



Нетозформирующая способность нейтрофилов у пациентов с ограниченным и распространенным туберкулезным процессом

А. В. МОРДЫК¹, А. Н. ЗОЛОТОВ¹, Д. Г. НОВИКОВ¹, Н. А. КИРИЧЕНКО¹, П. О. ПАХТУСОВА¹,
А. О. ПТУХИН^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Омск, РФ

² БУЗОО Клинический противотуберкулезный диспансер № 4, г. Омск, РФ

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: оценить нетозобразующую способность нейтрофилов у пациентов с ограниченным и распространенным туберкулезным процессом.

Материалы и методы. В исследование включено 44 пациента с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания. Группу 1 составили 22 пациента с ограниченным очаговым или инфильтративным туберкулезным процессом без распада легочной ткани, группу 2 – 22 пациента с распространенным туберкулезным процессом в фазе распада. Контрольную группу (группа 0) составили 22 здоровых добровольца. Определяли нетозобразующую способность *in vitro* в изолированной фракции нейтрофилов периферической венозной крови. Рассчитывали: соотношение (%) нейтрофилов разной степени активации и соотношение (%) различных форм нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ), коэффициент захвата бактерий НВЛ.

Результаты. Нетозобразующая способность нейтрофилов у пациентов групп 1 и 2 была более выраженной в сравнении с группой 0, причем в группе 2 она была максимальной. Коэффициент захвата бактерий НВЛ в группе 2 был статистически значимо ниже, чем в группе 1 ($p=0,0147$), что может указывать на некоторую степень «неполноценности» НВЛ, формируемых в группе 2.

Ключевые слова: туберкулез, нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ), нетоз.

Для цитирования: Мордык А. В., Золотов А. Н., Новиков Д. Г., Кириченко Н. А., Пахтусова П. О., Птухин А. О. Нетозформирующая способность нейтрофилов у пациентов с ограниченным и распространенным туберкулезным процессом // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2023. – Т. 101, № 3. – С. 78–86. <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2023-101-3-78-86>

NETosis-Forming Ability of Neutrophils in Patients with Limited and Disseminated Tuberculous Lesions

A. V. MORDYK¹, A. N. ZOLOTOV¹, D. G. NOVIKOV¹, N. A. KIRICHENKO¹, P. O. PAKHTUSOVA¹,
A. O. PTUKHIN^{1,2}

¹ Omsk State Medical University, Russian Ministry of Health, Omsk, Russia

² Clinical TB Dispensary no. 4, Omsk, Russia

ABSTRACT

The objective: to assess NETosis-forming ability of neutrophils in patients with limited and disseminated tuberculous lesions.

Subjects and Methods. 44 new cases of respiratory tuberculosis were included in the study. Group 1 consisted of 22 patients with limited focal or infiltrative tuberculosis with no lung tissue destruction, Group 2 included 22 patients with disseminated tuberculosis with destruction of the lung tissue. Control Group (Group 0) included 22 healthy volunteers. NETosis-forming ability was assessed *in vitro* in the isolated fraction of neutrophils from peripheral venous blood. The ratio (%) of neutrophils of different degrees of activation and the ratio (%) of various forms of neutrophil extracellular traps (NET), the bacterial capture coefficient of NEL were calculated.

Results. NETosis-forming ability of neutrophils in the patients from Groups 1 and 2 was more pronounced versus Group 0, and in Group 2 it was maximum. In Group 2, the bacterial capture rate by NET was statistically significantly lower versus Group 1 ($p=0,0147$), which may indicate some degree of «inferiority» of NET formed in Group 2.

Key words: tuberculosis, neutrophil extracellular traps (NETs) NETosis.

For citations: Mordyk A. V., Zolotov A. N., Novikov D. G., Kirichenko N. A., Pakhtusova P. O., Ptukhin A. O. NETosis-forming ability of neutrophils in patients with limited and disseminated tuberculous lesions. *Tuberculosis and Lung Diseases*, – 2023. Vol. 101, no. 3, pp. 78–86 (In Russ.) <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2023-101-3-78-86>

Для корреспонденции:
Золотов Александр Николаевич
E-mail: azolotov@mail.ru

Correspondence:
Aleksandr N. Zolotov
Email: azolotov@mail.ru

Введение

Нейтрофилы – это клетки организма, которые вступают в контакт с возбудителями инфекций в первую очередь [1,14] и осуществляют свою защитную функцию через фагоцитоз, высвобождение активных форм кислорода и дегрануляцию с выделением антибактериальных белков и протеолитических ферментов [2, 15]. Эти клетки неспецифического иммунитета также способны формировать нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) – деконденсированные нити ДНК с фиксированными на них факторами защиты (нейтрофильной эластазой, миелопероксидазой, катепсином G, протеиназой 3, дефензинами) [1, 16]. Процесс формирования нейтрофилом НВЛ (NET – Neutrophil Extracellular Traps, *англ.*) получил название «нетоз» [1, 6]. Нетоз играет важную роль в уничтожении микробов и предотвращении их диссеминации [7]. Однако избыточное формирование НВЛ может быть потенциально опасным для пациента, способствуя нарушению микроциркуляции, тромбозу, прогрессированию воспалительного процесса, разрушению соединительнотканного матрикса [3, 10]. Макрофаг, содержащий в своих фагосомах *Mycobacterium tuberculosis*, является центральной клеткой, участвующей в формировании гранулематозного процесса при туберкулезе. В последнее время растет количество публикаций, показывающих, что нейтрофилы играют определенную роль в патогенезе туберкулеза, поскольку могут способствовать повреждению легочной ткани, а также несомненно их значение на ранних этапах инфицирования МБТ [11, 12, 13]. Существуют два подхода в оценке роли нетоза. Первый – оценивает состоявшийся нетоз на основании определения в крови и других биологических жидкостях маркеров нетоза – цитруллинированного гистона H3, миелопероксидазы или других компонентов НВЛ. Такой подход сопряжен с определенными сложностями, поскольку не всегда в крови можно обнаружить высокие концентрации этих маркеров, если нетоз локализован в очаге поражения, а маркеры нетоза не покидают его и не попадают в системный кровоток. Второй подход оценивает нетозформирующую способность нейтрофила с помощью различных стимуляторов в условиях *in vitro* и носит название «индуцированный нетоз». Так, например, при ряде врожденных заболеваний нейтрофил не способен сформировать НВЛ. У таких пациентов инфекционный процесс отличается тяжелым течением. В литературе нет публикаций, посвященных оценке способности нейтрофилов у пациентов с туберкулезом легких формировать НВЛ, изученной *in vitro* при участии стимуляторов и оценивающих способность НВЛ к захвату бактерий.

