

## Эозинофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции

Е.С. Минина, П.Д. Новиков

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

### Eosinophil extracellular traps: mechanisms of formation, functions

E.S. Minina, P.D. Novikov

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

#### Аннотация

В статье приведен обзор литературы о новом механизме антимикробного действия эозинофильных гранулоцитов – образовании эозинофильных внеклеточных ловушек (ЭВЛ). Рассматриваются условия и этапы формирования ЭВЛ, их отличия от процессов апоптоза и некроза эозинофилов. Приводятся отличительные особенности ЭВЛ при их сравнении с внеклеточными нейтрофильными ловушками. Дана характеристика основных структурных компонентов ЭВЛ и факторов, стимулирующих их появление. Описаны механизмы антимикробного действия эозинофильных ловушек.

#### Ключевые слова

Эозинофильные гранулоциты, гранулярные белки, эозинофильные внеклеточные ловушки, система иммунитета, ДНК.

Система иммунитета (СИ) представляет собой совокупность клеток, органов и тканей, которые осуществляют иммунные реакции в организме человека. Задачей СИ является защита организма от чужеродных патогенов и собственных поврежденных клеток, при этом СИ еще необходимо отличать свои «здоровые» клетки. Эта система состоит из подсистем, одной из которых является гранулоцитарная, включающая в себя нейтрофилы, базофилы и эозинофилы. Как и все лейкоциты, они образуются из гемопоэтических стволовых клеток, которые являются плюрипотентными клетками в костном мозге. При воздействии различных стимулов плюрипотентные клетки созревают до клеток с отличным внешним видом и функциями – моноциты, лимфоциты, нейтрофилы, базофилы и эозинофилы.

#### Summary

This article presents current data about a new mechanism of antimicrobial action of eosinophilic granulocytes – the formation of eosinophil extracellular traps (EETs). In this article, conditions and basic stages of EETs formation, the difference between apoptosis and necrosis of eosinophils are given. The distinctive features of EETs are described in comparison with neutrophil extracellular traps. Main structural components, as well as the factors that stimulate EETs appearance, are characterized. The mechanisms of antimicrobial activity of EETs are described.

#### Keywords

Eosinophils, granular proteins, eosinophil extracellular traps, immune system, DNA.

В настоящее время уделяется много внимания исследованию нового защитного механизма СИ – образованию внеклеточных ДНК-ловушек клетками СИ. Выделение сетей ДНК различными типами клеток является частью врожденного иммунного ответа и наблюдается при многих инфекционных, аллергических и аутоиммунных заболеваниях. Образование внеклеточных ловушек ДНК было выявлено у ряда организмов, включая рыбу, быка, лошадь, кошку, мышь и курицу [1, 2, 3, 4, 5, 6].

Гибель клеток с выбросом внеклеточных ДНК-ловушек (extracellular DNA trap cell death, ETosis или ЭТоз [7]), была обнаружена и у человека в нейтрофилах [8] и тучных клетках [9, 10]. Подобные внеклеточные ловушки (extracellular traps, ETs или ВЛ) впоследствии наблюдались в других

клетках, например, в моноцитах [11], тканевых макрофагах [12, 13] и эозинофилах [14, 15, 16, 17]. Недавно было обнаружено, что лимфоциты, ключевые клетки адаптивной иммунной системы, выбрасывают ВЛ *in vitro* при инкубации с сывороткой пациентов с системной красной волчанкой [18]. Основываясь на полученных данных, выделение ВЛ клетками СИ, можно считать новым путем гибели клеток, отличным от некроза и апоптоза [19].

Предполагается, что ЭТоз является защитным механизмом, сохраненным в ходе эволюции. Действительно, сетеподобные структуры, содержащие ДНК, были обнаружены в кончиках корней растений и выполняли функцию защиты от грибковых инфекций [20]. Выделение ВЛ и захват микроорганизмов были продемонстрированы у беспозвоночных (европейский сухопутный краб, *S. maenas*) [21]. ВЛ наблюдались и у высших позвоночных. Например, нейтрофилы и эозинофилы подвергались ЭТозу и участвовали в поимке и уничтожении возбудителя гемонхоза (*H. contortus*) у жвачных животных [22]. У крупного рогатого скота было показано, что макрофаги, подвергшиеся ЭТозу, ограничивали распространение *M. haemolytica*, являющегося возбудителем манхеймиоза [23].

В нейтрофилах и тучных клетках ЭТоз развивается со временем, в течение нескольких часов, и морфологически отличается от апоптоза и некроза [24, 25]. В отличие от апоптоза, ядерная конденсация и фрагментация ДНК не происходят. Вместо этого хроматин деконденсируется, нуклеолема распадается и происходит выделение хроматина в цитоплазму [26]. Разрыв плазматической мембраны приводит к высвобождению ядерной ДНК с образованием внеклеточных сетей ДНК, которые у нейтрофилов связывают свободные антимикробные молекулы (гранулярные белки и гистоны) [27]. Увеличение NADPH (никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат)-оксидаза-опосредованной продукции активных форм кислорода (АФК) играет важную роль в активации нейтрофильного ЭТоза [28]. Получены данные, что активированные эозинофилы человека также подвергаются NADPH-оксидазозависимой гибели с выбросом внеклеточных ДНК-ловушек (eosinophil extracellular DNA trap cell death, EETosis или ЭЭТоз) [29].

Изучение новых иммунологических механизмов защиты организма, таких как образование внеклеточных ловушек различными клетками СИ представляет большой интерес не только для ученых, но и для практикующих врачей.

Целью данной работы был обзор литературы, посвященной изучению процесса формирования внеклеточных ловушек эозинофилами, а также их роли в защите организма хозяина.

### **Эозинофилы, гранулярный аппарат**

Впервые эозинофилы были обнаружены в 1879 г. немецким ученым П. Эрлихом, который наблюдал, что кислотный краситель эозин окрашивал гранулы в ярко-розовый цвет внутри эозинофилов [30]. Эозинофилы созревают в костном мозге и мигрируют по крови к тканям. Миграция эозинофилов из костного мозга, в первую очередь, регулируется интерлейкинами 3 и 5 (ИЛ-3, ИЛ-5) и гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF или ГМ-КСФ) [31].

Эозинофилы обычно присутствуют в слизистой оболочке кишечника, костном мозге, тимусе, лимфатических узлах и селезенке, но при этом их содержание в крови незначительное (1-5% от общего количества лейкоцитов). Эозинофил принадлежит к семейству полиморфноядерных лейкоцитов и может быть легко распознан по дольчатому строению ядра. Совместно с нейтрофилами и базофилами, эозинофилы входят в состав гранулоцитов, содержащих большое количество цитоплазматических гранул.

