

## Сучасні погляди на роль нейтрофілів в імунній відповіді

Т.І. Гавриленко<sup>1</sup>, Н.О. Рижкова<sup>1</sup>, О.М. Пархоменко<sup>1</sup>, О.В. Довгань<sup>1</sup>,  
Н.В. Довгань<sup>1</sup>, О.М. Пасічніченко<sup>2</sup>, С.М. Бабій<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ДУ ННЦ «Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска» НАМН України;

<sup>2</sup>Київський національний університет ім. Тараса Шевченка; e-mail: tala.ruzh@gmail.com

*В огляді наведено відомості про нейтрофіли, які є важливими ефекторними клітинами вродженої імунної відповіді та утворюють першу лінію захисту від інфекції. Висвітлено питання дозрівання і функціональної активності клітин. Показані етапи життєдіяльності нейтрофілів – міграція, хемотаксис, адгезія, кисневий вибух, поглинання, дегрануляція, апоптоз. Особливу увагу приділено нейтрофільним позаклітинним пасткам і значенню мієлопероксидази. Нині ці клітини все активніше розглядаються як потенційний біомаркер зі специфічними методами лікування.*

*Ключові слова: нейтрофіли; імунна відповідь; імунокомпетентні клітини.*

Нейтрофіли є важливими ефекторними клітинами вродженої імунної відповіді, утворюючи першу лінію захисту від інфекції. На їхню виняткову роль у протиінфекційному імунитеті і запальному процесів перше вказав І.І. Мечников творець фагоцитарної теорії імунітету – в своїй доповіді «Про цілющі сили організму» на з'їзді натуралістів в Одесі в 1883 р. Нейтрофіли – найбільш численні типи вроджених імунних клітин, їх число сягає 50–70% від циркулюючих лейкоцитів. Щоденно у кістковому мозку утворюється  $5 \cdot 10^{10}$  –  $10 \cdot 10^{10}$  нових нейтрофілів. Здебільшого вони знаходяться в кістковому мозку: в фізіологічних умовах в кровотоці перебуває менше ніж 2% клітин. Більшість нейтрофілів ніколи не вивільняються у кровотік і фагоцитуються кістковомозковими макрофагами. Кістковий мозок містить у 30 разів більше нейтрофілів, ніж периферична кров. Надлишок їх у кістковому мозку забезпечує буфер щодо виснаження цих клітин і дає змогу організму реагувати на різні зміни їх масивним викидом. У периферичній крові нейтрофіли мають короткий період напіврозпаду (близько 6–8

год у людини і 11 год у мишей). В основі захисної функції нейтрофілів лежить фагоцитарний процес, який полягає в їх здатності пізнавати, поглинати, вбивати і перетравлювати мікробні клітини. При стимуляції нейтрофіли продукують комплекс хемокінів, медіаторів, про- і протизапальних цитокінів, що активують інші клітини імунної системи. Вони також роблять значний внесок у пошкодження тканин при таких гострих захворюваннях, як гострий інфаркт міокарда, гострі ушкодження легенів, а також при хронічних захворюваннях: ревматоїдний артрит, хронічна обструктивна хвороба легень, астматошо[1–4].

При активації вродженого імунітету використовуються рецептори на поверхні клітин, які реагують на досить обмежену кількість молекулярних патернів, характерних для патогенних організмів. Залучення цих рецепторів швидко запускає внутрішньоклітинний сигнальний каскад, який призводить до вироблення прозапальних цитокінів, ліпідів і різних мікробіцидних речовин. Члени цих «рецепторів розпізнавання образів» включають, перш за все,

© Т.І. Гавриленко, Н.О. Рижкова, О.М. Пархоменко, О.В. Довгань, Н.В. Довгань, О.М. Пасічніченко, С.М. Бабій

Toll-подібні рецептори (TLR). Ліганди для цих рецепторів включають бактеріальні пептидоглікани, ендотоксини та інші компоненти мікробної клітинної стінки, ліпопротеїни, білки теплового шоку тощо [5]. Активація TLR-2, -4, -7 і -9 на нейтрофілах призводить до збільшення ними фагоцитозу апоптотичних клітин і істотно посилюється під впливом фактора некрозу пухлин  $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) і гранулоцитарномоноцитарного колонієстимулюючого фактора. Це відіграє важливу роль у виведенні апоптотичних нейтрофілів у місці запалення, що спостерігається, наприклад, при ревматоїдному артриті та інших системних захворюваннях [6]. Мітохондріальні DAMPs (від англ. danger-associated molecular patterns), що виділяються при пошкодженні, зокрема форміл-пептиди і мітохондріальна ДНК, активують нейтрофіли через рецептор до форміл-пептиду-1 і TLR-9, відповідно, і стимулюють виділення ними  $\text{Ca}^{2+}$  і фосфорилляції мітогенактивованих протеїнкіназ-кіназ. Це спричинює міграцію фагоцитів і їх дегрануляцію як *in vitro*, так і *in vivo*. Таким чином, мітохондріальні DAMPs можуть викликати системну запальну відповідь і нейтрофілзалежне пошкодження органів [7].

