухолей.

**Ключевые слова:** нейтрофильные внеклеточные ловушки, нейтрофилы низкой и высокой плотности, онкологические заболевания, НЕТоз, COVID-19, заболевания легких

**Для цитирования:** Глухарева А.Е., Афонин Г.В., Мельникова А.А., Гривцова Л.Ю., Колобаев И.В., Иванов С.А., Каприн А.Д. Феномен НЕТоза как функциональная особенность нейтрофилов периферической крови и его возможная роль в патогенезе инфекционных и онкологических заболеваний. Современная Онкология. 2022;24(4):487–493. DOI: 10.26442/18151434.2022.4.201786

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2022 г.

## REVIEW

# The NETosis phenomena as a functional features of peripheral blood neutrophils and its role in the pathogenesis of infections and oncological diseases: A review

Anastasia E. Glukhareva<sup>✉1</sup>, Grigory V. Afonin<sup>1</sup>, Angelika A. Melnikova<sup>1</sup>, Lyudmila Yu. Grivtsova<sup>1</sup>, Ilya V. Kolobaev<sup>1</sup>, Sergei A. Ivanov<sup>1</sup>, Andrei D. Kaprin<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Center, Obninsk, Russia;

<sup>2</sup>National Medical Research Radiological Center, Obninsk, Russia;

<sup>3</sup>People's Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia

## Abstract

The review is devoted to the analysis of the mechanism of NETosis and the formation of extracellular traps by neutrophils. Neutrophil traps are DNA strands, histones and proteins that are involved in autoimmune diseases, COVID-19, as well as in the pathogenesis of other non-communicable diseases. Based on the literature data, the role of NETosis in the development oncological diseases is analyzed. Two types of neutrophils have been characterized: low-density neutrophils and high-density neutrophils. In particular, the significance of this phenomenon in the progression and metastasis of the cancer. A detailed study of this issue will be useful both from a fundamental standpoint regarding the disclosure of the mechanisms of the metastatic cascade, and from a practical point of view for the development of new immunotherapeutic approaches in the treatment of metastatic tumors.

**Keywords:** neutrophil extracellular traps, low and high density neutrophils, oncological diseases, NETosis, COVID-19, lung diseases

**For citation:** Glukhareva AE, Afonin GV, Melnikova AA, Grivtsova LY, Kolobaev IV, Ivanov SA, Kaprin AD. The NETosis phenomena as a functional features of peripheral blood neutrophils and its role in the pathogenesis of infections and oncological diseases: A review. Journal of Modern Oncology. 2022;24(4):487–493. DOI: 10.26442/18151434.2022.4.201786

## Информация об авторах / Information about the authors

✉ Глухарева Анастасия Евгеньевна – клин. ординатор, лаборант исследователь МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии». E-mail: gluharevaa78@gmail.com; ORCID: 0000-0002-4122-1569; SPIN-код: 6093-0578

✉ Anastasia E. Glukhareva – Clinical Resident, Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Center. E-mail: gluharevaa78@gmail.com; ORCID: 0000-0002-4122-1569; SPIN code: 6093-0578

## Введение

Нейтрофильные лейкоциты – самая многочисленная популяция лейкоцитов, именно они являются одним из первых клеточных барьеров, который препятствует проникновению и распространению инфекции в организме. Эти клетки терминально дифференцированы, у них короткая продолжительность жизни и низкий уровень экспрессии генов. Попадая в кровеносное русло, они уже имеют весь необходимый для уничтожения микроорганизмов набор белков. В случае возникновения инфекции нейтрофилы под влиянием сигнальных цитокинов направляются в инфицированные ткани, где сталкиваются с вторгшимися микробами. Это столкновение приводит к активации нейтрофилов и поглощению патогена фагосомой. В фагосоме для антимикробной активности требуются два события. Во-первых, предварительно синтезированные субъединицы NADPH-оксидазы собираются на фагосомальной мембране и передают электроны кислороду с образованием супероксидных анионов. Они самопроизвольно или каталитически дисмутируют с образованием диоксида углерода и перекиси водорода. В совокупности супероксидные анионы, диоксид углерода и перекись водорода называются активными формами кислорода (АФК). Во-вторых, гранулы нейтрофилов сливаются с фагосомой, выделяя антимикробные пептиды и ферменты. В фагосоме микроорганизмы подвергаются воздействию высоких концентраций АФК и цитотоксических гранул. Вместе они ответственны за уничтожение микробов. Гуморальные неспецифические факторы защиты, продуцируемые нейтрофильными лейкоцитами (комplement, лизоцим, интерферон, миелопероксидаза, катионные белки), обладают мощным антимикробным действием. Классической антибактериальной функцией нейтрофилов считаются фагоцитоз и внутриклеточный киллинг микроорганизмов [1].

Важным механизмом противоинфекционной защиты нейтрофилов является НЕТоз – формирование так называемых нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ), феномена, обозначаемого в англоязычной литературе как Neutrophil extracellular traps (NETs).

Впервые новый механизм антимикробного действия нейтрофилов, представляющий собой формирование во внеклеточном пространстве сетевидных структур из нитей ДНК, связанных с антимикробными белками, гистонами и цитотоксическими гранулами, описан относительно недавно, в 2004 г., и продемонстрирован в проведенных исследованиях [2]. Достаточно поздний факт открытия этого феномена объясняется малыми размерами НВЛ, нестабиль-

ностью, хрупкостью ловушек; трудностью их детекции; практически полным их отсутствием в периферической крови у здоровых людей. НВЛ обеспечивают высокую локальную концентрацию противомикробных молекул, которые эффективно убивают широкий спектр микробов (грамположительные и грамотрицательные бактерии, грибы) и обеспечивают важнейший врожденный защитный иммунный механизм. Описывается роль НВЛ при различных патологических процессах. Значительное количество НВЛ выявляется в местах воспаления, как это продемонстрировано при аппендиците человека и в экспериментальной модели шигеллеза. Показано, что сетки имеют значение *in vivo* при преэклампсии у человека и стрептококковых инфекциях, вызывающих некротизирующий фасциит и пневмококковую пневмонию.

И хотя данный феномен обнаружен более 15 лет назад, конкретные сигнальные события, приводящие к формированию НВЛ, все еще в значительной степени неясны.

Тот факт, что присутствие НВЛ в крови здоровых людей – крайне редкая ситуация, позволяет рассматривать формирование НВЛ как своеобразный биологический маркер различных патологических состояний. В этом контексте представляется важным проанализировать роль данного феномена в развитии различных патологических состояний, включая онкологический процесс, при котором формирование НВЛ и особенности нейтрофилов могут являться как прогностическим фактором, так и возможной химиотерапевтической мишенью.