Установлено, что эозинофилы защищают организм человека от гельминтов и простейших, принимают участие в аллергических реакциях, хотя остается не до конца изученной их точная роль в этих процессах. С другой стороны, эозинофилы также вызывают повреждение тканей, как при гельминтозах [32], так и при бронхиальной астме [33], выделяя гранулярные белки. Например, эозинофильный катионный белок (eosinophil cationic protein, ЕСР) и главный щелочной (или основной) протеин (major basic protein, МВР – экспрессируется в виде двух гомологов МВР1 и МВР2) повреждают клеточные мембраны и, таким образом, обладают высокой цитотоксичностью [32, 33].

Имеются данные об участии эозинофилов в репарации поврежденных тканей путем продукции факторов роста [34]. Так же установлена их иммунорегуляторная роль. Например, ЕСР и эозинофильный нейротоксин (eosinophil-derived neurotoxin, EDN) подавляют пролиферацию Т-клеток *in vitro* [35]. Помимо этого эозинофилы участвуют в регуляции продукции субпопуляций Т-лимфоцитов путем экспрессии индоламин-2,3-диоксигеназы (indoleamine-2,3-dioxygenase, IDO)

[36]. Для эозинофилов характерна антигенпредставляющая функция: они могут перемещаться в лимфатические узлы после воздействия антигена и представлять их Т-клеткам [37]. Эозинофилы могут экспрессировать МНС класса II, который необходим для представления антигенов [38] и костимулирующих молекул, таких как CD28, CD40, CD80 и CD86 [39, 40, 41]. Кроме того, было продемонстрировано, что эозинофилы обеспечивают выживание долгоживущих плазматических клеток в костном мозге мышей путем секреции APRIL (A proliferation-inducing ligand или лиганд А, индуцирующий пролиферацию) и ИЛ-6 [42]. У людей, у которых полностью отсутствуют эозинофилы в крови и нарушается их созревание в костном мозге, наблюдается нарушение регуляции СИ и аутоиммунные процессы [43].

Цитоплазма эозинофилов содержит катионные компоненты, которые хранятся в гранулах, первичных и вторичных. Первичные гранулы представляют собой однокомпонентные структуры, а вторичные гранулы – это двухкомпонентные структуры [44].

Первичные гранулы содержат галектин-10 (Charcot-Leyden crystal protein, CLCP или белок кристаллов Шарко-Лейдена) и эозинофильную пероксидазу (eosinophil peroxidase, ЕРХ/ЕРО), а вторичные гранулы содержат главный щелочной протеин, эозинофильный катионный белок, эозинофильный нейротоксин и ЕРХ. МВР локализуется в кристаллоидном ядре вторичной гранулы и может повреждать бактерии и клетки, разрушая клеточные мембраны [45]. ЕРХ находится как в первичных, так и во вторичных гранулах и может образовывать АФК, что приводит к апоптозу и некрозу в клетках-мишенях [46]. ЕРХ токсична для вирусов, бактерий, гельминтов и опухолевых клеток [47], участвует как в противовоспалительных [48], так и в провоспалительных [49] процессах. Также ЕРХ индуцирует дегрануляцию тучных клеток, способствует привлечению макрофагов, обеспечивая более эффективное уничтожение микроорганизмов и связывание с поверхностью опухолевых клеток, в результате чего они становятся восприимчивыми к опосредованному макрофагами цитолизу [30].

Эозинофильный катионный белок (ЕСР), который принадлежит к подсемейству рибонуклеаз (РНказы) А, токсичен для гельминтов, бактерий, одноцепочечных РНК-вирусов и тканей хозяина [50]. Этот гранулярный белок индуцирует выделение гистамина из базофилов и тучных клеток, таким образом, принимая активное участие в реализации воспалительных реакций [30].

Эозинофильный нейротоксин (EDN), который также принадлежит к подсемейству РНКаз А, обладает противовирусной активностью и особенно эффективен против одноцепочечных РНК-вирусов. В исследовании J. Domachowske с соавт. было продемонстрировано противовирусное действие EDN при инфицировании респираторным синцитиальным вирусом [51]. Также EDN может способствовать изменению характера иннервации гладкой мышечной ткани бронхиального дерева, приводя к его гиперреактивности [30]. Эозинофильная пероксидаза и главный щелочной протеин 2 обнаруживаются только в эозинофилах, тогда как остальные белки могут экспрессироваться и другими клетками, хотя и не на уровнях, обнаруженных в эозинофилах. После активации эозинофилы выделяют свои гранулярные белки [52].

Эозинофилы также участвуют в синтезе цистеиновых лейкотриенов (С4, D4, Е4), тромбоксана В2, простагландинов Е1 и Е2 и фактора активации тромбоцитов [53, 54]. Эти липидные медиаторы являются сигнальными молекулами, которые играют важную роль в воспалительных и иммунных реакциях, участвуют в регуляции пролиферации клеток [55].

В отличие от других гранулосодержащих лейкоцитов, у эозинофилов уже давно установлено присутствие гранул внеклеточно в тканях и мокроте при различных заболеваниях [54, 56, 57]. Свободные внеклеточные гранулы были выявлены при атопическом дерматите [58] и аллергическом рините [59], также была выявлена корреляция их количества с тяжестью крапивницы [54, 60]. В мокроте пациентов с бронхиальной астмой были отмечены свободные гранулы эозинофилов, а скопления этих свободных гранул – кластеры (clusters of free eosinophil granules, Cfegs), были зарегистрированы при астме у человека и в экспериментальных моделях астмы у морских свинок [61].

В 2008-2010 гг. J. Neves с соавт. изучали внеклеточные гранулы эозинофилов [62, 63, 64]. В ходе исследования из эозинофилов периферической крови человека при субклеточном фракционировании получали очищенные внеклеточные гранулы. J. Neves с соавт. установили, что на мембранах гранул представлены несколько рецепторов, включая CCR3, цепь IFN- $\gamma$ R [63], два рецептора цистеинил-лейкотриена (CysLT1R, CysLT2R) и пуринергический рецептор P2Y12 [62]. В очищенных внеклеточных гранулах при стимуляции происходила внутригранулярная передача сигнала, что вызывало дифференциаль-

ную секрецию хранимых в гранулах цитокинов и других белков [62, 63]. Например, стимуляция IFN- $\gamma$  приводила к дозозависимой секреции эозинофильного катионного белка, эозинофильной пероксидазы, гидролитического фермента ( $\beta$ -гексозаминидазы) и цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-6) [63]. В ответ на лейкотриен C4 и внеклеточно генерируемые лейкотриены D4 и E4 в гранулах секретировался эозинофильный катионный белок [62]. Хотя механизм выделения и функционирования внеклеточных гранулярных белков все еще до конца неясен и требует дальнейшего изучения, можно предположить, что внутригранулярная мембранная сеть играет решающую роль в процессе мобилизации и секреции этих белков.