Деструктивний потенціал нейтрофілів потребує жорсткого контролю їх рекрутування в тканини. У місцях запалення зазвичай є велика кількість різних хемоатрактантів. Вважається, що таким чином перекриваються сигнали рекрутування нейтрофілів у надмірній кількості для швидкого і точного досягнення місця інфекції. Вивільнення цих клітин з кісткового мозку – швидкий спосіб збільшення кількості циркулюючих клітин, доступних для рекрутування в тканини у відповідь на інфекцію, пошкодження або запалення. Нещодавно було виявлено, що вихід нейтрофілів з кісткового мозку в периферичну кров антагоністично регулюється рецепторами хемокінів CXCR2 і CXCR4, які експресуються на цих клітинах. У той час як CXCR4 утримує клітини у

кістковому мозку, CXCR2 полегшує їх вивільнення. Основним джерелом ліганда CXCR4 SDF-1 (CXCL12) у кістковому мозку є остеобласти, тоді як лігандів CXCR2 KC (CXCL1) і MIP-2 (CXCL2) – ендотеліальні клітини. У цьому постійному протистоянні між лігандами SDF-1 і CXCR2 перший зазвичай домінує, утримуючи більшість нейтрофілів у кістковому мозку. При гострому запаленні мобілізація їх з кісткового мозку координується, переважно, гематопоетичним цитокином G-CSF (від англ. granulocyte-colony stimulating factor), який змінює баланс між CXCR2 і CXCR4 у напрямку CXCR2 [8–10]. Крім медіаторів, що продукуються і перебувають у кістковому мозку, запальні медіатори, котрі вивільняються в периферичних тканинах, можуть також проникати в кістковий мозок і модулювати вихід нейтрофілів. Хемокіни також діють локально, викликаючи рекрутування клітин у периферичну тканину, а на відстані викликають їх мобілізацію з кісткового мозку. Порушення гомеостазу тканини розпізнається або «професійними» резидентними тканинними клітинами, такими як макрофаги і опасиситі клітини або стромальними клітинами. Група різноманітних стимулів, особливо молекул, асоційованих з патогеном (PAMP – від англ. pathogen-associated molecular patterns) і молекул, асоційованих з пошкодженням (DAMP), активує ці клітини для вивільнення прозапальних медіаторів (наприклад, інтерлейкін- $1\beta$  – IL- $1\beta$  і фактор некрозу пухлин  $\alpha$  – ФНП- $\alpha$ ) і нейтрофілактивних хемоатрактантів. Ці медіатори ініціюють залучення нейтрофілів у тканини різними шляхами [8, 11]. Спектр хемоатрактантів великий і різноманітний. За походженням їх можна об'єднати в кілька груп: 1) цитокини – хемокіни, прозапальні цитокини; 2) фактори плазми – похідні системи комплементу (особливо активний C5a), згортання, фібринолізу і кініноутворення, фрагменти імуноглобулінів; 3) похідні мембранних фосфоліпідів – фактор активації тромбоцитів, ейкозаноїди; 4) похідні поза-

клітинного матриксу – продукти деградації колагену, ламініну тощо; 5) мікробні продукти [1].

Багато медіаторів, що вивільняються самими нейтрофілами, є хемоатрактантами. Отже, вони можуть залучати інші клітини. Наприклад, при артриті, викликаному імунним комплексом, рекрутування нейтрофілів самими ними в суглоб має вирішальне значення для розвитку артриту. Тут у суглобі вони вивільняють лейкотрієни, ІЛ-1 $\beta$ , а також МІР-1 $\alpha$  і МІР-2 (від англ. macrophage inflammatory proteins) [12]. Нейтрофіли не тільки сприяють залученню інших клітин до місця запалення, але і визначають розвиток гострої запальної реакції від переважно нейтрофільного інфільтрату до моноцитарного, і, нарешті, вони також сприяють вирішенню запалення [8, 13–15].

Більшість реакцій, в яких беруть участь нейтрофіли, відбуваються в тканинах. Тому адгезивність, тобто здатність прикріплюватися до певних субстратів і затримуватися на них, має принципове значення в роботі цих клітин [16]. У природних умовах це яскраво проявляється при взаємодії лейкоцитів і ендотелію. Адгезія на ендотеліоцитах передуює виходу клітин із судинного русла і різко посилюється в осередках запалення. Це пов'язано з активацією ендотеліальних клітин, яка супроводжується гіперекспресією рецепторів, відповідальних за адгезивні контакти з лейкоцитами (селектини, інтегрини і їх ліганди). Без адгезії на ендотелоцитах фагоцитарні реакції не мають продовження. Активне переміщення по поверхні відноситься до числа характерних ознак нейтрофілів. Несимпульовані клітини мають округлу форму, не виявляючи амебоїдної рухливості. Стимульовані клітини розпластуються, утворюють псевдоподії і починають рухатися. Такий різновид руху називають випадковою міграцією, або хемокінез. Інша картина спостерігається при хемотаксисі, тобто при русі в напрямку стимулюючих агентів-хемоатрактантів. Хемотаксис визначається

низкою механізмів, включаючи адгезивні контакти, рецепторний апарат, медіаторні сигнали, скорочення внутрішньоклітинних «м'язів», закріплення вектора руху. Умовою для хемотаксису є поступове підвищення концентрації хемоатрактанта під час міграції клітини. Рухи нейтрофілів відбуваються завдяки актиновим мікрофіламентам, які по клітинній периферії скріплені з цитоплазматичною мембраною, тому їх скорочення змінюють конфігурацію клітини і формування псевдоподій [1].

Наблизившись до ендотелію, нейтрофіли вступають у послідовність фізичних взаємодій з ендотеліальними клітинами, що називають каскадом адгезії лейкоцитів. Останній складається з основних трьох етапів: перекочування, активація і зупинка, за якими настає діapedез (трансміграція через ендотелій). Хоча каскад адгезії зворотний процес і може бути зупинений в будь-який момент, трансміграція незворотна. Перший етап, перекочування (rolling) опосередкований переважно селектинами. МАС-1 ( $\alpha$ М $\beta$ 2-інтегрин) і  $\beta$ 2-інтегрини LFA-1 ( $\alpha$ L $\beta$ 2-інтегрин) опосередковують адгезію і подальше переміщення клітин до оптимальної анатомічної ділянки для трансміграції. Нейтрофіли можуть мігрувати парацелюлярним або трансклітинним шляхом, тобто або через з'єднання між ендотеліальними клітинами, або через ендотеліальну клітину. Перший вважається найбільш імовірним маршрутом. Структурний склад базальної мембрани судин відрізняється в певних анатомічних ділянках. Особливо на ранніх стадіях запальних реакцій ці відмінності можуть впливати на здатність клітин проникати в ділянку запалення. Трансміграція також може змінювати фенотип нейтрофілів і стимулювати їх функції в периферичних тканинах [8, 17].