Цель работы

Оценить нетозобразующую способность нейтрофилов у пациентов с ограниченным и распространенным туберкулезным процессом.

Материалы и методы

В исследование включено 44 пациента с впервые выявленным туберкулезом органов дыхания, из них 37 больных с инфильтративным туберкулезом и 7 пациентов с очаговым туберкулезом. Пациенты были разделены на 2 группы. Группу 1 составили 22 пациента с ограниченным туберкулезом легких (очаговая или инфильтративная формы с объемом поражения 2 и менее сегментов) без распада легочной ткани. Бактериовыделения у пациентов не было, ДНК *Mycobacterium tuberculosis* обнаружено у 8 пациентов молекулярно-генетическими методами, из них у 2 ДНК МБТ содержали мутации, характерные для множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). Группу 2 составили 22 пациента с инфильтративным процессом распространенностью более 2 сегментов легкого с наличием распада. Бактериовыделение в группе 2 было у всех больных, из них у 9 – МЛУ МБТ, у 2 больных – лекарственная устойчивость МБТ только к изониазиду (ЛУ (Н)). Возраст больных в группах 1 и 2 был сопоставим – $Me=39,8$ лет по медиане ($Q_1=28,4$ и $Q_3=54,7$) и $Me=42,1$ лет ($Q_1=26,9$ и $Q_3=56,1$); $p>0,05$. В группах 1 и 2 преобладали мужчины: 16 и 17 пациентов ($p>0,05$). Контрольную группу (группа 0) составили 22 здоровых добровольца сопоставимого возраста, из них 17 мужчин. Обязательными условиями перед взятием образцов крови во всех исследуемых группах было: отсутствие любой вакцинации в течение 1 месяца, 10-часовое голодание, отсутствие чрезмерных физических нагрузок накануне, отсутствие сопутствующих хронических (сахарный диабет, ВИЧ-инфекция и другие иммунодефицитные состояния) и острых заболеваний.

Изучение нетозобразующей способности изолированных нейтрофилов проводили в Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России (ЦНИЛ). Выделение нейтрофилов из венозной гепаринизированной крови начинали не позднее 30 минут с момента взятия образца. Фракцию нейтрофилов изолировали на двойном градиенте плотности фикола-верографина (плотность – 1,077 и 1,105).

Для анализа нетозобразующей способности нейтрофилов использовали оригинальную методику, разработанную в ЦНИЛ [4]. Для этого нейтро-

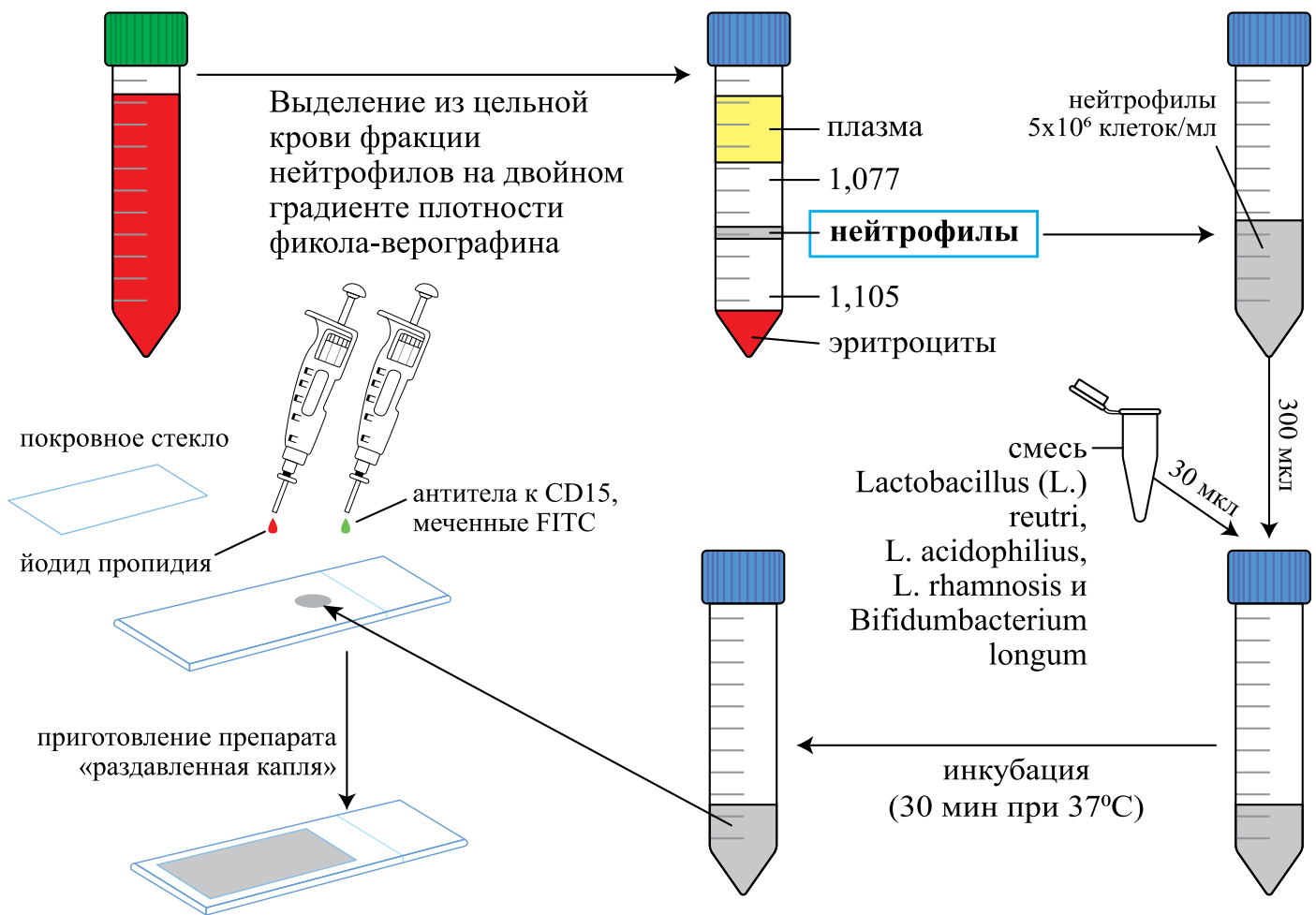


Рис. 1. Методика оценки нетозобразующей способности нейтрофилов

Fig. 1. Method for assessing NETosis-forming ability of neutrophils

филы подвергали воздействию пробиотика (препарат, содержащий смесь *Lactobacillus (L.) reutri*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosis* и *Bifidumbacterium longum*) в течение 30 мин. при 37°C. Отрицательным контролем в каждой группе служили также нейтрофилы, но инкубируемые в течение 30 мин. при 37°C с таким же объемом 0,9% NaCl. После инкубации образец нейтрофилов наносили на обезжиренное предметное стекло, добавляли моноклональные антитела к CD15, меченные FITC (Dako-Agilent, США), и ДНК-интеркалирующий краситель йодид пропидия, готовили препарат «раздавленная капля» (рис. 1).