При стимуляции *in vivo* эозинофилы могут выделять свои гранулярные белки. На сегодняшний день выявлено три механизма этого процесса: 1) экзоцитоз, при котором цитоплазматические гранулы проникают через клеточную мембрану и выделяют гранулярные белки во внеклеточную среду; 2) частичная дегрануляция, процесс, характеризующийся везикулярным транспортом, который обеспечивает регулируемое выделение гранулярных белков [65, 66]; и 3) цитолиз, когда эозинофилы разрываются и выделяют свои неповрежденные гранулы [67]. Точный механизм цитолиза остается неясным, хотя считается, что он отличается от некроза [68].

Экзоцитоз возникает в ответ на крупные мишени, такие как гельминты, но в остальном обычно не наблюдается *in vivo*. Вместо этого эозинофилы секретируют компоненты гранул в основном через частичную дегрануляцию, в результате чего их содержимое избирательно мобилизуется в сферические и трубчатые пузырьки, которые отделяются от гранул, пересекают цитоплазму и сливаются с плазматической мембраной, чтобы выделить свое содержимое [1].

При цитолизе потеря целостности эозинофильной плазматической мембраны и последующий лизис приводят к выделению и внеклеточному отложению интактных (неповрежденных) мембраносвязанных гранул. Хотя обычно считается, что частичная дегрануляция является преобладающим механизмом дегрануляции и секреции у эозинофилов, доказательства цитолиза эозинофилов и наличия мембраносвязанных свободных гранул эозинофилов в тканях неоднократно описывались в литературе [54]. Многочисленные *in vivo* наблюдения за свободными внеклеточными гранулами эозинофилов свидетельствуют об уникальном процессе, при

котором эозинофилы человека подвергаются неапоптотической цитолитической гибели, при которой выделяются интактные внеклеточные гранулы. Механизмы эозинофильного цитолитического выделения интактных гранул недостаточно изучены. Однако исследование S. Ueki с соавт. 2013 г. предоставило первые доказательства того, что эозинофилы человека способны подвергаться активной цитолитической гибели, сопровождающейся выделением ядерной ДНК и интактных гранул, так называемый, процесс – ЭЭТоз [29].

Таким образом, местное выделение внеклеточных гранул эозинофилов может представлять собой средство, с помощью которого эозинофилы продолжают обеспечивать иммунорегуляторные и провоспалительные функции после своего разрушения. Несмотря на проведенные исследования, механизмы эозинофильного цитолитического выделения интактных гранул и их роль в защите организма и развитии патологических состояний до конца не изучены [29].

### Эозинофильные внеклеточные ловушки

Изначально считалось, что внеклеточные ловушки формируют только нейтрофилы. В 2004 году у нейтрофилов впервые были зарегистрированы внеклеточные отложения ДНК. Было обнаружено, что нейтрофильные внеклеточные ловушки (neutrophil extracellular traps, NETs или НВЛ) содержат высокие локальные концентрации антимикробных компонентов, которые выделяются во внеклеточный матрикс для захвата и уничтожения бактерий [8]. Считается, что НВЛ, содержащие антибактериальные белки, такие как гистоны и гранулярные ферменты (например, эластаза и миелопероксидаза), играют важную роль во врожденном иммунитете, захватывая различные микроорганизмы [8, 69].

Механизм с помощью которого эозинофилы могут выделять свое цитоплазматическое содержимое заключается в образовании эозинофильных внеклеточных ловушек (eosinophil extracellular traps, EETs или ЭВЛ). Эти структуры состоят из ДНК-сетей, содержащих гранулярные белки [70]. Было высказано предположение, что этот механизм представляет собой стратегию по поимке и уничтожению бактерий, подобно НВЛ. Впервые сетчатые ДНК-структуры, выделяемые эозинофилами, были обнаружены S. Yousefi с соавт. в 2008 году [16]. В исследовании было продемонстрировано, что происходило нецитолитическое катапультное выделение митохондриальной, но не ядерной ДНК с образованием внеклеточных

сетей ДНК в ответ на липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий, фактор комплемента C5a и эотаксин. Эти сети содержали нити ДНК и гранулярные белки (главный щелочной протеин и эозинофильный катионный белок), что стало очевидно из исследований как *in vitro* [16], так и *in vivo* [14].

Позднее в 2013 г. S. Ueki с соавт. [29] продемонстрировали выделение сетчатых структур ДНК из литических эозинофилов при стимуляции IgG, IgA, иммобилизованными в среде с SYTOX Green, ионофором кальция A23187, фактором активации тромбоцитов (ФАТ) и форбол-1,2-миристат-1,3-ацетатом (ФМА). Эти результаты были получены с помощью просвечивающего электронного микроскопа и конфокальной иммунофлуоресцентной микроскопии. Иммуноокрашивание с использованием анти-гистоновых антител подтвердило, что ДНК имела ядерное происхождение. Также в исследовании изучали различия между эозинофилами, подвергшимися некрозу, апоптозу и ЭЭТозу (некроз и апоптоз индуцировали путем кратковременного нагревания и применения анти-Fas антител, соответственно). Таким образом, анти-Fas-активированные эозинофилы (подвергающиеся апоптозу, с окрашиванием аннексином V) и термоинактивированные эозинофилы (с характерными некротическими пузырьками) сравнивали с эозинофилами, которые подвергались ЭЭТозу. У эозинофилов, подвергшихся ЭЭТозу, окрашивание аннексином V было слабым (что указывало на низкий уровень или отсутствие фосфатидилсерина на наружной поверхности клеточной мембраны и подтверждало отсутствие апоптоза) по сравнению с Fas-активированными клетками. Кроме того, не наблюдалось и некротических пузырьков.