## Механизмы формирования НВЛ

Морфологическая последовательность событий при формировании НВЛ следующая: активированные нейтрофилы иницируют процесс, при котором сначала теряется классическая дольчатая морфология ядра и исчезают различия между эухроматином и гетерохроматином. Затем растворяются все внутренние мембраны и активные компоненты НВЛ смешиваются. После этого в результате процесса, биологически отличного и от апоптоза, и от некроза, происходит разрыв цитоплазматической мембраны и формируется экстрацеллюлярная часть ловушки. Этот процесс гибели нейтрофилов получил название НЕТоз. Основная форма образования НВЛ – это так называемый суицидальный НЕТоз, который приводит к гибели нейтрофилов и характеризуется указанными выше последовательными морфологическими изменениями [3].

Вместе с тем существует и так называемый витальный НЕТоз, когда нейтрофилы остаются жизнеспособны-

## Информация об авторах / Information about the authors

**Афонин Григорий Владиславович** – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отд-ния лучевого и хирургического лечения заболеваний торакальной области МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии». E-mail: Dr.G.Afonin@mail.ru; ORCID: 0000-0002-7128-2397; SPIN-код: 9039-6110

**Мельникова Анжелика Александровна** – науч. сотр. отд-ния клин. иммунологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии». E-mail: angelik\_melnikova@mail.ru; ORCID: 0000-0001-7229-2813; SPIN-код: 4197-1929

**Гривцова Людмила Юрьевна** – д-р биол. наук, зав. отд-нием клин. иммунологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии». E-mail: grivtsova@mail.ru; ORCID: 0000-0001-9103-9688; SPIN-код: 4423-6844

**Колобаев Илья Владимирович** – канд. мед. наук, зав. отд-нием лучевого и хирургического лечения заболеваний торакальной области МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии». ORCID: 0000-0002-3573-6996; SPIN-код: 1382-5529

**Иванов Сергей Анатольевич** – проф. РАН, д-р мед. наук, дир. МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии». ORCID: 0000-0001-7689-6032; SPIN-код: 4264-5167

**Каприн Андрей Дмитриевич** – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., ген. дир. ФГБУ «НМИЦ радиологии», зав. каф. урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии медицинского института ФGAOY BO PUDH. ORCID: 0000-0001-8784-8415; SPIN-код: 1759-8101

**Grigory V. Afonin** – Cand. Sci. (Med.), Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Center. E-mail: Dr.G.Afonin@mail.ru; ORCID: 0000-0002-7128-2397; SPIN code: 9039-6110

**Angelika A. Melnikova** – Res. Officer, Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Center. E-mail: angelik\_melnikova@mail.ru; ORCID: 0000-0001-7229-2813; SPIN code: 4197-1929

**Lyudmila Yu. Grivtsova** – D. Sci. (Biol.), Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Center. E-mail: grivtsova@mail.ru; ORCID: 0000-0001-9103-9688; SPIN code: 4423-6844

**Ilya V. Kolobaev** – Cand. Sci. (Med.), Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Center. ORCID: 0000-0002-3573-6996; SPIN code: 1382-5529

**Sergei A. Ivanov** – D. Sci. (Med.), Prof. RAS, Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Center. ORCID: 0000-0001-7689-6032; SPIN code: 4264-5167

**Andrei D. Kaprin** – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, National Medical Research Radiological Center, People's Friendship University of Russia (RUDN University). ORCID: 0000-0001-8784-8415; SPIN code: 1759-8101

ми и высвобождают только части своей ядерной или митохондриальной ДНК. Достаточно подробно оба механизма НЕТоза, их длительность и последовательность событий на уровне нейтрофила описаны в недавнем обзоре А. Палладиной и соавт. [4].

Не вызывает сомнений, что ведущая роль в формировании НВЛ принадлежит фагоцитарному коферменту никотинамидадениндинуклеотидфосфату (NADPH) – оксидазе, образующей АФК. При инфекции образование АФК может способствовать как внутрифагосомальному уничтожению живых нейтрофилов, так и посмертному уничтожению нейтрофилов, уже сформировавших НВЛ. Предварительная обработка нейтрофилов, стимулированных форболмири-статацетатом (PMA) или золотистым стафилококком в сочетании с ингибитором NADPH-оксидазы дифенилен иодонием (DPI), предотвращала формирование НВЛ.

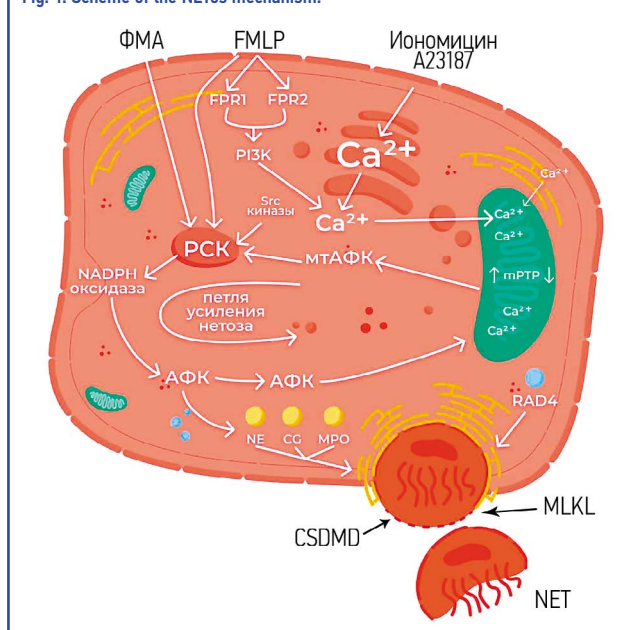
Рассматривая более детально механизм и условия формирования НВЛ на внутриклеточном уровне, на данном этапе наших знаний можно сказать следующее.