Результат оценивали при помощи люминесцентного микроскопа Микмед-2 (Вар. 11 (ЛОМО, Россия)), используя комбинацию светофильтров, соответствующую спектрам поглощения/испускания флуоресцентных красителей. Подсчитывали процентное содержание нейтрофилов (интактных и находящихся в разной степени активации) и различных форм НВЛ. Рассчитывали коэффициент захвата ловушками бактерий – среднее количество бактерий, находящихся непосредственно в НВЛ в пересчете на одну сеть после стимуляции нейтрофилов.

Для статистической обработки данных использовалась программа STATISTICA 6.0. Проверку на нормальность распределения количественных переменных проводили с использованием теста Шапиро-Уилка (W). Количественные данные представлены в формате среднее арифметическое (M) или медианы (Me) и межквартильного размаха 25%–75% (Q_1 – Q_3). При сравнении двух независимых групп использовался U-тест Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия $p < 0,05$.

Результаты исследований

В исходных препаратах и препаратах после стимуляции нейтрофилов пробиотиком *in vitro* визуализировали следующие элементы: интактные нейтрофильные гранулоциты (клетки с прокрашенной цитолеммой, но без прокрашенного ядра) (рис. 2), активированные нейтрофилы (прокрашена цитолемма и ядро) (рис. 2), клетки раннего нетоза – гиперактивированные клетки с начальными признаками нетоза с поверхностными структурами ярко-зеленого цвета и увеличенным в размере крас-

но-оранжевым ядром с визуализируемым выходом ядерного вещества хотя бы в одной локации, но не окружающее клетку со всех сторон (рис. 2), облаковидные НВЛ (рис. 2), неструктурированная ДНК располагалась вокруг нейтрофила и нитевидные НВЛ – ловушка с сетчатой структурой, превышающая размер нейтрофила в несколько раз (рис. 2). Изменение количественного соотношения разных элементов в препаратах нейтрофилов до и после стимуляции характеризовало их нетозформирующую способность.

Нейтрофилы пациентов группы 1 и 2 после стимуляции пробиотиком продемонстрировали повышенную нетозформирующую способность (рис. 3).

При этом количество сформированных облаковидных НВЛ у пациентов группы 1 ($Me=24,6\%$; $Q_1=18,3\%$; $Q_3=27,5\%$) и группы 2 ($Me=32,1\%$; $Q_1=26,1\%$; $Q_3=46,1\%$) было значимо выше чем в группе 0 ($Me=4,8\%$; $Q_1=4,0\%$; $Q_3=7,1\%$) – $p_{1-0}=0,00005$, $p_{2-0}=0,00038$. Максимальная нетозформирующая способность нейтрофилов по количеству облаковидных НВЛ в группе 2 была на 34,5% выше, чем в группе 1 ($p=0,0209$). Количество сформированных в процессе стимуляции нитевидных НВЛ было максимальным также в группе 2 ($Me=12,2\%$; $Q_1=11,5\%$; $Q_3=18,5\%$), статистически значимо превышая значения в группе 0 ($Me=8,5\%$; $Q_1=6,9\%$; $Q_3=10,6\%$;) $p=0,0053$ и в группе 1 ($Me=5,9\%$; $Q_1=2,9\%$; $Q_3=12,6\%$) $p=0,0333$ (рис. 3). На фоне увеличения доли сформированных облаковидных и нитевидных НВЛ в группах 1 и 2, наблюдался статистически значимый прирост клеток раннего нетоза ($Me=12,3\%$; $Q_1=7,1\%$; $Q_3=15,5\%$), $p_{1-0}=0,0169$ и $Me=13,6\%$; $Q_1=9,2\%$; $Q_3=16,3\%$) $p_{2-0}=0,00098$ по отношению к группе 0, однако содержание клеток раннего нетоза в препаратах группы 1 и 2 не различалось (рис. 3).

После стимуляции минимальное содержание интактных нейтрофилов наблюдались в группе 2 ($Me=29,2\%$; $Q_1=24,8\%$; $Q_3=34,3\%$), статистически значимо отличаясь от групп 1 и 0 ($Me=40,2\%$; $Q_1=34,4\%$; $Q_3=44,4\%$; $p_{2-1}=0,0057$ и $Me=58,2\%$; $Q_1=50,8\%$; $Q_3=64,9\%$; $p_{2-0}=0,0004$), а доля интактных нейтрофилов была статистически значимо ниже в группе 1 по отношению к группе 0 ($p=0,0001$) (рис. 4). Процентное отношение активированных нейтрофилов после стимуляции пробиотиком было минимальным в группе 2 ($Me=8,9$; $Q_1=7,7$; $Q_3=10,6$), статистически значимо отличаясь от группы 1 ($Me=18,2$; $Q_1=13,4$; $Q_3=19,2$; $p_{2-1}=0,0005$) и группы 0 ($Me=21,5$; $Q_1=18,2$; $Q_3=27,1$; $p_{2-0}=0,0007$) (рис. 4).

Отрицательный контроль во всех исследуемых группах продемонстрировал отсутствие реакции нейтрофилов на добавление физиологического раствора в объеме, равном объему пробиотика. Статистически значимых различий между исследуемыми группами отрицательного контроля с физиологическим раствором NaCl обнаружено не было.