Следует отметить, что митохондриальная ДНК может выделяться лишь в небольшом количестве, т.к. эозинофилы человека содержат очень мало митохондрий (24-36 на клетку по сравнению с 1300 у гепатоцита). Каждая митохондрия содержит приблизительно 2-10 копий митохондриальной ДНК, которая очень чувствительна к повреждению, вызванному АФК, потому что в ней отсутствуют защитные гистоны и ограничены механизмы репарации ДНК. Отсутствие ядерной ДНК в супернатантах эозинофилов также может быть объяснено сильными адгезивными свойствами нитей ДНК, которые, вероятно, слипаются и прилипают к клеткам и поверхностям планшетов, особенно после встряхивания во время инкубации. Это приводит к осаждению большей части ядерной ДНК из супернатантов,

в то время как митохондриальная ДНК, будучи меньше по размеру, будет оставаться растворимой в супернатанте и легче обнаруживаться с помощью ПЦР. Напротив, с использованием чувствительных молекулярных методов было продемонстрировано повышенное выделение dsДНК в супернатанте в случае индуцированного ЭЭТоза *in vitro* [71].

Сканирующая электронная микроскопия показала, что нейтрофильные ДНК-ловушки состоят из гладких участков цилиндрических нуклеосом длиной 5-10 нм и глобулярных доменов размером 25-50 нм, в то время как ЭВЛ состоят в основном из волокон диаметром 25-35 нм [8, 72]. Согласно S. Ueki с соавт. 2016 г. ЭВЛ происходят из гистонов H1, которые образуют 30 нм волокна хроматина, намного толще, чем у нейтрофилов [15], но V. Muniz с соавт. 2018 г. установили, что ЭВЛ происходят из гистонов H3 [73]. В исследовании A. Omokawa с соавт. 2018 г. также как у S. Ueki с соавт. были выявлены нитевидные структуры, которые окрашивались антителами против гистона H1 [74].

Немногие исследования указывают на процент эозинофилов, которые подвергаются ЭЭТозу, и даже, если сообщается количество эозинофилов, которые выделяют внеклеточные сети, этот процент может варьироваться в зависимости от патологии, ее тяжести и присутствия других клеток, которые выделяют свои ловушки (нейтрофилы, макрофаги и базофилы). В исследовании, в котором оценивались образцы биопсии от пациентов с эозинофильным эзофагитом, сообщалось, что 80% эозинофилов имели признаки цитолиза с выделением ДНК [75]. В исследовании D. Simon с соавт. 2011 г. [76] определяли количество эозинофилов, выделяющих ДНК и ЕСР, при кожных заболеваниях, процент таких эозинофилов достигал 10-30% при эозинофильном целлюлите Уэллса.

### Механизм ЭЭТоза

#### Выделение внеклеточной ДНК при стимуляции различными факторами

Как было описано ранее в обзоре, в исследованиях S. Ueki с соавт. 2013 г. и 2016 г. иммобилизованные IgG и IgA вызывали выделение гистон-положительной ДНК из разрушенных эозинофилов. Кроме того, фактор активации тромбоцитов (ФАТ) в сочетании с ИЛ-5 или ГМ-КСФ индуцировал ЭЭТоз. ФАТ сам по себе был менее мощным индуктором ЭЭТоза, и в отдельности ни ИЛ-5, ни ГМ-КСФ не вызывали

ЭЭТоз. Форбол-1,2-миристан-1,3-ацетат (ФМА) и ионофор кальция также индуцировали ЭЭТоз. ЭЭТоз, индуцированный ионофором кальция, развивался быстрее по сравнению со стимуляцией иммобилизованными IgG и ФМА [15, 29].

В исследовании E. Gevaert с соавт. 2017 г. [77] было показано, что у пациентов с хроническим полипозным риносинуситом образование ЭВЛ связано с повышением уровня ИЛ-5, а также с колонизацией *S. aureus* в тканях пациента. Также была показана связь между уровнями периостина и эозинофильным воспалением, что сделало периостин интересным для изучения его роли в функционировании ЭВЛ. Периостин, который облегчает инфильтрацию эозинофилов в легочной ткани пациентов с аллергией и с эозинофильным эзофагитом [78], был обнаружен на высоких уровнях в тканях пациентов с большим количеством ЭВЛ. Тимический стромальный лимфопоэтин (thymic stromal lymphopoietin, TSLP или ТСЛП) является хорошо известными факторами стимуляции формирования ЭВЛ *in vitro*. Однако E. Gevaert с соавт. [77] не выявили повышенные уровни ТСЛП. Это противоречило другим исследованиям, в ходе которых уровень ТСЛП повышался после повреждения эпителия и коррелировал с выделением ЭВЛ у пациентов с эозинофильным эзофагитом и непосредственно запускал формирование ЭВЛ [79, 80]. Однако данные ПЦР показали увеличение продукции ТСЛП через 2 часа. Поэтому возможно, что ТСЛП все еще мог играть роль в формировании ЭВЛ в более поздние моменты времени [77].

Y. Choi с соавт. 2018 г. [81] также продемонстрировали влияние ИЛ-5 и липополисахарида на продукцию ЭВЛ у пациентов с тяжелой эозинофильной астмой.

В исследовании S. Ueki с соавт. 2013 г., чтобы изучить процесс изменения формы ядра во время ЭЭТоза, окрашивали живые эозинофилы красителем Hoechst 33342, в результате чего изменялась окраска ядерной ДНК; клетки были зафиксированы в разные моменты времени. Первоначально билобулярная форма ядра эозинофилов начинала терять свою форму, а затем ядерная оболочка распадалась и ДНК заполняла цитоплазму. Наконец, плазматическая мембрана разрывалась, что позволяло вытеснить сеть ДНК (было подтверждено обработкой ДНКазой) [29]. Этот процесс изменения формы ядра и его растворения был схож с таковым при НЕТозе, однако точный механизм деконденсации ядерного содержимого требует дальнейшего изучения [26]. Сканирующая электронная микроскопия высо-

кого разрешения показала, что ДНК-сети образовывали сетчатые структуры, которые состояли в основном из волокон диаметром 25-35 нм в сочетании с более крупными волокнами [29]. В ходе проведенного исследования было показано, что ЭЭТоз отличается от некроза и апоптоза. В исследовании S. Ueki с соавт. 2016 г. ингибитор каспазы-3 не угнетал ядерную деконденсацию и образование агрегатов. Эти результаты подтвердили, что ЕЭТозис зависит от реактивной продукции кислорода и кальция, но не зависит от процессов, опосредованных каспазой [15].

Выделенные ловушки ядерной ДНК эозинофилов быстро собирались вместе и захватывали мелкие частицы, такие как неповрежденные гранулы эозинофилов и микроорганизмы [15]. Ранее было высказано предположение о роли ионных связей в функционировании внеклеточных ловушек – взаимодействие между анионной поверхностью микроорганизмов и катионными компонентами ловушек [75]. S. Ueki с соавт. в 2016 г. предположили, что гидрофобные взаимодействия играли основную роль в адгезивной способности и сборке эозинофильных ДНК-ловушек. Эти особенности внеклеточных ловушек ДНК важны для фиксирования микроорганизмов и предотвращения их распространения [15].