При участии протеинкиназы С (PKC) митохондриальные АФК (мтАФК) стимулируют NADPH-оксидазу [5], а внутриклеточные киназы (семейство Src-киназа), стимулирующие PKC, активируются под действием АФК [6]. В исследовании N. Vorobjeva и соавт. [7] продемонстрировано повышение активности мтАФК и NADPH-оксидазы за счет сигнала от G-белок-связанного рецептора формилметионил-лейцил-фенилаланина (fMLP), который индуцирует освобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из внутриклеточного депо, а также  $\text{Ca}^{2+}$ -независимую активацию фосфоинозитид-3-киназы (PI3K).  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимая активация образования мтАФК может служить одним из основных источников АФК в случае индукции формирования НВЛ, вызванного, в частности, иономицином [8]. Эти данные также подтверждают, что возможны два разных механизма НЕТоза, один из которых не зависит от NADPH-оксидазы [9]. Генерация мтАФК, вызванная fMLP (формилметионил-лейцил-фенилаланин, бактериальный пептид) и A23187 (кальцимицин, ионофор кальция), напрямую зависит от открытия митохондриальной поры (mPTP) [10]. Интересно, что при активации НЕТоза под действием fMLP не происходило набухания митохондрий, характерного для длительного открытия митохондриальных пор. Возможно, что в данном случае произошло кратковременное открытие поры, вызванное повышением концентрации ионов кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ) в цитоплазме [10]. Напротив, при активации НЕТоза под действием A23187, который также зависел от открытия mPTP, наблюдалось набухание митохондрий, которое совпадало с деконденсацией хроматина и разрушением ядерной оболочки [10]. Высокая концентрация цитоплазматического  $\text{Ca}^{2+}$ , образующаяся под действием кальциевого ионофора A23187, привела к продолжительному открытию mPTP. Это повлекло за собой образование больших концентраций мтАФК из-за выхода из митохондрий основных компонентов антиоксидантной защиты [10]. Таким образом, условия формирования НВЛ зависят от типа инициирующего агента.

АФК, образуемые NADPH-оксидазой, проникают назад в клетку, стимулируя тем самым открытие mPTP и усиливая HEToz [10].

Дегрануляция нейтрофилов с высвобождением белков из гранул и выход их в цитозоль является ключевым моментом при НЕТозе. Это касается прежде всего выхода именно азурофильных гранул, содержащих различные белки, некоторые из них представлены сериновыми протеазами – нейтрофильная эластаза (NE), катепсин G и миелопероксидаза (MPO) [5]. АФК способствуют выходу сериновых протеаз из гранул в цитозоль. Сериновые протеазы мигрируют в ядро, способствуя деконденсации хроматина и разрушению ядерной оболочки [11]. Помимо сериновых протеаз в ядро также поступает пептидил-аргинин-деаминаза 4 (PAD4), которая активирует цитруллинирование гистонов и способствует окончательной деконденсации хроматина. Протеолитическое повреждение ядерной пластинки и деконденсация хро-

Рис. 1. Схема механизма НЕТоЗа.  
Fig. 1. Scheme of the NETos mechanism.



матина приводят к разрушению ядерной оболочки и выходу хроматина в цитоплазму [5]. На завершающей стадии витального НЕТоза происходит образование пор в плазматической мембране для выхода хроматина. Поры формируются с помощью специального белка газдермина D (GSDMD), расщепление и активация которого происходят за счет нейтрофильной эластазы. Есть предположение, что газдермин D формирует поры не только в плазматической, но и ядерной мембране [12].

Под действием RIP киназ происходит активация другого порообразующего белка – MLKL (Mixed lineage kinase domain like pseudokinase), ключевого активатора некроза, что также приводит к выбросу НВЛ, представляющих собой, как уже отмечено, деконденсированный хроматин и белки, вышедшие из гранул (рис. 1) [13].

Лучшее доказательство необходимости NADPH-оксидазы для экстружии НВЛ получено в экспериментах, проведенных на нейтрофилах человека, полученных от пациентов с хронической гранулематозной болезнью (ХГБ). Биологической особенностью пациентов с ХГБ являются мутации в одной из субъединиц ферментативного комплекса NADPH-оксидазы, приводящие к отсутствию или значительному уменьшению дыхательного выброса нейтрофилов. В этом же исследовании обнаружен независимый от NADPH-оксидазы механизм формирования НВЛ. Так, нейтрофилы больных ХГБ не формируют НВЛ в ответ на РМА или *Staphylococcus aureus*, но вместе с тем формирование НВЛ все-таки происходит, если используются NADPH-независимые источники АФК. Так, добавление внеклеточного источника АФК, глюкозооксидазы и глюкозы обшло необходимость в АФК, продуцируемых NADPH-оксидазой, и вызвало DPI-независимое образование НВЛ. Данные по формированию НВЛ независимым от NADPH-оксидазы способом постепенно накапливаются. Например, формирование НВЛ по суицидальной форме, стимулируемое определенными бактериями и грибами, требует NADPH-оксидазы, в то время как экстружия НВЛ по витальному типу, индуцируемая другими бактериями, паразитами и большинством воспалительных микрокристаллов, не включает АФК, генерируемые данным коферментом [2, 14, 15]. Следует отметить, что NADPH-оксидазу нельзя считать специфичным для НВЛ белком, поскольку она также необходима для осуществления нейтрофилами внутриклеточного фагоцитоза.

Одним из важных событий в формировании НВЛ является цитруллинирование гистонов ферментом PAD4. Данный



фермент присутствует в нейтрофилах в большом количестве и перемещается в ядро при повышении концентрации цитозольного кальция, опосредуя там превращение остатков аргинина в цитруллин в белках-мишенях, в первую очередь в гистонах, что, как предполагалось, приводит к деконденсации хроматина [16].

На момент описания данного феномена PAD4 предложен в качестве специфического и универсального посредника формирования НВЛ и маркера их формирования, но результаты дальнейших исследований показали, что НВЛ также могут формироваться независимым от PAD4 способом.

Одними из ключевых активаторов нейтрофилов и посредников образования НВЛ являются цитокины: интерлейкин (ИЛ)-8, ИЛ-18, ИЛ-1 $\beta$ . Они, как уже сказано ранее, обеспечивают направленный хемотаксис нейтрофилов в очаг воспаления, опосредуя повышенное образование НВЛ. В свою очередь НВЛ могут стимулировать фагоцитирующие клетки для выработки цитокинов и тем самым оказывать повреждающее действие на ткани. Такой механизм продемонстрирован при изучении причин повреждения легочного эпителия у пациентов при COVID-19 [17, 18].

В иммунопатогенезе COVID-19 участвуют воспалительные цитокины, среди которых содержится ИЛ-1 $\beta$ . Существует и обратная связь, когда НВЛ стимулируют макрофаги для выработки ИЛ-1 $\beta$ . Именно этот факт позволил предположить наличие повреждения альвеол и легочного эндотелия у пациентов с выраженным прогрессированием COVID-19 [17, 18]. Пр продемонстрировано участие ИЛ-8 и ИЛ-18 в формировании НВЛ при раке яичников. Их действие приводило к снижению числа НВЛ и повышению индекса НВЛ, что, возможно, свидетельствует о снижении киллерной функции нейтрофилов [19].

### Феномен НВЛ и его значение для организма

Феномен НВЛ имеет двойное значение для организма: с одной стороны, он имеет защитную функцию, а с другой – может способствовать формированию и усугублению тяжести течения целого ряда патологических состояний, включая тромбообразование, аутоиммунные заболевания и злокачественные новообразования.