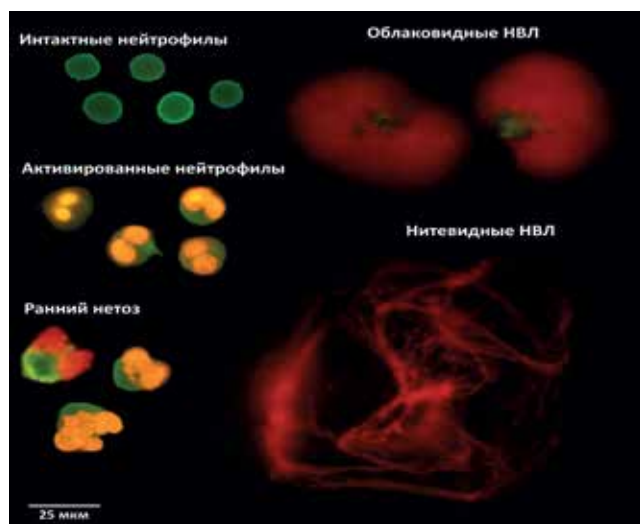
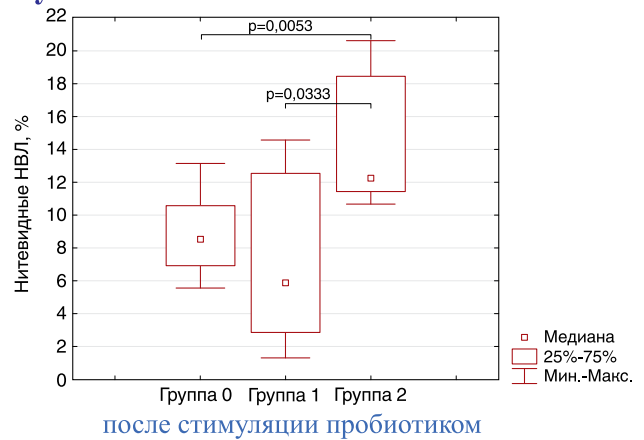
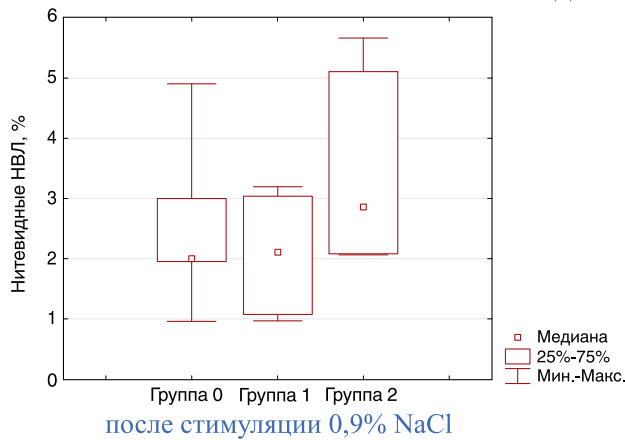


Рис. 2. Микроскопическая визуализация клеток и нейтрофильных внеклеточных ловушек.

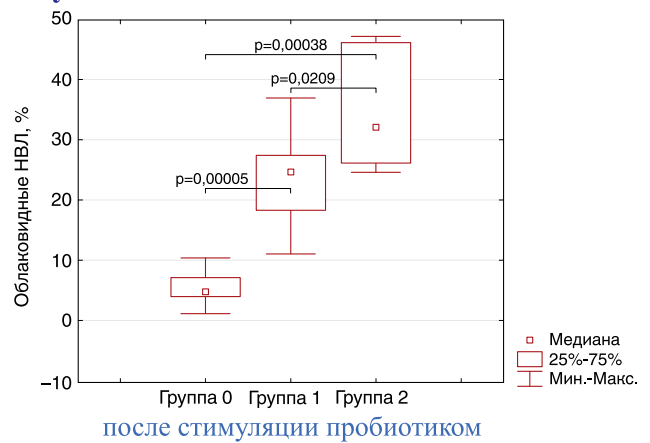
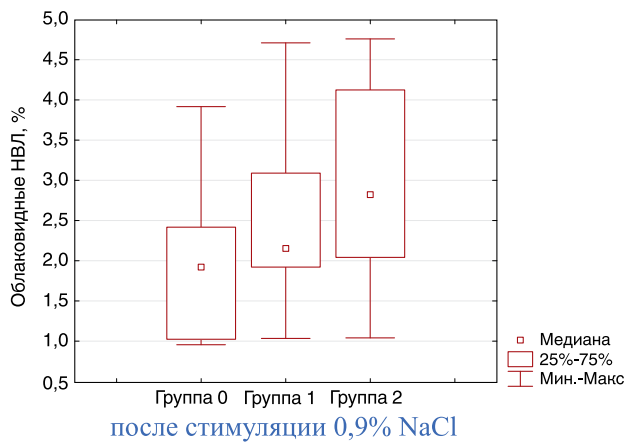
На мембране интактного нейтрофила фиксированы моноклональные антитела к CD15, меченные FITC. Интактная мембрана клетки непроницаема для йодида пропидия, поэтому ДНК ядра не окрашена. Мембрана активированного нейтрофила становится проницаемой для йодида пропидия, что способствует прокрашиванию ядра. Мембрана активированного нейтрофила контрастируется антителами к CD15, меченными FITC. **Ранний нетоз** представлен гиперактивированными клетками с начальными признаками нетоза с поверхностными структурами ярко-зеленого цвета и увеличенным в размере красно-оранжевым ядром с визуализируемым выходом ядерного вещества хотя бы в одной локации, но не окружающее клетку со всех сторон. **Облаковидная НВЛ** визуализируется в виде неструктурированных гомогенных нейтрофильных внеклеточных ловушек красно-оранжевого цвета, расположенных вокруг клетки-источника нетоза, превышающих размер клетки в 1,5–2 раза. **Нитевидная НВЛ** представлена красно-оранжевыми структурированными нитевидными нейтрофильными внеклеточными ловушками, которые превышают размер клетки более чем в 2 раза

Fig. 2. Microscopic imaging of cells and neutrophil extracellular traps. On the membrane of an intact neutrophil, monoclonal antibodies to CD15 labeled with FITC are fixed. The intact cell membrane is impermeable to propidium iodide, so nuclear DNA is not stained. The membrane of the activated neutrophil becomes permeable to propidium iodide, which contributes to nuclear staining. The activated neutrophil membrane is counterstained with anti-CD15 antibodies labeled with FITC. **Early NETosis** is represented by hyperactivated cells with initial signs of NETosis with surface structures of bright green color and an enlarged red-orange nucleus with a visualized release of the nuclear substance at least in one location but not surrounding the cell from all sides. **Cloud-like NET** is visualized in the form of unstructured homogeneous neutrophilic extracellular traps of red-orange color located around the source cell of NETosis, exceeding the cell size by 1,5–2 times. **Filamentous NET** is represented by red-orange structured filamentous neutrophilic extracellular traps which exceed the size of the cell by more than twice