Різна ступінь активації, поляризації або дозрівання дає змогу розділити клітин на різні субпопуляції і лежить в основі концепції гетерогенності нейтрофілів [18]. Існування

трьох популяцій на основі їх експресії TLR, CD49d або CD11b було описано в 2004 р. [19]. Глікопротеїн CD177 клітинної поверхні є ще одним маркером нейтрофілів, який експресується на більшості периферичних клітин у нормальних умовах і активується при бактеріальній інфекції або запаленні. Було показано, що CD177<sup>+</sup> – нейтрофіли генерують низький вміст запальних цитокінів, але проявляють підвищену бактерицидну активність і продукують величезну кількість активних форм кисню (АФК) і мієлопероксидази [20]. Так звані гранулоцити низької щільності ефективні для генерації нейтрофільних позаклітинних пасток (НПП) і були описані як запальні підвиди нейтрофілів [21, 22].

Щільність клітин визначається наявністю цитоплазматичних гранул. Виявлено два домінуючих типи гранул: азурофільні (або первинні) і специфічні (або вторинні). Також у них є желатинозні (або третинні) гранули і секреторні везикули. Суттєвою особливістю азурофільних гранул є наявність мієлопероксидази. Крім неї тут знаходяться нейтральні протеїнази (катепсини G, еластаза, протеїназа-3), група серинових протеаз, дефензіни, лізоцим. Специфічні гранули містять  $\beta 2$ -інтегрини, колагеназу, лактоферин, лужну фосфатазу, а також компоненти НАДФ-оксидазної системи, зокрема флавоцитохром b558. Желатинозні гранули мають у своєму складі желатиназу, що розщеплює колаген IV і V типів,  $\beta 2$ -інтегрини. Гранули формуються в процесі гранулопоєзу при переході нейтрофілів від мієлобластів до промієлоцитів і у спокійному стані рівномірно розподілені в цитоплазмі клітини. При активації вони мобілізуються, найбільш швидко – секреторні везикули і желатинозні гранули, потім специфічні, останніми – азурофільні гранули. Одним із важливих наслідків активації нейтрофілів є дегрануляція, яка може відбуватись у вигляді ендоцитозу і екзоцитозу. У першому випадку мембрани гранул зливаються з мембраною

фагосоми і їх вміст надходить у фагосому. При екзоцитозі мембрани гранул зливаються з зовнішньою цитоплазматичною мембраною і стають її частиною. Це є способом відновлення зовнішньої поверхні клітини і постачання відсутніми ферментами і рецепторним апаратом. Основним джерелом відновлення цитоплазматичної мембрани є секреторні везикули – швидко мобілізуються і багаті рецепторним апаратом. Їх мобілізація і екзоцитоз відбуваються при активації клітин під впливом цитокінів або при переміщенню нейтрофілів на ендотелії судин. В останньому випадку забезпечується експресія  $\beta 2$ -інтегринів (CD11b/CD18) на поверхні клітини і її міцний контакт з рецепторною молекулою ендотелію ICAM-1. Важливу роль у дегрануляції відіграє внутрішньоклітинний Ca<sup>2+</sup>, оскільки підвищення його вмісту викликає екзоцитоз гранул у різних типах клітин [1, 23, 24].

Нейтрофіл елімінує патогени і клітинний детрит переважно через опсонізацію. Фагоцитоз опсонізованих частинок відбувається двома шляхами: через Fc $\gamma$ -рецептори для імуноглобулінів G і через рецептори до комплементу. Бактерії, поглинуті різними механізмами, потрапляють в нішу фагосом, оточену плазматичною мембраною. Гранули зливаються з фагосомою послідовно: 1) желатинази (первинні), 2) специфічні (вторинні) і 3) азурофільні (третинні) гранули. Желатинази і специфічні гранули містять у своїх мембранах флавоцитохром, який переміщується на фагосомну мембрану. Гранули виливають свій закиснений вміст у фагосому. В нейтрофілах рН фагосом залишається близьким до нейтрального (6,5–7,0). Це оптимальний діапазон для нейтрофільних протеаз. Підтримка нейтрального фагосомного рН у клітинах відбувається через залуження, викликаного НАДФ-оксидазою. Після зв'язування з рецепторами нейтрофіли захоплюють частинки і формують фагосому, після чого запускається бактерицидна функція клітини за участю ферментів і НАДФ-окси-

дазної системи. Основними стимулюючими факторами механізмів активації НАДФН-оксидази є цитокіни – трансформуючий фактор росту (TGF-1 $\beta$ ), ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , пептидні фактори росту (PDGF, EGF, VEGF, bFGF і інсулін), агоністи G-протеїнів зв'язуючих рецепторів – ангіотензин II, тромбін, ендотелін-1, серотонін, лізофосфотидинова кислота, сфингозин-1-фосфат, гістамін, брадикінін, патогенасоційовані молекулярні структури інфекційних агентів, що активують TLR [25].