В случае продолжительного образования НВЛ по типу обратной связи происходит стимуляция многих патологических процессов [18]. Считается, что чрезмерно активное образование НВЛ может вызвать каскад воспалительных реакций, которые способствуют метастазированию раковых клеток, разрушают окружающие ткани, способствуют микротромбозу и приводят к необратимому повреждению органов легочной, сердечно-сосудистой и почечной систем [20].

В качестве примера позитивного влияния феномена НВЛ можно привести положительную роль НЕТоза в лечении грибкового кератита. У всех пациентов выявлено образование НВЛ, но у пациентов с большим их количеством грибковый кератит протекал значительно легче [21]. НВЛ при остром воспалительном процессе предотвращают диссеминацию инфекционных патогенов с помощью своей цитотоксической активности, способствуя миграции гранулоцитов в воспалительный очаг [22, 23].

Особый вклад НЕТоз вносит в развитие заболеваний легких, и здесь функция НВЛ неоднозначна. С одной стороны, они участвуют в элиминации грибковой микробиоты из легочной ткани и защищают дыхательные пути от инфекции, а с другой – их избыточное накопление способствует снижению легочной функции и легочной вентиляции. Нельзя обойти вниманием такой факт, что многие патогены вырабатывают ферменты, способные расщеплять НВЛ [24].

НЕТоз может приводить к таким осложнениям, как острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), бронхиальная астма, так, в мокроте больных ХОБЛ выявляется повышенное содержание НВЛ. При этом количество нейтрофильных ловушек в мокроте у больных ХОБЛ напрямую коррелирует с тяжестью течения [25, 26]. Образование ловушек приво-

дит к повреждению альвеол и легочного эндотелия у пациентов с COVID-19.

Так, в случае ОРДС установлено, что уровни НВЛ в плазме выше у пациентов с ОРДС, ассоциированным с переливанием крови, чем у пациентов без ОРДС. Повышение уровней формирования НВЛ в крови у пациентов с ОРДС, ассоциированной с пневмонией, коррелирует с тяжестью заболевания и смертностью. Отмечено также повышение внеклеточных гистонов в бронхоальвеолярных лаважах и плазме крови пациентов с ОРДС. Имеются убедительные экспериментальные доказательства, подтверждающие роль гистонов в ОРДС и сепсисе. При этом в экспериментальной модели повреждения легких показано, что НВЛ формируются в ответ на различные стимулы, вызывающие ОРДС, а предотвращение их формирования или элиминация НВЛ уменьшают повреждение легких и увеличивают выживаемость.

Показана отрицательная роль НВЛ при муковисцидозе, когда слизистые выделения, содержащие внутриклеточную ДНК (собственно НВЛ), нарушают газообмен легких. При этом чрезмерная продукция неспецифической эластазы НВЛ делает слизь густой и вязкой, что не только ухудшает вентиляцию, но и способствует колонизации бактерий. В свою очередь бактериальная колонизация дополнительно способствует рекрутированию нейтрофилов и образованию НВЛ, увеличивая вязкость слизи и, следовательно, снижая дыхательную функцию пациента.

Одним из белков хроматина является high-mobility group protein B1 (HMGB1), или амфотерин, один из ключевых медиаторов воспаления, прототип молекул клеточной опасности, который индуцирует особый тип клеточной гибели – пироптоз. Установлено, что формирование НВЛ в случае септического воспаления ассоциировано с высвобождением HMGB1 и индуцирует пироптоз перитонеальных макрофагов, приводящий к активации ядерного фактора NF $\kappa$ B и усиливая секрецию фактора некроза опухоли  $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и ИЛ-12, что снова создает петлю обратной связи и в итоге приводит к неуправляемому воспалению и гибели пациента [27].

НВЛ, поддерживая избыточную воспалительную реакцию, способствуют образованию тромбов в сосудах [23]. Взаимодействие НВЛ с поврежденным эндотелием и тромбоцитами играет очень важную роль в тромбообразовании и патогенезе ряда заболеваний. Так, ДНК входящие в состав НВЛ, при попадании в плазму крови активируют выработку тромбина независимо от тканевого фактора, также запускают каскад реакций, которые приводят к активации XIIa, затем активации XI фактора и генерации тромбина [28]. С помощью ДНК образуются устойчивые комплексы из тромбина и фибрина, нарушающие процесс фибринолиза [28]. Гистоны, входящие в состав NET, вызывают генерацию тромбина также в отсутствие тканевого фактора в плазме, богатой тромбоцитами. Они вызывают активацию V фактора, увеличивая активность протромбиназного комплекса, и активируют протеин C, приводя к синтезу тромбина в присутствии тромбомодулина [29]. Вслед за повреждением эндотелия в эту зону привлекаются нейтрофилы, которые запускают каскад тромбоцитарных реакций путем формирования НВЛ и доставки тканевого фактора, при этом важную роль в формировании тромба принимают нейтрофильные протеазы – NE и катепсин G (CG) [30]. В настоящее время продемонстрированы корреляции между активностью НЕТоза и тяжестью инфаркта и ишемического инсульта. Показано прямое влияние на тяжесть процесса количества образования НВЛ и связанных с ними тромбозов [31].

Изучена роль НВЛ в механизме коагуляции и тромбообразования у пациентов с COVID-19, показано, что тяжесть процесса коррелировала с количеством образованных NET. В ходе исследования получены данные о влиянии на этот процесс НЕТоза [32]. Механизм тромбообразования в данном случае стандартен – поврежденный эндотелий вызывает высвобождение фактора Виллебранда, который ак-

тивирует тромбоциты. Они в свою очередь активируют нейтрофилы и образование ими НВЛ, которые, как сети, улавливают тромбоциты, эритроциты и фибрин, приводя к развитию тромбов у пациентов с COVID-19 [32].

Поскольку компоненты НВЛ вызывают выработку антител, закономерно, что НЕТоз также участвует в развитии аутоиммунных заболеваний.

Например, при системной красной волчанке появляется особая форма нейтрофилов, их называют нейтрофилы низкой плотности (ННП). Под действием интерферона  $\alpha/\beta$  они выделяют провоспалительные цитокины и быстрее подвергаются НЕТозу, нежели обычные нейтрофилы. При этом происходит выброс ядерной и митохондриальной ДНК, LL-37, HMGB1, которые являются аутоантигенами и распознаются провоспалительными рецепторами врожденного иммунитета TLR4 [33].