Нитевидные ловушки



Облаковидные ловушки



Ранний нетоз

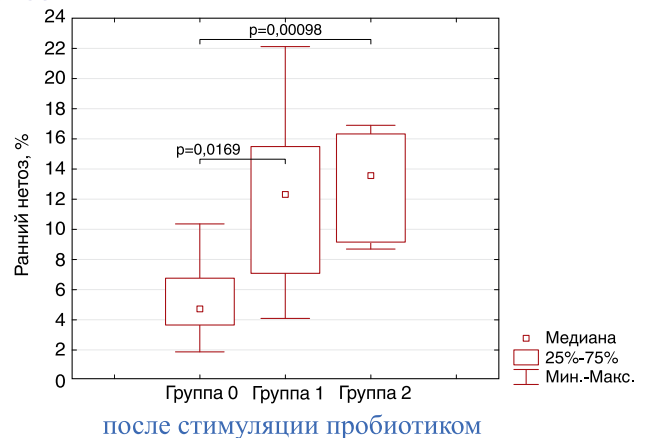
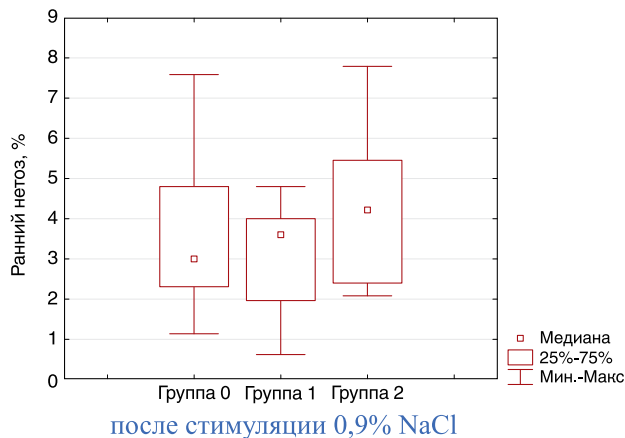


Рис. 3. Соотношение разных морфологических эквивалентов нетоза (%), визуализируемых при люминесцентной микроскопии препарата изолированных нейтрофилов крови здоровых добровольцев (группа 0), пациентов с очаговым туберкулезом легких в фазе инфильтрации (группа 1) и пациентов с инфильтративным туберкулезом легких в фазе распада (группа 2) после 30 мин. инкубации с 0,9% NaCl и 30 мин. инкубации с пробиотиком

Fig. 3. The ratio of different morphological equivalents of NETosis (%) visualized by fluorescent microscopy of isolated blood neutrophils of healthy volunteers (Group 0), patients with focal pulmonary tuberculosis in the infiltration phase (Group 1) and patients with infiltrative pulmonary tuberculosis with the lung tissue destruction (Group 2) after 30 min incubation with 0.9% NaCl and 30 min incubation with a probiotic

Таким образом, нейтрофилы, выделенные из крови пациентов группы 1 и 2, обладали более выраженной нетозформирующей активностью в ответ на стимуляцию пробиотиком в сравнении с нейтрофилами здоровых добровольцев, причем в группе 2 эта

активность была максимально выраженной. Интересно отметить, что коэффициент захвата НВЛ бактерий (объектов на одну сеть) в группе 2 ($Me=0,34$; $Q_1=0,26$; $Q_3=0,40$) был статистически значимо ниже, чем в группе 1 ($Me=0,56$; $Q_1=0,36$; $Q_3=0,66$) $p=0,0147$,

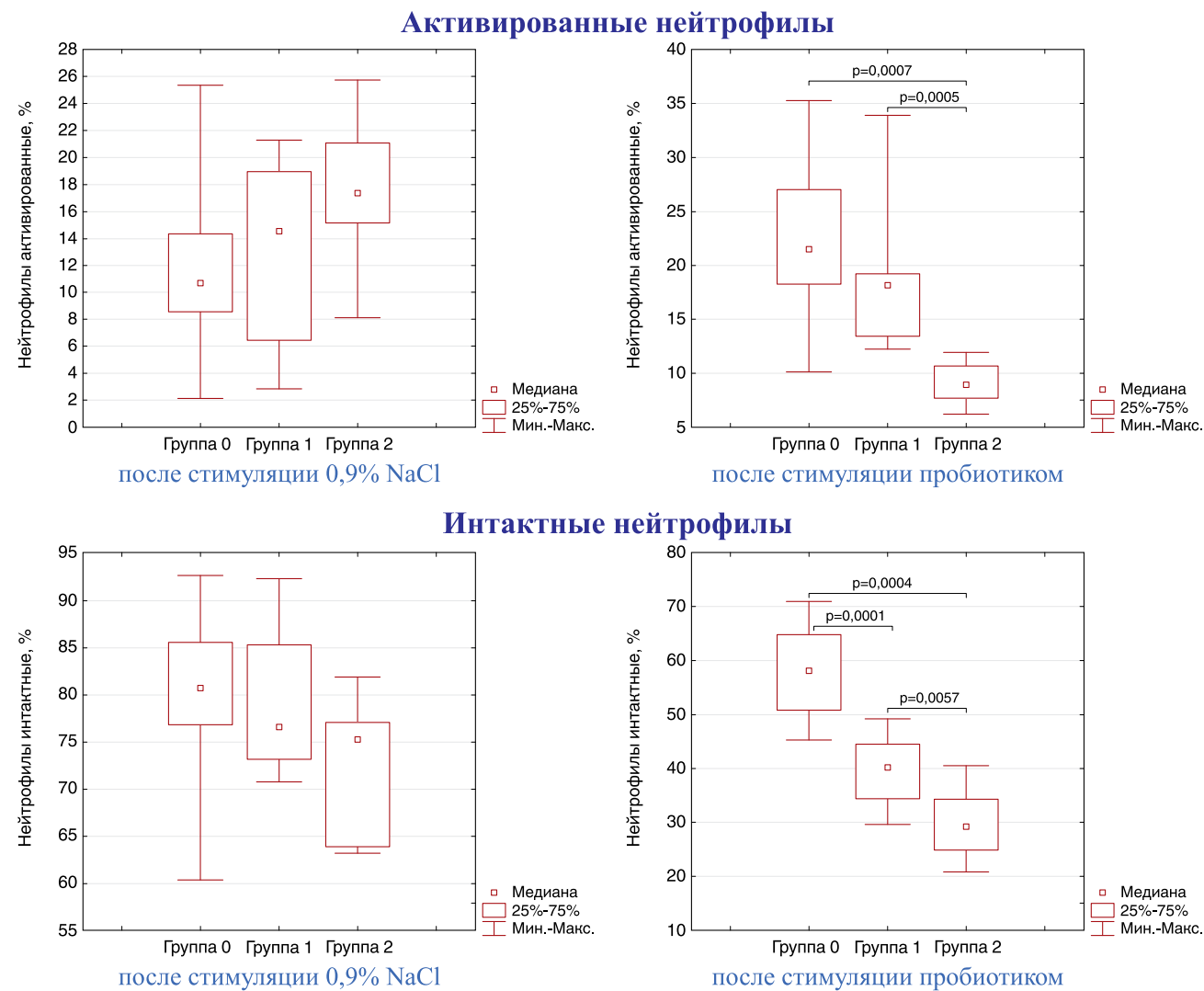


Рис. 4. Соотношение клеточных элементов (%), визуализируемых в препарате при люминесцентной микроскопии изолированных нейтрофилов крови здоровых добровольцев (группа 0), пациентов с очаговым туберкулезом легких в фазе инфильтрации (группа 1) и пациентов с инфильтративным туберкулезом легких в фазе распада (группа 2) после 30 мин. инкубации с 0,9% NaCl и 30 мин. инкубации с пробиотиком