НАДФ-оксидаза (Nox2 чи phox) нейтрофілів належить до групи немітохондріальних ензимів, що каталізують утворення супероксидного аніона ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) у реакції одоелектронного відновлення кисню. Основним компонентом НАДФ-оксидази є флавоцитохром b558 – міцний гетеродимер, що складається з gp91phox і p22 phox. У неактивованих нейтрофілах флавоцитохром b558 переважно зв'язаний з мембраною специфічних і секреторних гранул. Інші компоненти (білки p47 phox, p67 phox і p40 phox) знаходяться в цитоплазмі, переходячи в мембрану при стимуляції клітини. Активована НАДФ-оксидаза транспортує електрони з НАДФ і запускає процес утворення АФК, який у нейтрофілах називають «кисневим вибухом». Причому цей процес не пов'язаний з підвищеним споживанням кисню мітохондріями. Реакції кисневого вибуху не є системою життєзабезпечення нейтрофілів на відміну від інших клітин. Цим шляхом вони здійснюють свої ефекторні функції. Внаслідок перенесення першого електрона до молекули кисню утворюється супероксид-аніон ( $\bullet\text{O}_2^-$ ). Останній є похідним низки АФК, що мають мікробіцидні властивості. Цей кисневий радикал високореактивний, але нестабільний і швидко перетворюється в  $\text{H}_2\text{O}_2$  спонтанно або за наявності супероксиддисмутази.  $\text{H}_2\text{O}_2$  має низький окисний потенціал, може досягти поглинений патоген і взяти участь у деструкції вітальних молекул через окиснення. Каталаза розкладає  $\text{H}_2\text{O}_2$  на воду і молекулярний кисень. Однак реактивність

$\text{H}_2\text{O}_2$  не дає оптимального антимікробного ефекту. Сама по собі вона не дуже токсична, але, по-перше, взаємодія з  $\bullet\text{O}_2^-$  призводить до утворення високореактивного гідроксильного радикала ( $\bullet\text{OH}$ ), а по-друге – перекис водню є субстратом для мієлопероксидази. Будучи високо катіонним білком, остання зв'язується з негативно зарядженою поверхнею мікроба і реагує з  $\text{H}_2\text{O}_2$ , переносячи кисень на галогени, перш за все хлор. Утворюється високо реактивна сполука – гіпохлорна кислота і синглетний кисень, що також має бактерицидні властивості [23, 26].

Мієлопероксидаза (К.Ф.1.11.1.7.) була виділена з лейкоцитів у 1941 р. Agner [8]. У найбільшій кількості вона міститься в нейтрофілах – основних клітинах вродженого імунітету, становлячи близько 5% всього об'єму клітини. Мієлопероксидаза з'являється на рівні промієлоцитів в азурофільних гранулах і виділяється після активації різними агоністами. Цей фермент відноситься до факторів, вміст яких не залежить від стимуляції клітини, а цілком визначається кількістю речовини, синтезованого в процесі гранулопоезу. У моноцитах мієлопероксидаза формується в кістковому мозку на рівні промоноцитів, рідко визначається в зрілих моноцитах і практично зникає при перетворенні моноцитів у тканинні макрофаги. В самих макрофагах та інших клітинах організму вона відсутня. У азурофільних гранулах мієлопероксидаза знаходиться в неактивному стані до активації нейтрофіла і відсутності перекису водню – її основного субстрату, що виділяється *in vivo* при «дихальному вибуху». В активованих нейтрофілах у процесі дегрануляції мієлопероксидаза вивільняється у фагосому разом з іншими ферментами, зокрема, з НАДФ-оксидазою, яка продукує  $\bullet\text{O}_2^-$  [27, 28].

Продукти, що утворюються в результаті цих перетворень, є сильними окиснювачами (зокрема, гіпохлорна кислота), реактивними похідними азоту і вільними радикалами, які ініціюють перекисне окиснення ліпідів

і здійснюють модифікацію білків. Утворені хлораміни існують тривалий час, забезпечуючи таким чином пролонгацію оксидантної активності пероксидазної системи і проникнення мієлопероксидазозалежних оксидантів у біологічні рідини на великі відстані в умовах, коли більш реактивні продукти швидко видаляються. Окиснення гіпохлорною кислотою тирозину призводить до утворення 3-хлортироzinу, що є високоспецифічним маркером системи мієлопероксидаза-гіпохлорна кислота. Остання бере участь в окиснювальній модифікації антиоксидантних ферментів і пригнічує ферменти пентозофосфатного шляху, що супроводжується окиснювальною модифікацією білків і перекисним окисненням мембранних ліпідів. Мієлопероксидаза і  $H_2O_2$  також можуть окиснювати тирозин прямо, тобто без хлоридів, формуючи тирозильні радикали, що реагують з  $\bullet O_2^-$ , формуючи тирозинпероксид. 3-Хлортироzin, за даними деяких дослідників, може визначатися в атеросклеротичних бляшках, в бронхоальвеолярному лаважі у хворих з гострими респіраторними захворюваннями [27, 29, 30]. Крім того, фізіологічним субстратом мієлопероксидази може служити також оксид азоту (NO), який є продуктом індукційної NO-синтази (iNOS), що міститься в нейтрофілах. NO реагує з  $\bullet O_2^-$ , формуючи пероксинітрил ( $ONOO^-$ ), окиснює білкові і небілкові сульфгідрильні групи. Окиснення нітритів не є основним джерелом оксидантів у фагосомі, але може відбуватися при виділенні мієлопероксидази і  $H_2O_2$  в позаклітинний простір. Парадоксально, але токсичність мієлопероксидаза –  $H_2O_2$ -хлоридної системи відзначено зниженням вмісту нітритів, як результат взаємодії нітритів і гіпохлорної кислоти. Надалі нітрити або продукти їх окиснення можуть зв'язуватися з мієлопероксидазою, модулюючи її активність. Утилізуючи атеропротективний NO, мієлопероксидаза бере участь у розвитку ендотеліальної дисфункції, акумуляції пі-

нистих клітин в артеріальній стінці і, ймовірно, здатна провокувати нестабільність атеросклеротичної бляшки [27, 31]. Як висококатіонний білок вона може зв'язуватися з електронегативними поверхнями, такими як ендотеліальна стінка, ліпопротеїни або протеоглікани. Серед біомолекулярних мішеней мієлопероксидази слід відмітити ліпопротеїни крові, особливо аполіпопротеїн В-100 – основний ліпопротеїн низької щільності. Мієлопероксидаза швидко абсорбується на їх поверхні, сприяючи формуванню окиснених ліпопротеїнів [29, 32]. Мішенню цього ферменту є не тільки АпоВ-100, але і аполіпопротеїн А1 (апоА1) ліпопротеїн високої щільності. Окиснюючи цей ліпопротеїн, мієлопероксидаза знижує його атеропротективні функції. Модифікований апоА1 менш ефективний у стимулюванні ефлюксу холестерину і швидко деградує макрофагами [32–35].