При серопозитивном ревматоидном артрите нейтрофилы являются источником цитруллинированных аутоантигенов в суставах и внутренних органах. Молекулы опасности, DAMPs, циркулирующие в крови пациентов, взаимодействуют с аутоантителами и образуют иммунные комплексы, которые захватываются НВЛ и распознаются плазматическими дендритными клетками [34]. Образованные при гибели нейтрофилов НВЛ и DAMPs выступают как факторы прогрессии артрита [33]. Имеются наблюдения о роли НЕТоза в таких аутоиммунных заболеваниях, как васкулит, антифосфолипидный синдром, рассеянный склероз и псориаз [35].

Большое количество исследований, проведенных на экспериментальных моделях и у пациентов с онкологическими заболеваниями, показало значительный вклад НВЛ в развитие опухоль-ассоциированных венозных и артериальных тромбозов [36]. С учетом данных фактов НВЛ и участников цепочки формирования ловушек можно рассматривать как факторы прогноза, а также как возможную терапевтическую мишень при формировании опухоль-ассоциированных тромбозов.

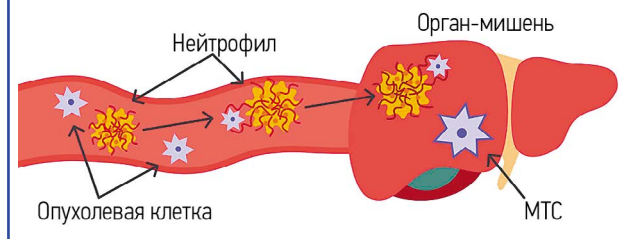
Таким образом, НЕТоз является одним из важных регуляторов гомеостаза и врожденного иммунного ответа и, как и любой защитный иммунный механизм, может играть как положительную, так и отрицательную для организма роль [37–39].

### Нейтрофилы и роль НВЛ при злокачественных новообразованиях

Долгое время нейтрофилы считались достаточно простыми клетками врожденной иммунной системы. Благодаря подробному изучению функций нейтрофилов интерес к данной популяции клеток возрастает. Как уже отмечено, проведенные исследования доказывают участие нейтрофилов в онкологическом процессе, аутоиммунных заболеваниях, тромбообразовании и хронических воспалительных реакциях [40]. Исследования продемонстрировали активное участие нейтрофилов в онкологическом процессе, а именно в ангиогенезе, прогрессировании, облегчении экстравазации раковых клеток. Микроокружение опухоли способно перепрограммировать нейтрофилы, как активируя их противоопухолевую активность, так и, наоборот, запуская механизмы канцерогенеза [41].

У пациентов со злокачественными новообразованиями обнаружены и охарактеризованы 2 типа нейтрофилов: ННП и нейтрофилы высокой плотности. В настоящее время существует концепция относительно того, что формирование НВЛ возможно только из ННП [4]. Несмотря на достаточно активную дискуссию в зарубежной литературе, больше фактов убеждает нас в том, что данные типы нейтрофилов не являются отдельными популяциями, а под влиянием разного рода факторов из одной формы могут переходить в другую, тем самым проявляя свою пластичность. Они выполняют двойную функцию. Могут быть частью воспаления, способствующего развитию опухоли путем запуска ангиогенеза, ремоделирования внеклеточного матрикса, метастазирования и иммуносупрессии. И, наоборот, нейтрофилы могут способствовать противоопухолевому ответу путем пря-

Рис. 2. Схема механизма метастазирования с помощью NETs.  
Fig. 2. Scheme of the metastasis mechanism using NETs.



мого уничтожения опухолевых клеток и участия в клеточных сетях, которые опосредуют противоопухолевую резистентность [42]. Следует отметить, что именно нейтрофилы являются регуляторами поляризации макрофагов M1 и M2 типов. ННП обладают низкой способностью к фагоцитозу, миграции и при стимуляции интерфероном- $\gamma$  и гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором экспрессируют PDL1, что, возможно, усиливает супрессорные свойства ННП [43]. Увеличение концентрации ННП у онкологических пациентов является достаточно поздним событием канцерогенеза, возможно, ННП участвуют в росте опухоли, но этот механизм еще до конца не изучен. Разнообразие и пластичность нейтрофилов лежат в основе двойного потенциала в микроокружении опухоли [42].

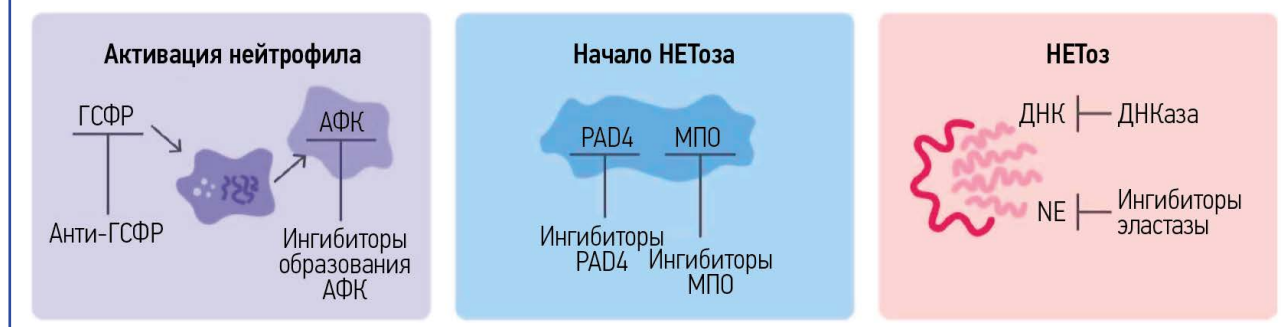
Предполагается, что образование НВЛ является одним из важных событий метастатического каскада, при котором роль нейтрофилов изучается достаточно детально. Так, на экспериментальных моделях продемонстрирована активация нейтрофилов с последующим формированием НВЛ в случае попадания клеток рака молочной железы (РМЖ) в легкие. Вокруг метастатических клеток рака легкого у мышей описаны сетеподобные структуры, образованные нейтрофилами [44]. НВЛ стимулировали миграцию и инвазию клеток РМЖ *in vitro*.

Возможные механизмы участия НВЛ в метастазировании могут быть различными. Предполагают, что нейтрофильные ловушки могут притягивать циркулирующие опухолевые клетки в ткани либо увеличивать проницаемость сосудов, тем самым облегчать экстравазацию опухолевых клеток [4]. В одном из исследований показано, что воспаление в легких и, соответственно, привлечение в очаг воспаления нейтрофилов с образованием НВЛ может активировать единичные «спящие» раковые клетки и приводить к формированию клинически значимых легочных метастазов [45].

Подтверждением значительной роли НВЛ при метастатических опухолях являются и клинические наблюдения. Например, у пациентов с саркомой Юинга в случае метастатического поражения в крови присутствует значительное количество НВЛ [46]. Также продемонстрировано, что НВЛ в большом количестве циркулируют в крови у пациентов с различными формами рака легкого, поджелудочной железы, мочевого пузыря и при колоректальном раке [47]. В исследовании В. Hsu и соавт. показано, что ННП посредством формирования НВЛ способствуют образованию метастазов РМЖ в печени (рис. 2) [48].