#### ЭЭТоз – это NADPH-оксидаза-зависимая гибель клеток

Как известно, гибель нейтрофилов с выбросом внеклеточных ДНК-ловушек (neutrophil extracellular DNA trap cell death, NETosis или НЕТоз) зависит от АФК, образование которых обеспечивает фермент NADPH-оксидаза, и, соответственно этот процесс угнетается ингибитором NADPH-оксидазы – хлоридом дифенилениодония [24]. В исследовании S. Ueki с соавт. 2013 г. [29] для выявления влияния хлорида дифенилениодония на ЭЭТоз, после стимуляции эозинофилов измеряли интенсивность SYTOX Green, которая постепенно увеличиваясь. Хлорид дифенилениодония полностью устранял действие этих индукторов ЭЭТоза (IgG и ионофор кальция). Подобное ингибирование наблюдалось с хлоридом дифенилениодония при стимуляции и другими активирующими ЭЭТоз факторами [15]. Чтобы дополнительно оценить, было ли образование внеклеточных АФК критическим для ЭЭТоза, эозинофилы стимулировали в присутствии непроницаемого для клеток фермента, поглощающего АФК, каталазы. Каталаза ингибировала индуцированный ионофором кальция ЭЭТоз [29].

### При ЭЭТозе выделяются ДНК-сети и интактные гранулы

В исследовании S. Ueki с соавт. 2013 г., чтобы определить механизм выделения специфических белков гранул эозинофилов, клетки, подвергшиеся ЭЭТозу, иммуноокрашивали на главный щелочной протеин (МВР). Примечательно, что во многих областях ЭВЛ отсутствовало иммуноокрашивание свободного МВР, а окраска была локализована в более мелких точечных очагах, вследствие чего было высказано предположение, что эозинофильные гранулы сохранили свое содержимое [29].

При анализе ЭЭТоза путем трансмиссионной электронной микроскопии было выявлено наличие кластеров интактных эозинофильных гранул и гранул связанных с сетями ДНК. Интактные эозинофильные гранулы обладали различной степенью электронной плотности, что, вероятно, указывало на секрецию некоторыми из них своего содержимого. Внеклеточные гранулы эозинофилов, выделяемые из цитолитических клеток, сохраняли свою типичную морфологию с неповрежденными мембранами и матрицами гранул [29].

Для изучения процесса ЭЭТоза, при котором выделяются интактные гранулы эозинофилов внеклеточно, проводили исследование эозинофилов с помощью фазово-контрастной микроскопии. Эозинофилы, подвергшиеся ЭЭТозу, демонстрировали общие морфологические особенности поведения, начиная с прекращения их хемокинетической миграции и усиления внутрицитоплазматических движений гранул. Двухлистное ядро эозинофила постепенно сгущалось в одну круглую форму. Образовывались выступы плазматической мембраны, и время от времени 1-3 гранулы выделялись вместе с обволакивающими мембранами, отрываясь от выступов плазматической мембраны. Множество гранул были выделены эозинофилами в виде кластеров связанных с плазматической мембраной. Таким образом, выделение небольшого количества гранул и скоплений гранул в виде кластеров приводило к получению разнообразных по размерам связанных плазматической мембраной гранул. Выделение гранулярных структур обычно предшествовало ядерному хроматолизу и распаду ядерной мембраны. При последующем лизисе эозинофилов и нарушении плазматической мембраны выделялись оставшиеся внутриклеточные гранулы [29].

Чтобы убедиться, что выделение интактных гранул из эозинофилов было связано с ЭЭТозом,

подсчитывали абсолютное количество выделенных субклеточных структур с использованием проточного цитометра. Повышенное выделение гранулярных структур было связано с увеличением продукции ЭВЛ, о чем свидетельствовала зависимость от концентрации и времени. Более того, внеклеточные структуры не выделялись при 4° С, что указывало на активный клеточный процесс. Чтобы подтвердить стабильность выделенных внеклеточных гранул, эозинофильные гранулы окрашивали красителем акридиновым оранжевым с последующей стимуляцией ионофором кальция А23187. Через 1 час в культуральной среде были обнаружены обильные внеклеточные гранулы, которые были в виде отдельных структур и кластеров. Выделенные субклеточные структуры были дополнительно подвергнуты проточной цитометрии; и при флуоресцентной микроскопии большинство субклеточных гранулярных структур сохраняли краситель [29].

В совокупности можно сказать, что при ЭЭТозе выделяются гранулы эозинофилов, при этом внеклеточные гранулы сохраняют специфические гранулярные белки даже после выделения в культуральную среду, некоторые выделяемые гранулы могут по отдельности или в кластерах быть окружены плазматической мембраной, а часть из них может быть лишена плазматической мембраны.

Гранулы, выделяемые при ЭЭТозе, обладают способностью к секреции и выделению своего содержимого в ответ на стимуляцию

В более ранних исследованиях было продемонстрировано, что гранулы эозинофилов человека, будучи изолированными без плазматической мембраны при субклеточном фракционировании, экспрессируют функциональные рецепторы хемокинов CCR3 и секретируют эозинофильный катионный белок (ЕСР) в ответ на эотаксин-1, используя внутригранулярную сигнализацию и системы секреции на основе мембранотубулярных сетей [62, 63]. В исследовании S. Ueki с соавт. 2013 г. оценивали обладают ли гранулы при ЭЭТозе сходными функциональными секреторными свойствами. В ходе исследования были получены результаты, показывающие, что некоторые гранулы во время ЭЭТоза, опосредованного ионофором кальция, сохраняли свою способность к секреции [29].

### Отличия ЭВЛ и НВЛ

В попытке сравнить стабильность ловушек ДНК, опосредованных НЕТозом и ЭЭТозом, в

исследовании S. Ueki с соавт. 2016 г. было выявлено, что ДНК-ловушки при ЭЭТозе были стабильными в течение нескольких дней, сохраняя свою форму в течение >7 дней. Напротив, ловушки при НЕТозе демонстрировали спонтанную диссоциацию и были более восприимчивы к повышенным концентрациям альбумина и фетальной телячьей сыворотки, и к обработке ДНКазой, что указывало на их меньшую стабильность [15].