Під час запалення мієлопероксидаза, що вивільняється циркулюючими лейкоцитами, накопичується в субендотеліальному матриксі за допомогою зв'язування і трансцитозу ендотелію судин. Окиснювальні реакції, котрі каталізуються мієлопероксидазою локалізованою субендотеліально, є причиною ендотеліальної дисфункції при судинних захворюваннях [26, 36]. Нещодавно було показано, що нейтрофіли вбивають бактерії не тільки внутрішньоклітинно, а й позаклітинно. У 2004 р. Brinkman та співавт. [26] показали, що ці клітини здатні утворювати нейтрофільні позаклітинні пастки (НПП). Вони містять гранулярні білки і хроматин, викид яких може стимулюватися розчинними (ІЛ-8, форболміристатацетат) і мікробними стимулами, зокрема, ліпополісахаридом. Утворення НПП часто ініціюється зв'язуванням ліганда з нейтрофільними TLR і рецепторами IgG-Fc, комплементу або цитокінам. Швидке формування НПП також індукується тромбоцитами, активованими через TLR-4. НПП – це нетрадиційна форма імунного захисту, оскільки нейтрофіли

можуть ловити мікроорганізми без прямого контакту з ними, а внутрішні структури залишаються активними навіть після смерті клітини, таким чином, пролонгуючи мікробіцидність відповіді. Крім того, часто виникають ситуації, коли поглинається занадто великий об'єкт для фагоцитозу, наприклад, при паразитарних інфекціях. У таких випадках нейтрофіли знищують або, принаймні, обмежують поширення патогена утворенням НПП. Хоча вони працюють в місці інфікування, екстраклітинне виділення таких протеїнів, як катепсина G, еластази і мієлопероксидаза пошкоджує тканини. На додаток, наявність нуклеїнової кислоти може привести до розвитку аутоімунних захворювань. Дослідження показали, що утворення НПП є контрольованим процесом, а не випадковим виділенням гранул і ядерного вмісту клітини [26, 37, 38].

НПП регулюються внутрішньоклітинним кальцієм як другим месенджером активації нейтрофілів, зокрема, пептидиларгініндеїміназа 4 (PAD4) стимулюється самим кальцієм. Підвищений вміст цитоплазматичного кальцію збільшує активність протеїнкінази C і фосфорилування  $gr91^{phox}$ . Це викликає збирання цитозольних і мембранозв'язаних субодиниць НАДФ-оксидази в функціональні комплекси на цитоплазматичних або фагосомних мембранах і подальше утворення АФК. Під впливом останніх розриваються гранули та ядерна оболонка. Згодом вивільняється ядерний, гранулярний і цитоплазматичний вміст. Нейтрофільна еластаза і мієлопероксидаза, що зазвичай зберігаються в азурофільних гранулах, мігрують в ядро. Тут еластаза розкладає лінкерний гістон H1 і обробляє корові гістони, а мієлопероксидаза підсилює деконденсацію хроматину. Протеолітичні розщеплення гістонів PAD4 додатково роблять внесок у деконденсацію хроматину. Таким чином, хроматин поширюється по цитоплазмі, змішуючись з цитоплазматичними білками і гранулярними медіаторами,

і, нарешті, вивільняється поза клітину через пори мембрани і клітинний лізис. Розрив плазматичної мембрани сприяє вивільненню НПП. Високоактивна суміш, потрапивши в позаклітинний простір, формує своєрідну об'ємну мережу-пастку, в яку і потрапляють бактерії. Нейтрофіл при цьому гине. Ця кисневозалежна загибель клітини була названа «нетозом» [39–41].

НПП можуть або боротися з хворобою, або викликати її залежно від місця, часу і дози. Створення занадто великої кількості або відсутність утилізації НПП у потрібний час і в потрібному місці є патогенним. У нормі нейтрофіли не утворюють спонтанних НПП, незважаючи на періодичне збільшення концентрації активаторів у сироватці. Це свідчить на користь того, що в кров'яному руслі здорових осіб формування НПП не повинно відбуватися, оскільки може призвести до оклюзії дрібних судин. Багатьма авторами показано, що формування НПП у кровотоці механічно порушує кровообіг у тканинах і органах і сприяє розвитку різних патологічних станів. Підвищене утворення або порушення кліренсу НПП спостерігається при аутоімунній патології, метаболічних розладах, злоякісних утвореннях і протромботичних станах [26, 41]. Коагуляція є прикладом того, як кількість НПП може визначити «хороший» чи «поганий» результат. Вона є способом зниження крововтрати після травми, але і примітивною вродженою імунною відповіддю, яка обмежує поширення мікробів [43], однак здатна призвести до формування тромбів при серцево-судинних захворюваннях і, можливо, важких вірусних інфекціях. НПП беруть участь у своєчасному утворенні тромботичного згустка, але в надлишку здатні викликати масивну коагуляцію, яка може критично знизити кровопостачання органів, викликаючи важку ішемію. Згустки артеріальної крові часто індукуються пошкодженням ендотелію. Венозні тромби, навпаки, в основному розвиваються, коли кровотік зменшується