Немаловажную роль, как уже сказано, НЕТоз играет в тромбообразовании, что является одной из нередких причин смерти у пациентов с онкологическим заболеванием. На различных экспериментальных моделях продемонстрировано, что повышенное количество нейтрофилов и образованные ими НВЛ в опухолевой ткани повышают риск венозных тромбозов [16]. Тканевой фактор опухоли, связанный с НВЛ, запускает процессы тромбообразования и неоангиогенеза, тем самым обеспечивая метаболическую поддержку опухолевыми клетками [16]. В одном из исследований продемонстрирована взаимосвязь повышения биомаркеров образования НВЛ в плазме крови с высоким риском тромбообразования у онкологических больных [49]. Учитывая данные факты непосредственного участия НВЛ в тромбообразовании у онколо-

Рис. 3. Возможные новые мишени фармакотерапии злокачественных новообразований, учитывая механизм НЕТоз (представлено автором).  
Fig. 3. Possible new targets of pharmacotherapy for malignant neoplasms, given the mechanism of NETosis (presented by the author).



гических пациентов, можно рассматривать данный процесс как дополнительную мишень тромбопрофилактики, а определение маркеров НВЛ в плазме крови пациентов может являться предикторным фактором тромбообразования.

Естественно, осуществлялся поиск возможных блокаторов НЕТоза, и, конечно, наиболее удобной противоопухолевой мишенью при НЕТозе является экстрацеллюлярная часть ДНК. Установлено, что применение ДНКазы блокировало формирование НВЛ. Также ДНКазы способствовали уменьшению метастазов в легких у мышей [50]. Однако на данный момент препарат ДНКазы существует только в одной лекарственной форме – ингаляционной. Применяется он при муковисцидозе, снижая вязкость мокроты за счет разрушения НВЛ [51]. Для доставки ДНКазы в кровоток и ткани требуется парентеральное введение препарата, что актуально у пациентов со злокачественными новообразованиями, однако препарат обладает высокой токсичностью при таком пути введения, это составляет определенные трудности его применения у данной категории пациентов.

На экспериментальных моделях также продемонстрировано прерывание процесса формирования НВЛ при ингибировании PAD4 [52]. Так, простагландин E2 ингибирует образование НВЛ, вызванное опухолевыми клетками, как и хлорин, способствует ингибированию NET и снижению тромбообразования онкологических пациентов [53]. Интересным в этом аспекте является применение витамина D<sub>3</sub>, который продемонстрировал снижение образования НВЛ. Выполнялся забор капиллярной крови у пациентов до приема витамина D<sub>3</sub>, затем через 1, 3 и 7 сут после начала приема препарата и через 7 сут после окончания. Стимулировали образование НВЛ добавлением форбол-миристан-ацетата (ФМА). Прием витамина D<sub>3</sub> приводил к тому, что образование НВЛ постепенно уменьшалось и через 7 сут после начала приема полностью прекращалось. После окончания приема витамина D<sub>3</sub> образование НВЛ восстанавливалось полностью [54].

Таким образом, вопрос о лекарственном препарате, который будет селективно воздействовать на НВЛ, но в то же время не будет обладать иммуносупрессивным действием или излишним иммуностимулирующим действием на другие механизмы иммунной системы, играющие важную роль в формировании противоопухолевого иммунитета, пока остается открытым.

Нейтрофильные лейкоциты – популяция, очень чувствительная к химиотерапии, что приводит к нейтропении. Для стимуляции образования нейтрофилов в костном мозге и выхода их в кровоток используют препараты гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, но это способствует в основном образованию незрелых форм нейтрофилов, образующих ННП, способных к формированию НВЛ [41]. Кроме того, секреция гранулоцитарного колониестимулирующего фактора собственными опухолевыми клетками также способствует увеличению ННП, соответственно, это приводит к активному НЕТозу и метастазированию [48].

Учитывая все сказанное, НЕТоз можно рассматривать как новую терапевтическую мишень в комплексном лечении онкологического пациента. Принимая во внимание этапы развития НЕТоза, можно предположить возможные точки приложения фармакотерапии (рис. 3).

Большая часть препаратов, подавляющих образование НВЛ, также подавляет механизмы иммунной системы в целом. Поэтому актуален поиск наиболее эффективных и безопасных агентов, предотвращающих развитие феномена НЕТоза. Одним из возможных препаратов может являться, например, иммуномодулятор со свойствами иммуноадьюванта – азоксимера бромид, который в экспериментальных исследованиях *in vitro* показал способность ингибировать образование НВЛ и НЕТоз на поздних стадиях [55]. Как сказано, он одновременно играет защитную роль и является одним из ключевых механизмов патогенеза многих заболеваний.

## Заключение

Открытие НЕТоза дает возможность по-новому взглянуть на участие нейтрофилов в опухолевом процессе. Подробное изучение каждого этапа НЕТоза позволит найти определенные терапевтические мишени, ингибирование которых предотвратит прогрессирование и метастазирование опухолевого процесса, а также развитие многих других заболеваний. Оценка феномена НЕТоза и выявление НВЛ в крови могут рассматриваться как маркер прогноза у онкологических пациентов. Изучение данного процесса является актуальным и рассматривается как еще одна точка приложения иммунотерапии в борьбе со злокачественными новообразованиями.