При НЕТозе гранулярные мембраны исчезают внутриклеточно, после чего следует транслокация нейтрофильной эластазы и миелопероксидазы в ядро нейтрофилов [26, 82]. Этот внутриклеточный процесс дегрануляции, по-видимому, важен для связывания этих белков с ядерным хроматином до разрушения нейтрофилов. Напротив, эозинофильные гранулы выделяются в виде неповрежденных структур, а белки эозинофильных гранул остаются в основном внутри этих гранул [29].

В НВЛ ядерные гистоны были наиболее распространены белками и составляли 70% всех связанных с сетью белков [72]. Длинная цепь ДНК оборачивалась вокруг основных гистонов с образованием нуклеосомной структуры, напоминающей «бусы на струне» [83]. Эластаза нейтрофилов способствовала деконденсации хроматина при НВЛ в мокроте пациентов с муковисцидозом путем протеолитической обработки гистонов [16]. ЭВЛ из клинических и экспериментальных источников были равномерно окрашены при использовании моноклональных антител против ядерного гистона H1, который играл ключевую роль в формировании 30-нм волокон хроматина [84]. Примечательно, что ультраструктурная морфология НВЛ показала более тонкие и менее глобулярные волокна в отличие от ЭВЛ. Можно предположить, что ЭВЛ обладают большей стабильностью с нуклеосомами, которые менее восприимчивы к ограниченному протеолитическому деградирующим способностям эозинофилов человека [15].

Во время ЭЭТоза некоторые гранулы эозинофилов выделяются внеклеточно с последующей деконденсацией ядерного содержимого и образованием ЭВЛ. Впоследствии при разрыве плаз-

матической мембраны выделяются как производные от ядерной ДНК (гистон-положительные) сети, так и свободные гранулы эозинофилов. ЭЭТоз приводит к внеклеточному выделению интактных эозинофильных гранул, которые затем связываются с сетями ДНК [29]. Напротив, у нейтрофилов, подвергающихся НЕТозу, связь между ядерной ДНК и гранулосодержащим белком, по-видимому, происходит внутриклеточно до разрыва плазматической мембраны. Нет доказательств того, что интактные нейтрофильные гранулы связываются с сетями внеклеточной ДНК [85]. Напротив, в отношении эозинофилов, как было установлено, главный щелочной протеин или эозинофильный катионный белок связываются с сетями внеклеточной ДНК в виде свободных белков [16, 79]. Таким образом, гранулы белков эозинофилов могут быть обнаружены либо в сочетании с ЭВЛ, либо во внеклеточных гранулах при эозинофильных заболеваниях кожи [76]. Как было отмечено ранее, часть внеклеточных гранул, полученных во время ЭЭТоза, проявляла способность к секреции в ответ на эотаксин-1 [29], подтверждая тем самым, что внеклеточные гранулы эозинофилов могут оставаться функциональными и способны секретировать хранимые белки в виде «кластерных бомб».

Таким образом, процесс ЭТоза у эозинофилов похож на процесс у нейтрофилов, но заметно отличается тем, что интактные эозинофильные гранулы выделяются внеклеточно и по-прежнему содержат основную часть содержимого. Способность эозинофилов секретировать митохондриальную ДНК или связанную с ЭЭТозом ядерную ДНК, создавая при этом сеть, способную захватывать гранулярные белки, секреторные внеклеточные кристаллоидные гранулы и патогены, иллюстрирует новый механизм, с помощью которого эозинофилы осуществляют антимикробное действие.

Следует проводить дополнительные исследования ЭВЛ при различных заболеваниях, чтобы установить, являются ли эти ловушки полезными при каждом виде патологии, и какой должна быть тактика врача при ведении пациента после выявления формирования ЭВЛ.

## Литература

1. Lee J., Lee N. Eosinophil degranulation: an evolutionary vestige or a universally destructive effector function?. Clin Exp Allergy. 2005; N 35: 986–994.

2. Palic D., Ostojic J., Andreasen C. et al. Fish cast NETs: neutrophil extracellular traps are released from fish neutrophils. Deve Comp Immunol. 2007; N 31: 805–816.