протягом декількох годин. В обох ситуаціях нейтрофіли накопичуються і щільно прилипають до ендотелію, продукуючи НПП, які служать каркасом для стимуляції утворення тромбу. Основні компоненти НПП (ДНК, гістони та протеази) мають властивості прокоагулянтів. ДНК індукує утворення тромбіну в плазмі і підвищує протеазну активність факторів згортання крові. Гістони можуть безпосередньо викликати загибель епітеліальних та ендотеліальних клітин і, як наслідок, тромбоз *in vivo*. Еластаза і катепсина G, дві серинові протеази, які знаходяться в НПП, розкладають інгібітори коагуляції. Вивільнення пасток у судинному руслі викликає прокоагулянтний стан і сприяє зв'язуванню і активації тромбоцитів, що призводить до розвитку і прогресування тромбозу [44–46].

Нині нейтрофіли розглядаються не тільки як ефекторні клітини. Активовані клітини поряд з продуктами гранул секретують широкий спектр цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-8, ІЛ-6, ФНП- $\alpha$ ,  $\gamma$ -інтерферон) і можуть таким чином не тільки впливати на активність інших імунокомпетентних клітин, а й регулювати імунну відповідь [47–49].

Дані останніх років свідчать також про те, що нейтрофіли є джерелом судинно-ендотеліального фактора росту. З одного боку, він потрібний для стабільності ендотелію і фізіологічного неангіогенезу, з іншого – відіграє провідну роль у патологічному ангіогенезі і є протизапальним цитокіном, що індукує активність макрофагів і ендотелію [50]. Багато молекул, виділені активованими нейтрофілами, прямо або опосередковано впливають на Т-клітини. При активації нейтрофіли продукують АФК, включаючи  $H_2O_2$ , які не тільки важливі для антимікробної активності, але і потенційно здатні пригнічувати активацію Т-лімфоцитів. Крім того, серинові протеази модифікують молекули, такі як CD25, і тим самим впливають на активацію Т-клітин [51–53]. Більше того, нейтрофіли можуть транспортувати антигени

в сайти активації Т-клітин і навіть діяти як антигенпрезентуючі клітини [54]. НПП також модулюють багато аспектів вродженого і адаптивного імунітету. Вони пригнічують ЛПС-індуковане дозрівання дендритних клітин, пригнічуючи Т-клітинну активацію [28]. НПП руйнують цитокіни і хемокіни і, отже, здатні зменшувати активність запалення [55, 56].

TLR4 нейтрофілів, індуковані ЛПС, регулюють експресію TLR2 на ендотеліальних клітинах. У цьому процесі важливу роль відіграють кисневі радикали, посилюючи передачу сигналу через транскрипційний фактор NF- $\kappa$ B і експресію TLR2. Така взаємодія TLR4 і TLR2 забезпечує стабільну експресію ICAM-1, що посилює адгезію і міграцію нейтрофілів. Таким чином, ендотеліальні клітини є важливою мішенню для кисневих радикалів, опосередкованих TLR [57–59].

Апоптотичні нейтрофіли видаляються за допомогою макрофагального або дендритного клітинного фагоцитозу. При відсутності інфекції або запалення кліренс цих клітин відбувається зі значною швидкістю в селезінці, печінці і кістковому мозку [60, 61]. У відповідь на інфекцію або запалення нейтрофіли можуть проникати і видалятися з усіх тканин організму. Апоптоз є строго регульованим процесом, але на відміну від нетозу він прагне запобігти попаданню вмісту клітини в міжклітинний простір. Апоптоз нейтрофілів, а також подальше їх видалення є відмінною рисою зниження запалення – активного процесу, який потребує активації багатьох каскадів інгібуючого шляху. Апоптотичні клітини генерують сигнали «знайди мене» (наприклад, ліпідні медіатори і нуклеотиди) і «з'їж мене» (наприклад, лізофосфатидилхолін) для залучення акцепторів принаймні двома різними механізмами. Фагоцитоз апоптотичних нейтрофілів макрофагами активує протизапальний шлях, щоб пригнічувати прозапальні медіатори (наприклад, ФНП- $\alpha$ ) і індукувати вироблення протизапального



IL-10, трансформуючого фактора росту  $\beta$  і потрібних ліпідних медіаторів, які пригнічують трансендотеліальну міграцію нейтрофілів і видаляють хемокіни і цитокіни. Якщо не видалити вчасно, клітини в процесі загибелі можуть вивільняти гранулярні компоненти в позаклітинне середовище і продовжувати поточну запальну відповідь [62]. В експериментальній роботі було показано, що НПП сприяють поляризації макрофагів *in vitro* в напрямку репаративного фенотипу. Вони пригнічували прозапальні макрофаги (M1) при гіпоксії і зменшували експресію IL-6 і ФНП- $\alpha$ . Надалі НПП активно підтримували поляризацію M2b і експресію IL-10 [63].

Старіючі нейтрофіли підвищують вміст CXCR4, що важливо для контролю генерації клітин у кістковому мозку. Поглинання апоптотичних клітин макрофагами запускає протизапальну відповідь і поляризацію останніх, в результаті чого знижується вміст IL-23 і IL-17, що призводить і до зниження вмісту G-CSF. Остаточним наслідком цього каскаду є зменшення гранулопоезу [64].