Fig. 4. The ratio of cellular elements (%) visualized by fluorescent microscopy of isolated blood neutrophils of healthy volunteers (Group 0), patients with focal pulmonary tuberculosis in the infiltration phase (Group 1) and patients with infiltrative pulmonary tuberculosis with the lung tissue destruction (Group 2) after 30 min incubation with 0.9% NaCl and 30 min incubation with a probiotic

что может указывать на некоторую степень «не-полноценности» НВЛ, формируемых в группе 2 (рис. 5).

Обсуждение результатов

Человек, зараженный *Mycobacterium tuberculosis*, не имеет клинических проявлений, если между микобактериями и иммунным ответом хозяина формируется своеобразное равновесие, при котором бактерии находятся в состоянии покоя, латенции [5, 9]. При снижении иммунологической резистентности и/или увеличении патогенных свойств возбудителя иммунная система не может сдерживать размножение МБТ и развивается туберкулез, вызывая гибель клеток и увеличение числа и размеров гранул [5]. В разрушении гранулемы может принять

участие неспецифический клеточный иммунитет, поскольку возможен непосредственный контакт нейтрофилов с возбудителем. В исследовании Lúcia Moreira-Teixeira et al. (2020) на мышиной модели туберкулеза была показана транскрипционная активность генов активации и рекрутирования нейтрофилов. Степень транскрипционной активности генов коррелировала с тяжестью заболевания. Причем снижение эффектов гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора или генетическая восприимчивость к *M. tuberculosis* (линейные мыши СЗНеВ/FeJ) приводят к образованию НВЛ, индуцированных интерферонами, что способствует росту бактерий и, как следствие, более тяжелому течению заболевания. Кроме того, НВЛ также присутствуют в некротизированных тканях легких мышей, погибших на фоне неэффективной антибиотикоте-

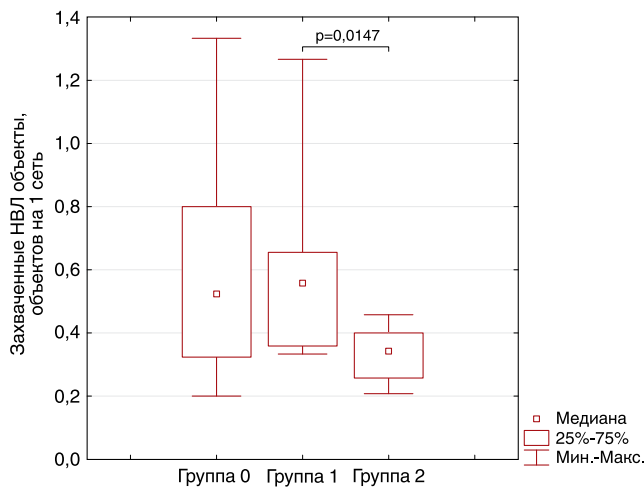


Рис. 5. Коэффициент захвата объектов нейтрофильными внеклеточными ловушками, рассчитанный в пересчете на одну сеть у здоровых добровольцев (группа 0), пациентов с очаговым туберкулезом легких в фазе инфильтрации (группа 1) и пациентов с инфильтративным туберкулезом легких в фазе распада (группа 2) после 30 мин. инкубации с 0,9% NaCl и 30 мин. инкубации с пробиотиком

Fig. 5. Coefficient of capture of objects by neutrophil extracellular traps calculated by one net in healthy volunteers (Group 0), patients with focal pulmonary tuberculosis in the infiltration phase (Group 1) and patients with infiltrative pulmonary tuberculosis with the lung tissue destruction (Group 2) after 30 min incubation with 0.9% NaCl and 30 min incubation with a probiotic

рапии, что дополнительно подтверждает роль нетоза при неблагоприятном течении туберкулеза [13]. Показано, что белки, связанные с нейтрофилами, в избытке присутствуют в некротических областях казеозных гранул, что указывает на потенциальную связь нейтрофилов с некротическим повреждением, утяжеляющим течение туберкулеза [11]. В эксперименте на линейных мышах СЗHeB/FeJ, инфицированных *Mycobacterium tuberculosis*, также показано, что нейтрофилы способствуют разрушению гранулемы, опосредованному эффектами респираторного взрыва [12]. Эти исследования позволяют предположить, что аналогичные механизмы, опосредованные нейтрофилами, могут иметь место при туберкулезе у человека.

Нейтрофил, оказавшись в очаге туберкулезного воспаления, может отреагировать на контакт с МБТ

образованием НВЛ с определенными качественными и количественными характеристиками – количество и размеры сформированных сетей, тип сетей – облаковидная или нитевидная. Стимулируя нейтрофил в условиях *in vitro*, мы имеем возможность оценить нетозоформирующий потенциал и свойства образуемой нейтрофилом НВЛ. Нейтрофил, обладающий значительным нетозобразующим потенциалом, фактически может спровоцировать усиление нетоза в очаге воспаления и способствовать появлению «нежелательных» эффектов нетоза. В нашем исследовании максимальная нетозобразующая способность нейтрофила была у пациентов с распространенным туберкулезным процессом (группа 2). При этом увеличение количества формируемых нейтрофилом сетей сопровождается снижением качества НВЛ по способности к захвату бактерий. У пациентов с распространенным туберкулезом преимущественное формирование нейтрофилами облаковидных НВЛ совпадает с меньшей эффективностью НВЛ по захвату бактерий, что может свидетельствовать о преобладании отрицательных эффектов нетоза над положительными. Полученные нами данные соотносятся с результатами исследования de Melo M. G. M. et al., которое показало, что НВЛ играют ключевую роль в неспецифическом воспалении и разрушении тканей у взрослых пациентов с туберкулезом легких, причем высокий уровень нетоза наблюдался у пациентов с тяжелыми проявлениями туберкулеза, у которых, по-видимому, нарушался внутренний контроль альтерации, вызванной образованием НВЛ [8].