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

**Disclosure of interest.** The authors declare that they have no competing interests.

**Вклад авторов.** Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

**Authors' contribution.** The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

**Источник финансирования.** Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

**Funding source.** The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.



## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Потанин М.П., Гушина Л.М., Мороз Л.А. Фенотипическая и функциональная гетерогенность субпопуляций нейтрофилов в норме и при патологии. *Иммунология*. 2019;40(5):84–96 [Potanin MP, Gushchina LM, Moroz LA. Phenotypic and functional heterogeneity of neutrophil subpopulations in normal and pathological conditions. *Immunology*. 2019;40(5):84–96 (in Russian)]. DOI:10.24411/0206-4952-2019-15009
- Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532–5. DOI:10.1126/science.1092385
- Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol*. 2007;176(2):231–41. DOI:10.1083/jcb.200606027
- Палладина А.Д., Хомякова Н.Ф. Нетоз как механизм прогрессирования рака. *Иммунология гемопоза*. 2019;17(2):39–52 [Palladina AD, Khomyakova NF. NETosis as a mechanism of cancer progression. *Immunology of hematopoiesis*. 2019;17(2):39–52 (in Russian)].
- Воробьева Н.В., Черняк Б.В. Нетоз: молекулярные механизмы, роль в физиологии и патологии. *Биохимия*. 2020;85(10):1383–97 [Vorobyeva NV, Chernyak BV. NETosis: molecular mechanisms, role in physiology and pathology. *Biochemistry*. 2020;85(10):1383–97 (in Russian)]. DOI:10.31857/S0320972520100061
- Steinberg SF. Mechanisms for redox-regulation of protein kinase C. *Front Pharmacol*. 2015;6:128. DOI:10.3389/fphar.2015.00128
- Vorobyeva N, Prikhodko A, Galkin I, et al. Mitochondrial reactive oxygen species are involved in chemoattractant-induced oxidative burst and degranulation of human neutrophils in vitro. *Eur J Cell Biol*. 2017;96(3):254–65. DOI:10.1016/j.ejcb.2017.03.003
- Douda DN, Khan MA, Grasmann H, et al. SK3 channel and mitochondrial ROS mediate NADPH oxidase-independent NETosis induced by calcium influx. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(9):2817–22. DOI:10.1073/pnas.1414055112
- Ravindran M, Khan MA, Palaniyand N. Neutrophil Extracellular Trap Formation: Physiology, Pathology, and Pharmacology. *Biomolecules*. 2019;9(8):365. DOI:10.3390/biom9080365
- Vorobyeva N, Galkin I, Pletushkina O, et al. Mitochondrial permeability transition pore is involved in oxidative burst and NETosis of human neutrophils. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866(5):165664. DOI:10.1016/j.bbdis.2020.165664
- Metzler KD, Goosmann C, Lubojemski A, et al. A myeloperoxidase-containing complex regulates neutrophil elastase release and actin dynamics during NETosis. *Cell Rep*. 2014;8(3):883–96. DOI:10.1016/j.celrep.2014.06.044
- Chen KW, Monteleone M, Boucher D, et al. Noncanonical inflammasome signaling elicits gasdermin D-dependent neutrophil extracellular traps. *Sci Immunol*. 2018;3(26):eaar6676. DOI:10.1126/sciimmunol.aar6676
- D'Cruz AA, Speir M, Bliss-Moreau M, et al. The pseudokinase MLKL activates PAD4-dependent NET formation in necroptotic neutrophils. *Sci Signal*. 2018;11(546):eaal716. DOI:10.1126/scisignal.aal716
- Rada B, Leto TL. Oxidative innate immune defenses by Nox/Duox family NADPH oxidases. *Contrib Microbiol*. 2008;15:164–87. DOI:10.1159/000136357
- Li P, Li M, Lindberg MR, et al. PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*. 2010;207(9):1853–62. DOI:10.1084/jem.20100239
- Demers M, Krause DS, Schatzberg D, et al. Cancers predispose neutrophils to release extracellular DNA traps that contribute to cancer-associated thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(32):13076–81. DOI:10.1073/pnas.1200419109
- Yaqinuddin A, Kashir J. Novel therapeutic targets for SARS-CoV-2-induced acute lung injury: Targeting a potential IL-1β/neutrophil extracellular traps feedback loop. *Med Hypotheses*. 2020;143:109906. DOI:10.1016/j.mehy.2020.109906
- Schönrich G, Rafferty MJ, Samstag J. Devilishly radical NETwork in COVID-19: Oxidative stress, neutrophil extracellular traps (NETs), and T cell suppression. *Adv Biol Regul*. 2020;77:100741. DOI:10.1016/j.abiol.2020.100741
- Abakumova TV, Gening TP, Dolgova DR, et al. Influence of the levels of the pro-inflammatory cytokines on the formation of extracellular neutrophilic traps in disseminated ovarian cancer. *Russian Journal of Immunology*. 2019;22(2-2):704–6. DOI:10.31857/S102872210006765-6
- Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*. 2020;217(6):e20200652. DOI:10.1084/jem.20200652
- Jin X, Zhao Y, Zhang F, et al. Neutrophil extracellular traps involvement in corneal fungal infection. *Mol Vis*. 2016;22:944–52.
- Hwang JW, Kim JH, Kim HJ, et al. 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;49(10):1306–20. DOI:10.1111/cea.13448
- Sollberger G, Tilley DO, Zychlinsky A. Neutrophil Extracellular Traps: The Biology of Chromatin Externalization. *Dev Cell*. 2018;44(5):542–53. DOI:10.1016/j.devcel.2018.01.01
- Twaddell SH, Baines KJ, Grainge C, et al. The Emerging Role of Neutrophil Extracellular Traps in Respiratory Disease. *Chest*. 2019;156(4):774–82. DOI:10.1016/j.chest.2019.06.012
- Dicker AJ, Crichton ML, Pumphrey EG, 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;141(1):117–27. DOI:10.1016/j.jaci.2017.04.022
- Uddin M, Watz H, Malmgren A, Pedersen F. NETopathic Inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Severe Asthma. *Front Immunol*. 2019;10:47. DOI:10.3389/fimmu.2019.00047
- Chen L, Zhao Y, Lai D, et al. Neutrophil extracellular traps promote macrophage pyroptosis in sepsis. *Cell Death Dis*. 2018;9(6):597. DOI:10.1038/s41419-018-0538-5
- Ivanov I, Shakhawat R, Sun M, et al. Nucleic acids as cofactors for factor XI and prekallikrein activation: Different roles for high-molecular-weight kininogen. *Thromb Haemost*. 2017;117(4):671–81. DOI:10.1160/TH16-09-0691
- Noubouossie D, Whelihan M, Yu YB, et al. In vitro activation of coagulation by human neutrophil DNA and histone proteins but not neutrophil extracellular traps. *Blood*. 2017;129(8):1021–9. DOI:10.1182/blood-2016-06-722298