Нейтрофіли – найпоширеніші лейкоцити периферичної крові, постійно утворюються в кістковому мозку. Однак дослідження їх функціонування і роль при різних патологічних станах вкрай слабо вивчено, зокрема при серцево-судинних захворюваннях. В останні роки проведено дослідження хемотаксису, TLR, нейтрофільних позаклітинних пасток, апоптозу. З'являється все більше даних про вплив нейтрофілів на адаптивний імунітет та їх участі у тромбоутворенні. Ці відомості значною мірою привертають увагу клініцистів різних спеціальностей, також кардіологів, ревматологів. Крім того, нині ці клітини розглядаються як потенційний біомаркер для терапевтичної корекції запальних процесів [65, 66].

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or*

*financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.*

**Т.І. Гавриленко, Н.А. Рижкова,  
А.Н. Пархоменко, Е.В. Довгань, Н.В. Довгань,  
О.М. Пасичніченко, С.Н. Бабій**

### **СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА РОЛЬ НЕЙТРОФИЛОВ В ИММУННОМ ОТВЕТЕ**

В обзоре даны сведения о нейтрофилах, которые являются важными эффекторными клетками врожденного иммунного ответа, образующими первую линию защиты от инфекции. Освещены вопросы созревания и функциональной активности клеток. Показаны этапы жизнедеятельности нейтрофилов – миграция, хемотаксис, адгезия, кислородный взрыв, поглощение, дегрануляция, апоптоз. Особое внимание уделено нейтрофильным внеклеточным ловушкам и значению миелопероксидазы. На сегодняшний день эти клетки всё активнее рассматриваются как потенциальный биомаркер со специфическими методами лечения.

Ключевые слова: нейтрофилы; иммунный ответ; иммунокомпетентные клетки.

**Т.І. Gavrilenko<sup>1</sup>, N.A. Rizhkova<sup>1</sup>,  
O.M. Parkhomenko<sup>1</sup>, E.V. Dovgan<sup>1</sup>, N.V. Dovgan<sup>1</sup>,  
O.M. Pasichnichenko<sup>2</sup>, S.M. Babiy<sup>2</sup>**

### **MODERN VIEWS ON THE ROLE OF NEUTROPHILS IN THE IMMUNE RESPONSE**

<sup>1</sup> State Institution NSC «The M. D. Strazhesko Institute of Cardiology National Academy of Medical Science of Ukraine»;

<sup>2</sup> Taras Shevchenko National University of Kyiv;  
e-mail: tala.ruzh@gmail.com

The review provides information on neutrophils, which are important effector cells of the innate immune response and form the first line of defence against infection. Issues of maturation and functional activity of cells are highlighted. The stages of the vital activity of neutrophils are shown – migration, chemotaxis, adhesion, oxygen explosion, absorption, degranulation, apoptosis. Special attention is paid to neutrophilic extracellular traps and the importance of myeloperoxidase. Today, these cells are increasingly viewed as a potential biomarker with specific treatments.

Key words: neutrophils; immune response; immunocompetent cells.