Закключение

Согласно полученным данным, нетозобразующая способность нейтрофилов у пациентов с распространенным (более 2 сегментов легкого и наличием распада) туберкулезным процессом была более выраженной, а эффективность НВЛ сниженной по сравнению с пациентами при ограниченном туберкулезном процессе (очаговая или инфильтративная форма без распада, объемом поражения менее 2 сегментов легкого). Определение роли нетоза при туберкулезе легких может быть использовано для определения потенциальной мишени патогенетической терапии или для выбора биомаркеров динамики процесса.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare there is no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА

1. Долгушин И. И., Андреева Ю. С., Савочкина А. Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов. – М.: Издательство РАМН. 2009. – 208 с.

REFERENCES

1. Dolgushin I. I., Andreeva Yu. S., Savochkina A. Yu. *Nejtrofilnyye vnekletochnyye lovushki i metody otsenki funktsionalnogo statusa nejtrofilov*. [Neutrophil extracellular traps and methods for assessing the neutrophil functional state]. Moscow, Izdatelstvo RAMN Publ., 2009, 208 p.

2. Долгушин И. И., Мезенцева Е. А., Савочкина А. Ю., Кузнецова Е. К. Нейтрофил как «многофункциональное устройство» иммунной системы // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т. 9, № 1. – С. 9–38. <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-1-9-38>
3. Савочкина А. Ю., Пыхова Л. Р., Абрамовских О. С., Полторак А. Е., Четвернина Е. А. Сравнительный анализ показателей функциональной активности нейтрофилов периферической крови у больных с сепсисом в зависимости от исхода // Российский иммунологический журнал. – 2018. – Т. 12 (21). № 3. – С. 407–411. <https://doi.org/10.31857/S102872210002419-5>
4. Способ обнаружения нейтрофильных внеклеточных ловушек в суправитально окрашенном препарате крови / Новиков Дмитрий Георгиевич (RU), Золотов Александр Николаевич (RU), Кириченко Николай Александрович (RU), Мордык Анна Владимировна (RU) // Патент на изобретение 2 768 152 C1, 23.03.2022. Заявка № 2021129097 от 06.10.2021.
5. Amaral E. P., Lasunskaja E. B., D'Império-Lima MR. Innate immunity in tuberculosis: how the sensing of mycobacteria and tissue damage modulates macrophage death // *Microbes Infect.* – 2016. – № 18. – P. 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.09.005>
6. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D. S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. – 2004. – № 303. – P. 1532–5. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
7. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2007. – № 5. – P. 577–82. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1710>
8. de Melo M. G. M., Mesquita E. D. D., Oliveira M. M., Silva-Monteiro C., Silveira A. K. A., Malaquias T. S., Dutra T. C. P., Galliez R. M., Kritski A. L. and Silva E. C. Imbalance of NET and Alpha-1-Antitrypsin in Tuberculosis Patients Is Related With Hyper Inflammation and Severe Lung Tissue Damage // *Front. Immunol.* – 2019. – № 9. – P. 3147. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03147>
9. Dorhoi A., Kaufmann S. H. Versatile myeloid cell subsets contribute to tuberculosis-associated inflammation // *Eur. J. Immunol.* – 2015. – № 45. – P. 2191–202. <https://doi.org/10.1002/eji.201545493>
10. Kaplan M. J., Radic M. Neutrophil extracellular traps: double-edged swords of innate immunity // *J. Immunol.* – 2012. – № 189. – P. 2689–95. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201719>
11. Marakalala M. J., Raju R. M., Sharma K., Zhang Y. J., Eugenin E. A., Prideaux B., Daudelin I. B., Chen P. Y., Booty M. G., Kim J. H., Eum S. Y., Via L. E., Behar S. M., Barry CE 3rd, Mann M., Dartois V., Rubin E. J. Inflammatory signaling in human tuberculosis granulomas is spatially organized // *Nat. Med.* – 2016; Vol. 22, № 5. – P. 531–8. <https://doi.org/10.1038/nm.4073>
12. Marzo E., Vilaplana C., Tapia G., Diaz J., Garcia V., Cardona P. J. Damaging role of neutrophilic infiltration in a mouse model of progressive tuberculosis // *Tuberculosis (Edinb.)*. – 2014; Vol. 94, № 1. – P. 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2013.09.004>
13. Moreira-Teixeira L., Stimpson P. J., Stavropoulos E., Hadebe S., Chakravarty P., Ioannou M., Aramburu I. V., Herbert E., Priestnall S. L., Suarez-Bonnet A., Sousa J., Fonseca K. L., Wang Q., Vashakidze S., Rodriguez-Martinez P., Vilaplana C., Saraiva M., Papayannopoulos V., O'Garra A. Type I IFN exacerbates disease in tuberculosis-susceptible mice by inducing neutrophil-mediated lung inflammation and NETosis // *Nat. Commun.* – 2020. – Vol. 11, № 1. – P. 5566. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19412-6>
14. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities // *Nat. Rev. Immunol.* – 2006. – № 6. – P. 173–82. <https://doi.org/10.1038/nri1785>
15. Segal A. W. How neutrophils kill microbes // *Annu Rev Immunol.* – 2005. – № 23. – P. 197–223. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115653>
16. Yang H., Biermann M. H., Brauner J. M., Liu Y., Zhao Y., Herrmann M. New insights into neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in inflammation // *Front. Immunol.* – 2016. – № 7. – P. 302. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00302>
2. Dolgushin I. I., Mezentseva E. A., Savochkina A. Yu., Kuznetsova E. K. Neutrophil as a multifunctional relay in immune system. *Infektsiya i Immunitet*, 2019, vol. 9, no. 1, pp. 9–38. (In Russ.) <https://doi.org/10.15789/2220-7619-2019-1-9-38>
3. Savochkina A. Yu., Pykhova L. R., Abramovskikh O. S., Poltorak A. E., Chetvermina E. A. Comparative analysis of the indicators of the functional activity of neutrophils peripheral blood in patients with sepsis depending on the outcome. *Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal*, 2018, vol. 12 (21), no. 3, pp. 407–411. (In Russ.) <https://doi.org/10.31857/S102872210002419-5>
4. Sposob obnaruzheniya neytrofilnykh vnekletochnykh lovushek v supravitalno okrashennom preparate krovi. [Method for detection of neutrophil extracellular traps in supravital stained blood specimens]. Dmitry G. Novikov (RU), Alexander N. Zolotov (RU), Nikolay A. Kirichenko (RU), Anna V. Mordyk (RU). Patent no. 2 768 152 C1, 23.03.2022. Application no. 2021129097 dated 06.10.2021.
5. Amaral E. P., Lasunskaja E. B., D'Império-Lima M. R. Innate immunity in tuberculosis: how the sensing of mycobacteria and tissue damage modulates macrophage death. *Microbes Infect.*, 2016, no. 18, pp. 11–20. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.09.005>
6. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D. S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 2004, no. 303, pp. 1532–5. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
7. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2007, no. 5, pp. 577–82. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1710>
8. de Melo M. G. M., Mesquita E. D. D., Oliveira M. M., Silva-Monteiro C., Silveira A. K. A., Malaquias T. S., Dutra T. C. P., Galliez R. M., Kritski A. L. and Silva E. C. Imbalance of NET and Alpha-1-Antitrypsin in Tuberculosis Patients Is Related With Hyper Inflammation and Severe Lung Tissue Damage. *Front. Immunol.*, 2019, no. 9, p. 3147. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03147>
9. Dorhoi A., Kaufmann S. H. Versatile myeloid cell subsets contribute to tuberculosis-associated inflammation. *Eur. J. Immunol.*, 2015, no. 45, pp. 2191–202. <https://doi.org/10.1002/eji.201545493>
10. Kaplan M. J., Radic M. Neutrophil extracellular traps: double-edged swords of innate immunity. *J. Immunol.*, 2012, no. 189, pp. 2689–95. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1201719>
11. Marakalala M. J., Raju R. M., Sharma K., Zhang Y. J., Eugenin E. A., Prideaux B., Daudelin I. B., Chen P. Y., Booty M. G., Kim J. H., Eum S. Y., Via L. E., Behar S. M., Barry C. E. 3rd, Mann M., Dartois V., Rubin E. J. Inflammatory signaling in human tuberculosis granulomas is spatially organized. *Nat. Med.*, 2016, vol. 22, no. 5, pp. 531–8. <https://doi.org/10.1038/nm.4073>
12. Marzo E., Vilaplana C., Tapia G., Diaz J., Garcia V., Cardona P. J. Damaging role of neutrophilic infiltration in a mouse model of progressive tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb.)*, 2014, vol. 94, no. 1, pp. 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2013.09.004>
13. Moreira-Teixeira L., Stimpson P. J., Stavropoulos E., Hadebe S., Chakravarty P., Ioannou M., Aramburu I. V., Herbert E., Priestnall S. L., Suarez-Bonnet A., Sousa J., Fonseca K. L., Wang Q., Vashakidze S., Rodriguez-Martinez P., Vilaplana C., Saraiva M., Papayannopoulos V., O'Garra A. Type I IFN exacerbates disease in tuberculosis-susceptible mice by inducing neutrophil-mediated lung inflammation and NETosis. *Nat. Commun.*, 2020, vol. 11, no. 1, pp. 5566. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19412-6>
14. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006, no. 6, pp. 173–82. <https://doi.org/10.1038/nri1785>
15. Segal A. W. How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol.*, 2005, no. 23, pp. 197–223. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.23.021704.115653>
16. Yang H., Biermann M. H., Brauner J. M., Liu Y., Zhao Y., Herrmann M. New insights into neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in inflammation. *Front. Immunol.*, 2016, no. 7, pp. 302. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00302>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России,
Кафедра фтизиатрии, пульмонологии
и инфекционных болезней
644099, Россия, г. Омск, ул. Ленина, д. 12