3. Grinberg N., Elazar S., Rosenshine I. et al. Beta-hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 2008; N 76: 2802–2807.
4. Chuammitri P., Ostojic J., Andreassen C. et al. Chicken heterophil extracellular traps (HETs): novel defense mechanism of chicken heterophils. *Vet Immunol Immunop.* 2009; N 129: 126–131.
5. Wardini A., Guimaraes-Costa A., Nascimento M. et al. Characterization of neutrophil extracellular traps in cats naturally infected with feline leukemia virus. *J Gen Virol.* 2010; N 91: 259–264.
6. Ermert D., Urban C., Laube B. et al. Mouse neutrophil extracellular traps in microbial infections. *J Innate Immun.* 2009; N 1: 181–193.
7. Воробьева Н. В., Пинегин Б. В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, роль в норме и при патологии. *Биохимия.* 2014; Т. 79; №12: 1580–1591.
8. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C. et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science.* 2004; N 303: 1532–1535.
9. Lin A., Rubin C., Khandpur R. et al. Mast cells and neutrophils release IL-17 through extracellular trap formation in psoriasis. *J Immunol.* 2011; 187: 490–500.
10. Yousefi S., Morshed M., Amini P. et al. Basophils exhibit antibacterial activity through extracellular trap formation. *Allergy.* 2015; Vol. 70; N 9: 1184–1188.
11. Webster S., Daigneault M., Bewley M. et al. Distinct cell death programs in monocytes regulate innate responses following challenge with common causes of invasive bacterial disease. *J Immunol.* 2010; N 185: 2968–2979.
12. Mohanan S., Horibata S., McElwee J. et al. Identification of macrophage extracellular trap-like structures in mammary gland adipose tissue: a preliminary study. *Front Immunol.* 2013; Vol. 4; N 67: 1–8.
13. Oda M., Kurosawa M., Yamamoto H. et al. Sulfated vizantin induces the formation of macrophage extracellular traps. *Microbiology and Immunology.* 2018; Vol. 62; N 5: 310–316.
14. Dworski R., Simon H., Hoskins A. et al. Eosinophil and neutrophil extracellular DNA traps in human allergic asthmatic airways. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; N 127: 1260–1266.
15. Ueki S., Konno Y., Takeda M. et al. Eosinophil ETosis-derived DNA traps: their presence in secretions and their functional attributes. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; Vol. 137; N 1: 258–267.
16. Yousefi S., Gold J., Andina N. et al. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense. *Nat. Med.* 2008; N 14: 949–953.
17. Uribe Echevarria L., Leimgruber C., Garcia Gonzalez et al. J. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease?. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2017; N 12: 885–896.
18. Rocha Arrieta Y., Rojas M., Vasquez G. et al. The lymphocytes stimulation induced DNA release, a phenomenon similar to NETosis. *Scand J Immunol.* 2017; N 86: 229–238.
19. Chow O., von Kockritz-Blickwede M., Bright A. et al. Statins enhance formation of phagocyte extracellular traps. *Cell Host Microbe.* 2010; N 8: 445–454.
20. Wen F., White G., VanEtten H. et al. Extracellular DNA is required for root tip resistance to fungal infection. *Plant Physiol.* 2009; N 151: 820–829.
21. Robb C., Dyrzynda E., Gray R. et al. Invertebrate extracellular phagocyte traps show that chromatin is an ancient defence weapon. *Nat Commun.* 2014; Vol. 5; N 4627: 1–11.
22. Munoz-Caro T., Rubio R. M., Silva L. et al. Leucocyte-derived extracellular trap formation significantly contributes to *Haemonchus contortus* larval entrapment. *Parasit Vectors.* 2015; Vol. 8; N 607: 1–12.
23. Aulik N., Hellenbrand K., Czuprynski C. Mannheimia haemolytica and Its leukotoxin cause macrophage extracellular trap formation by bovine macrophages. *Infect Immun.* 2012; N 80: 1923–1933.
24. Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin?. *J Cell Biol.* 2012; Vol. 198; N 5: 773–783.
25. Коротина О. Л., Генералов И. И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции. *Иммунопатология, аллергология, инфектология.* 2012; №4: 23–32.
26. Fuchs T., Abed U., Goosmann C. et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol.* 2007; Vol. 176; N 2: 231–241.
27. Remijsen Q., Vanden Berghe T., Wirawan E. et al. Neutrophil extracellular trap cell death requires both autophagy and superoxide generation. *Cell Res.* 2011; Vol. 21; N 2: 290–304.
28. von Kockritz-Blickwede M., Nizet V. Innate immunity turned inside out: antimicrobial defense by phagocyte extracellular traps. *J Mol Med (Berl).* 2009; Vol. 87; N 8: 775–783.
29. Ueki S., Melo R., Ghiran I. et al. Eosinophil extracellular DNA trap cell death mediates lytic release of free secretion-competent eosinophil granules in humans. *Blood.* 2013; N 121: 2074–2083.
30. Колобовникова Ю. В., Уразова О. И., Новицкий В. В. и др. Эозинофил: современный взгляд на кинетику, структуру и функцию. *Гематол. и трансфузиол.* 2012; Т. 57; № 1: 30–36.
31. Clutterbuck E., Hirst E., Sanderson C. Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6, and GM-CSF. *Blood.* 1989; N 73: 1504–1512.
32. Klion A., Nutman T. The role of eosinophils in host defense against helminth parasites. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; N 113: 30–37.
33. Frigas E., Motojima S., Gleich G. The eosinophilic injury to the mucosa of the airways in the pathogenesis of bronchial asthma. *Eur Respir J.* 1991; N 13: 123–135.
34. Todd R., Donoff B., Chiang T. et al. The eosinophil as a cellular source of transforming growth factor alpha in healing cutaneous wounds. *Am. J. Pathol.* 1991; N 138: 1307–1313.
35. Peterson C., Skoog V., Venge P. Human eosinophil cationic proteins (ECP and EPX) and their suppressive effects on lymphocyte proliferation. *Immunobiology.* 1986; N 171: 1–13.
36. Odemuyiwa S., Ghahary A., Li Y. et al. Cutting edge: human eosinophils regulate T cell subset selection through indoleamine 2,3-dioxygenase. *J. Immunol.* 2004; N 173: 5909–5913.
37. Shi H., Humbles A., Gerard C. et al. Lymph node trafficking and antigen presentation by endobronchial eosinophils. *J. Clin. Invest.* 2000; N 105: 945–953.
38. Lucey D., Nicholson-Weller A., Weller P. Mature human eosinophils have the capacity to express HLA-DR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1989; N 86: 1348–1351.
39. Woerly G., Roger N., Loiseau S. et al. Expression of CD28 and CD86 by human eosinophils and role in the secretion of type 1 cytokines (interleukin 2 and interferon gamma): inhibition by immunoglobulin a complexes. *J. Exp. Med.* 1999; N 190: 487–495.
40. Ohkawara Y., Lim K., Xing Z. et al. CD40 expression by human peripheral blood eosinophils. *J. Clin. Invest.* 1996; N 97: 1761–1766.
41. Celestin J., Rotschke O., Falk K. et al. IL-3 induces B7.2 (CD86) expression and costimulatory activity in human eosinophils. *J. Immunol.* 2001; N 167: 6097–6104.
42. Chu V., Frohlich A., Steinhäuser G. et al. Eosinophils are required for the maintenance of plasma cells in the bone marrow. *Nat. Immunol.* 2011; N 12: 151–159.
43. Gleich G., Klion A., Lee J. et al. The consequences of not having eosinophils. *Allergy.* 2013; N 68: 829–835.