- Okeke EB, Loutit C, Fry C, et al. Inhibition of neutrophil elastase prevents neutrophil extracellular trap formation and rescues mice from endotoxic shock. *Biomaterials*. 2020;238:119836. DOI:10.1016/j.biomaterials.2020.119836
- Novotny J, Oberdieck P, Titova A, et al. Thrombus NET content is associated with clinical outcome in stroke and myocardial infarction. *Neurology*. 2020;94(22):e2346–60. DOI:10.1212/WNL.0000000000009532
- Айтбаев К.А., Муркамилов И.Т., Фомин В.В., и др. Коронавирусная болезнь 2019 (COVID-19): нетоз-ассоциированные механизмы прогрессирования и перспективы терапии, регулирующие образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (NETs). *ActabiomedicaScientifica*. 2021;6(4):64–73 [Aitbayev KA, Murkamilov IT, Fomin VV, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): not a toz- not a pelvis regulating the formation of neutrophilic entrapment traps (nets). *ActabiomedicaScientifica*. 2021;6(4):64–73 (in Russian)]. DOI:10.29413/ABS.2021-6.4.6
- Grieshaber-Bouyer R, Nigrovic PA. Neutrophil Heterogeneity as Therapeutic Opportunity in Immune-Mediated Disease. *Front Immunol*. 2019;10:346. DOI:10.3389/fimmu.2019.00346
- Chatfield SM, Thiebtemont N, Witko-Sarsat V. Expanding Neutrophil Horizons: New Concepts in Inflammation. *J Innate Immun*. 2018;10(5-6):422–31. DOI:10.1159/000493101
- Foussert E, Toes R, Desai J. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Take the Central Stage in Driving Autoimmune Responses. *Cells*. 2020;9(4):915. DOI:10.3390/cells9040915
- Wolach O, Sellar RS, Martinod K, et al. Increased neutrophil extracellular trap formation promotes thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Sci Transl Med*. 2018;10(436):eaan8292. DOI:10.1126/scitranslmed.aan8292
- Cabrini M, Nahmod K, Geffner J. New insights into the mechanisms controlling neutrophil survival. *Curr Opin Hematol*. 2010;17(1):31–5. DOI:10.1097/MOH.0b013e3283333b29
- von Köckritz-Blickwede M, Nizet V. Innate immunity turned inside-out: antimicrobial defense by phagocyte extracellular traps. *J Mol Med (Berl)*. 2009;87(8):775–83. DOI:10.1007/s00109-009-0481-0
- Yost CC, Cody MJ, Harris ES, et al. Impaired neutrophil extracellular trap (NET) formation: a novel innate immune deficiency of human neonates. *Blood*. 2009;113(25):6419–27. DOI:10.1182/blood-2008-07-171629
- Liew PX, Kubes P. The Neutrophil's Role During Health and Disease. *Physiol Rev*. 2019;99(2):1223–48. DOI:10.1152/physrev.00012.2018
- Xiong S, Dong L, Cheng L. Neutrophils in cancer carcinogenesis and metastasis. *J Hematol Oncol*. 2021;14(1):173. DOI:10.1186/s13045-021-01187-y
- Jailon S, Ponzetta A, Di Mitri D, et al. Neutrophil diversity and plasticity in tumour progression and therapy. *Nat Rev Cancer*. 2020;20(9):485–503. DOI:10.1038/s41568-020-0281-y
- Sagiv JV, Michaelli J, Assi S, et al. Phenotypic diversity and plasticity in circulating neutrophil subpopulations in cancer. *Cell Rep*. 2015;10(4):562–73. DOI:10.1016/j.celrep.2014.12.039
- Rocks N, Vanwinge C, Radermecker C, et al. Ozone-primed neutrophils promote early steps of tumour cell metastasis to lungs by enhancing their NET production. *Thorax*. 2019;74(8):768–79. DOI:10.1136/thoraxjnl-2018-211990
- Albrenques J, Shields MA, Ng D, et al. Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken dormant cancer cells in mice. *Science*. 2018;361(6409):eaao4227. DOI:10.1126/science.aao4227
- Berger-Achituv S, Brinkmann V, Abed UA, et al. A proposed role for neutrophil extracellular traps in cancer immunoediting. *Front Immunol*. 2013;4:48. DOI:10.3389/fimmu.2013.00048
- Oklu R, Sheth RA, Wong KHK, et al. Neutrophil extracellular traps are increased in cancer patients but does not associate with venous thrombosis. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2017;7(Suppl 3):S140–9. DOI:10.21037/cdt.2017.08.01
- Hsu BE, Tabarès S, Johnson RM, et al. Immature Low-Density Neutrophils Exhibit Metabolic Flexibility that Facilitates Breast Cancer Liver Metastasis. *Cell Rep*. 2019;27(13):3902–15.e6. DOI:10.1016/j.celrep.2019.05.091
- Griz E, Mauracher LM, Posch F, et al. Citrullinated histone H3, a biomarker for neutrophil extracellular trap formation, predicts the risk of mortality in patients with cancer. *Br J Haematol*. 2019;186(2):311–20. DOI:10.1111/bjh.15906
- Park J, Wysocki RW, Amoozgar Z, et al. Cancer cells induce metastasis-supporting neutrophil extracellular DNA traps. *Sci Transl Med*. 2016;8(361):361ra138. DOI:10.1126/scitranslmed.aag1711
- Vorobyeva NV, Pinegin BV. Neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in health and disease. *Biochemistry (Mosc)*. 2014;9(12):1286–96. DOI:10.1134/S0006297914120025
- Lewis HD, Liddle J, Coote JE, et al. Inhibition of PAD4 activity is sufficient to disrupt mouse and human NET formation. *Nat Chem Biol*. 2015;11(3):189–91. DOI:10.1038/nchembio.1735
- Volkov DV, Tetz GV, Rubtsov YP, et al. Neutrophil Extracellular Traps (NETs): Opportunities for Targeted Therapy. *Acta Naturae*. 2021;13(3):15–23. DOI:10.32607/actanaturae.11503
- Гусев С.А., Басырева Л.Ю., Максимов Д.И., и др. Витамин D<sub>3</sub> блокирует образование нейтрофильных внеклеточных ловушек в цельной крови. Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Тезисы докладов международной научной конференции, Четырнадцатого съезда Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков, Минск, 17–19 июня 2020 года. Минск: Белорусский государственный университет, 2020; с. 114 [Gusev SA, Basyreva LYu, Maksimov DI, et al. Vitamin D<sub>3</sub> blokiruet obrazovanie neutrofil'nykh vnekletochnykh lovushek v tsel'noi krvi. Molekuliarnye, membrannye i kletochnye osnovy funktsionirovaniia biosistem: Tезисы докладов mezhnunarodnoi nauchnoi konferentsii, Chetyrnadtsatogo s'ezda Belorusskogo obshchestvennogo ob'edineniia fotobiologov i biofizikov, Minsk, 17–19 iunija 2020 goda. Minsk: Belarusian State University, 2020; p. 114 (in Russian)].
- Пинегин Б.В., Дагиль Ю.А., Воробьева Н.В., и др. Влияние азоксимера бромид на формирование внеклеточных нейтрофильных ловушек. *РМЖ*. 2019;11:1–6 [Pinegin BV, Dogel YuA, Vorobyeva NV, et al. The effect of azoximer bromide on the formation of extracellular neutrophil traps. *Breast cancer*. 2019;1:1–6 (in Russian)].

Статья поступила в редакцию /  
The article received: 07.07.2022

Статья принята к печати /  
The article approved for publication: 29.11.2022