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Department of Phthisiology, Pulmonology
and Infectious Diseases, Omsk State Medical University,
Russian Ministry of Health
12, Lenina St., Omsk, Russia, 644099

Мордык Анна Владимировна

Д.м.н., профессор, заведующая кафедрой фтизиатрии,
пульмонологии и инфекционных болезней
Тел.: +7 (913) 649-21-19
E-mail: amordik@mail.ru
ID ORCID: 0000-0001-6196-7256

Птухин Александр Олегович

Очный аспирант 1-го года обучения, врач-фтизиатр
БУЗОО Клинический противотуберкулезный
диспансер № 4
Тел.: +7 (923) 038-08-91
E-mail: ptuhin.alexandr@mail.ru
ID ORCID: 000-0002-2830-161X

ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России,
Центральная научно-исследовательская лаборатория
644001, Россия, г. Омск, ул. 20 лет РККА, д. 15/1

Золотов Александр Николаевич

К.м.н., старший научный сотрудник
Тел.: +7 (913) 977-77-96
E-mail: azolotov@mail.ru
ID ORCID: 0000-0002-6775-323X

Новиков Дмитрий Гергиевич

К.м.н., доцент,
заведующий ЦНИЛ
Тел.: +7 (906) 991-80-88
E-mail: novikov.dm.omsk@gmail.com
ID ORCID: 0000-0002-4339-2222

Кириченко Николай Александрович

Младший научный сотрудник
Тел.: +7 (909) 536-96-68
E-mail: honomer_1608@mail.ru
ORCID: 0000-0002-8411-0973

Пахтусова Полина Олеговна

Младший научный сотрудник
Тел.: +7 (923) 035-57-47
E-mail: ppahtusova@gmail.com
ORCID: 0000-0001-6616-0152

Anna V. Mordyk

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Department
of Phthisiology, Pulmonology and Infectious Diseases
Phone: +7 (913) 649-21-19
Email: amordik@mail.ru
ID ORCID: 0000-0001-6196-7256

Aleksandr O. Ptukhin

Full Time Post-Graduate Student
Phthisiologists
of Clinical TB Dispensary no. 4
Phone: +7 (923) 038-08-91
Email: ptuhin.alexandr@mail.ru
ID ORCID: 000-0002-2830-161X

Central Research Laboratory,
Omsk State Medical University, Russian Ministry of Health
15/1, 20 Let RKKA St., Omsk, Russia, 644001

Aleksandr N. Zolotov

Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher
Phone: +7 (913) 977-77-96
Email: azolotov@mail.ru
ID ORCID: 0000-0002-6775-323X

Dmitry G. Novikov

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor,
Head of Central Research Laboratory
Phone: +7 (906) 991-80-88
Email: novikov.dm.omsk@gmail.com
ID ORCID: 0000-0002-4339-2222

Nikolay A. Kirichenko

Junior Researcher
Phone: +7 (909) 536-96-68
Email: honomer_1608@mail.ru
ORCID: 0000-0002-8411-0973

Polina O. Pakhtusova

Junior Researcher
Phone: +7 (923) 035-57-47
Email: ppahtusova@gmail.com
ORCID: 0000-0001-6616-0152

Поступила 04.02.2023

Submitted as of 04.02.2023