44. Weller P, Bach D, Austen K. Biochemical characterization of human eosinophil Charcot-Leyden crystal protein (lysophospholipase). *J. Biol. Chem.* 1984; N 259: 15100–15105.
45. Gleich G, Adolphson C., Leiferman K. The biology of the eosinophilic leukocyte. *Annu. Rev. Med.* 1993; N 44: 85–101.
46. Rothenberg M., Hogan S. The eosinophil. *Annu. Rev. Immunol.* 2006; N 24: 147–174.
47. Wang J., Slungaard A. Role of eosinophil peroxidase in host defense and disease pathology. *Arch. Biochem. Biophys.* 2006; Vol. 445; N 2: 256–260.
49. Henderson W., Jorg A., Klebanoff S. Eosinophil peroxidase-mediated inactivation of leukotrienes B<sub>4</sub>, C<sub>4</sub>, and D<sub>4</sub>. *J. Immunol.* 1982; N 128: 2609–2613.
50. Henderson W., Jong E., Klebanoff S. Binding of eosinophil peroxidase to mast cell granules with retention of peroxidatic activity. *J. Immunol.* 1980; N 124: 1383–1388.
51. Rosenberg H. Recombinant human eosinophil cationic protein. Ribonuclease activity is not essential for cytotoxicity. *J. Biol. Chem.* 1995; N 270: 7876–7881.
52. Domachowski J., Dyer K., Bonville C. et al. Recombinant human eosinophil-derived neurotoxin/RNase 2 functions as an effective antiviral agent against respiratory syncytial virus. *J. Infect. Dis.* 1998; N 177: 1458–1464.
53. Acharya K. R., Ackerman S. J. Eosinophil granule proteins: form and function. *J. Biol. Chem.* 2014; N 289: 17406–17415.
54. Rosenberg H., Dyer K., Foster P. Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2013; N 13: 9–22.
55. Neves J., Weller P. Functional extracellular eosinophil granules: novel implications in eosinophil immunobiology. *Curr Opin Immunol.* 2009; Vol. 21; N 6: 694–699.
56. Shimizu T. Lipid mediators in health and disease: enzymes and receptors as therapeutic targets for the regulation of immunity and inflammation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2009; N 49: 123–150.
57. Erjefalt J., Andersson M., Greiff L. et al. Cytolysis and piecemeal degranulation as distinct modes of activation of airway mucosal eosinophils. *J Allergy Clin Immunol.* 1998; Vol. 102; N 2: 286–294.
58. Erjefalt J., Greiff L., Andersson M. et al. Allergen-induced eosinophil cytolysis is a primary mechanism for granule protein release in human upper airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; Vol. 160; N 1: 304–312.
59. Cheng J., Ott N., Peterson E. et al. Dermal eosinophils in atopic dermatitis undergo cytolytic degeneration. *J Allergy Clin Immunol.* 1997; Vol. 99; N 5: 683–692.
60. Watanabe K., Mitsu T., Inoue S. et al. Cytolysis of eosinophils in nasal secretions. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2003; Vol. 112; N 2: 169–173.
61. Toyoda M., Maruyama T., Morohashi M. et al. Free eosinophil granules in urticaria: a correlation with the duration of wheals. *Am J Dermatopathol.* 1996; Vol. 18; N 1: 49–57.
62. Persson C., Erjefalt J. Eosinophil lysis and free granules: an in vivo paradigm for cell activation and drug development. *Trends Pharmacol Sci.* 1997; Vol. 18; N 4: 117–123.
63. Neves J., Radke A., Weller P. Cysteinyl leukotrienes acting via granule membrane-expressed receptors elicit secretion from within cell-free human eosinophil granules. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; Vol. 125; N 2: 477–482.
64. Neves J., Perez S., Spencer L. et al. Eosinophil granules function extracellularly as receptor-mediated secretory organelles. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; Vol. 105; N 47: 18478–18483.
65. Neves J., Perez S., Spencer L. et al. Subcellular fractionation of human eosinophils: isolation of functional specific granules on isoosmotic density gradients. *J Immunol Methods.* 2009; Vol. 344; N 1: 64–72.
66. Dunican E., Elicker B., Gierada D. et al. Mucus plugs in patients with asthma linked to eosinophilia and airflow obstruction. *J Clin Investig.* 2018; N 128: 997–1009.
67. Melo R., Weller P. Piecemeal degranulation in human eosinophils: a distinct secretion mechanism underlying inflammatory responses. *Histol. Histopathol.* 2010; N 25: 1341–1354.
68. Erjefalt J., Persson C. New aspects of degranulation and fates of airway mucosal eosinophils. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; N 161: 2074–2085.
69. Uller L., Andersson M., Greiff L. et al. Occurrence of apoptosis, secondary necrosis, and cytolysis in eosinophilic nasal polyps. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2004; N 170: 742–747.
70. Saitoh T., Komano J., Saitoh Y. et al. Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. *Cell Host Microbe.* 2012; Vol. 12; N 1: 109–116.
71. Yousefi S., Simon D., Simon H. Eosinophil extracellular DNA traps: molecular mechanisms and potential roles in disease. *Curr Opin Immunol.* 2012; N 24: 736–739.
72. Mukherjee M., Lacy P., Ueki S. Eosinophil extracellular traps and inflammatory pathologies - untangling the web!. *Frontiers in Immunology.* 2018; Vol. 9; N 2763: 1–10.
73. Urban C., Ermert D., Schmid M. et al. Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathog.* 2009; Vol. 5; N 10: 1–18.
74. Muniz V., Silva J., Braga Y. et al. Eosinophils release extracellular DNA traps in response to *aspergillus fumigatus*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2018; Vol. 141; N 2: 571–585.
75. Omokawa A., Ueki S., Kikuchi Y. et al. Mucus plugging in allergic bronchopulmonary aspergillosis: implication of the eosinophil DNA traps. *Allergol Int.* 2018; N 67: 280–282.
76. Saffari H., Hoffman L., Peterson K. et al. Electron microscopy elucidates eosinophil degranulation patterns in patients with eosinophilic esophagitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2014; Vol. 133; N 6: 1728–1734.
77. Simon D., Hoesli S., Roth N. et al. Eosinophil extracellular DNA traps in skin diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; N 127: 194–199.
78. Gevaert E., Zhang N., Krysko O. et al. Extracellular eosinophilic traps in association with *Staphylococcus aureus* at the site of epithelial barrier defects in patients with severe airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2017; N 139: 1849–1860.
79. Blanchard C., Mingler M., McBride M. et al. Periostin facilitates eosinophil tissue infiltration in allergic lung and esophageal responses. *Mucosal Immunol.* 2008; N 1: 289–296.
80. Morshed M., Yousefi S., Stockle C. et al. Thymic stromal lymphopoietin stimulates the formation of eosinophil extracellular traps. *Allergy.* 2012; N 67: 1127–1137.
81. Simon D., Radonjic-Hosli S., Straumann A. et al. Active eosinophilic esophagitis is characterized by epithelial barrier defects and eosinophil extracellular trap formation. *Allergy.* 2015; N 70: 443–452.
82. Choi Y., Pham D. L., Lee D.-H. et al. Biological function of eosinophil extracellular traps in patients with severe eosinophilic asthma. *Experimental & Molecular Medicine.* 2018; Vol. 50; N 104: P. 1–8.
83. Papayannopoulos V., Metzler K., Hakkim A. et al. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation

of neutrophil extracellular traps. J Cell Biol. 2010; Vol. 191; N 3: 677–691.

84. Kornberg R., Lorch Y. Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. Cell. 1999; Vol. 98; N 3: 285–294.

85. Robinson P., Rhodes D. Structure of the 30 nm chromatin fibre: a key role for the linker histone. Curr Opin Struct Biol. 2006; Vol. 16; N 3: 336–343.

86. Metzler K., Fuchs T., Nauseef W. et al. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity. Blood. 2011; N 117: 953–959.

#### Сведения об авторах:

Минина Е.С. – к.м.н., ассистент кафедры педиатрии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет. Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра педиатрии. E-mail: minina.e.s@mail.ru.

Новиков П.Д. – д.м.н., профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Поступила 11.01.2019 г.