REFERENCES

1. Pinegin BV, Mayansky AN. Neutrophils: structure and function. *Immunology*.2007;6:374-82 [Russian].
2. Summers C, Rankin SM, Condliffe AM, Singh N, Peters AM, Chilvers ER. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol*. 2010;31:318-24.
3. Rankin SM. The bone marrow: a site of neutrophil clearance. *J Leukoc Biol*. 2010;88:241-51.
4. Manz M G, Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat Rev Immunol*. 2014;14: 302-14.
5. Croce K, Libby P. Stirring the soup of innate immunity in the acute coronary syndromes. *Eur Heart J*. 2010 Jun;31(12):1430-2.
6. Hellberg L, Fuchs S, Gericke C, Sarkar A, Behnen M, Solbach W, Laskay T. Proinflammatory stimuli enhance phagocytosis of apoptotic cells by neutrophil granulocytes. *Sci World J*. 2011; 11:2230-6.
7. Zhang Q, Raoof M, Chen Y, Sumi Y, Sursal T, Junger W, Brohi K, Itagaki K, Hauser CJ. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010;464:104-7.
8. Sadik C, Kim N, Luster A. Neutrophils cascading their way to inflammation. *Trends Immunol*. 2011 Oct; 32(10): 452-60.
9. Eash KJ, Greenbaum AM, Gopalan PK, Link DC. CXCR2 and CXCR4 antagonistically regulate neutrophil trafficking from murine bone marrow. *J Clin Invest*. 2010;120: 2423-31
10. Németh T, Sperandio M, Mócsai A. Neutrophils as emerging therapeutic targets. *Nat Rev Drug Disc*. 2020;19:253-75
11. Zeytun A, Chaudhary A, Pardington P, Cary R, Gupta G. Induction of cytokines and chemokines by Toll-like receptor signaling: strategies for control of inflammation. *Crit Rev Immunol*. 2010;30:53-67.
12. Chou RC, Kim ND, Sadik CD, Seung E, Lan Y, Byrne MH, Haribabu B, Iwakura Y, Luster AD. Lipid-Cytokine-chemokine cascade drives neutrophil recruitment in a murine model of inflammatory arthritis. *Immunity*. 2010;33:266-78.
13. Soehnlein O, Lindbom L, Weber C. Mechanisms underlying neutrophil-mediated monocyte recruitment. *Blood*. 2009;114:4613-23.
14. Kovács M, Németh T, Jakus Z, Sitaru C, Simon E, Futosi K, Botz B, Helyes Z, Lowell CA, Mócsai A. The Src family kinases Hck, Fgr, and Lyn are critical for the generation of the *in vivo* inflammatory environment without a direct role in leukocyte recruitment. *J Exp Med*. 2014;211(10):1993-2011.
15. Németh T, Mócsai A. Feedback amplification of neutrophil function. *Trends Immunol*. 2016;37:412-24.
16. McDonald B, Pittman K, Menezes GB, Hirota SA, Slaba I, CCM, PL, Muruve DA, Kubes P. Intravascular danger signals guide neutrophils to sites of sterile inflammation. *Science*. 2010;330:362-6.
17. Dimasi D, Sun WY, Bonder CS. Neutrophil interactions with the vascular endothelium. *Int Immun Pharmacol*. 2013 Dec;17(4):1167-75.
18. ZhuYP, Padgett L, Dinh HQ, Marcovecchio P, Blatchley A, Wu R, Ehinger E, Kim C, Mikulski Z, Seumois G, Madriga A, Vijayanand P, Hedrick CC. Identification of an early unipotent neutrophil progenitor with pro-tumoral activity in mouse and human bonemarrow. *Cell Rep*. 2018;24:2329-41.
19. Tsuda Y, Takahashi H, Kobayashi M, Hanafusa T, Herndon DN, Suzuki F. Three different neutrophil subsets exhibited in mice with different susceptibilities to infection by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Immunity*. 2004;21:215-26.
20. Zhou G, Yu L, Fang L, Yang W, Yu T, Miao Y, et al. CD177(+) neutrophils as functionally activated neutrophils negatively regulate IBD. *Gut*. 2018; 67:1052-63.
21. Denny MF, Yalavarthi S, Zhao W, Thacker SG, Anderson M, Sandy AR, et al. A distinct subset of proinflammatory neutrophils isolated from patients with systemic lupus erythematosus induces vascular damage and synthesizes type I IFNs. *J Immunol*. 2010; 184:3284-97.
22. Lood C, Blanco LP, Purmalek MM, Carmona-Rivera C, De Ravin SS, Smith CK, et al. Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease. *Nat Med*. 2016; 22:146-53.
23. Cascao R, Rosario H, Fonseca J. Neutrophils: warriors and commanders in immune mediated inflammatory diseases. *Acta Reumatol*. 2009;34(28):313-26.
24. Rørvig S, Ostergaard O, Heegaard NH, Borregaard N. Proteome profiling of human neutrophil granule subsets, secretory vesicles, and cell membrane: Correlation with transcriptome profiling of neutrophil precursors. *J Leuk Biol*. 2013; 94; 711-21.
25. Abaturov AE. Activated oxygen-containing metabolites – a component of the system of nonspecific protection of the respiratory tract. *Health Child*. 2009;2(17):120-5.
26. Brinkman V, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin? *J Cell Biol*. 2012;198(5):773-83.
27. Klebanoff SJ. Myeloperoxidase: Friend and foe. *J Leuk Biol*. 2005;77:598-62.
28. Strzepa A, Pritchard K, Ditel B. Myeloperoxidase: a new player in autoimmunity. *Cell Immunol*. 2017; 317:1-8.
29. Bergt C, Pennathur S, Fu X, Byun J, O'Brien K, McDonald TO, Singh P, Anantharamaiah GM, Chait A, Brunzell J, Geary RL, Oram JF. The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004 Aug 31;101(35):13032-7.
30. Chen W, Liu N, Qi Y, Zhang Y, Deng Zh, J Yang J, Xie X. Changes of systemic and local myeloperoxidase and tumor necrosis factor- $\alpha$  in rats with myocardial injury induced by hindlimb ischemia-reperfusion. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2013 May;33(5):761-4
31. Chen W, Liu N, Qi Y, Zhang Y, Deng Zh, Yang J, Xie X. Changes of systemic and local myeloperoxidase and

- tumor necrosis factor- $\alpha$  in rats with myocardial injury induced by hind-limb ischemia-reperfusion. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2013 May;33(5):761-4.
32. Nicholls SJ, Hazen SL. The role of myeloperoxidase in the pathogenesis of coronary artery disease. *Jpn J Infect Dis*. 2004;57:21-2
  33. Soehnlein O. Multiple roles for neutrophils in atherosclerosis. *Circ Res*. 2012; 110:875-88.
  34. Delporte C, Antwerpen P, Vanhamme L, Roumeuguère T, Boudjeltia KZ. Low-density Lipoprotein modified by myeloperoxidase in inflammatory pathways and clinical studies. *Mediat Inflamm*. 2013:971579.
  35. Getz GS, Reardon CA. Myeloperoxidase-mediated dysfunctional high-density lipoprotein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(4):695-6.
  36. Zheng L, Nukuna B, Brennan ML, Sun M, Goormastic M, Settle M, Schmitt D, Fu X, Thomson L, Fox PL, Ischiropoulos H, Smith JD, Kinter M, Hazen SL. Apolipoprotein A-1 is a selective target for myeloperoxidase-catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease. *J Clin Invest*. 2004;114:529-41.
  37. Gavrilenko TI, Ryzhkova NA, Parkhomenko AN. Myeloperoxidase and its role in the development of coronary heart disease. *Ukr Card Zh*. 2014;4:119-26. [Russian].
  38. Korotina OL, Generalov II. Neutrophilic extracellular traps: mechanisms of formation, functions. *Immunopath Allergol Infektol*. 2012;4:23-32. [Russian].
  39. Fuchs TA, Abed U, Goosmann Ch, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, Weinrauch Y, Brinkmann V, Zychlinsky A. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol*. 2007;176(2):231-41.
  40. Papayannopoulos V, Metzler MD, Hakkim A, Zychlinsky A. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol*. 2010; 191(3):677-91.
  41. Hoppenbrouwers T, Autar AS, Sultan AR, Abraham TE, Cappellen WA, Houtsmuller AB, Wamel WJ, Beusekom HM, Neck JW, Maat MP. *In vitro* induction of NETosis: Comprehensive live imaging comparison and systematic review. *PLoS One*. 2017;12: e0176472.
  42. Bonaventura A, Liberale L, Carbone F, Vecchié A, Diaz-Cañestro C, Camici GG, Montecucco F, Dallegri F. The pathophysiological role of neutrophil extracellular traps in inflammatory diseases. *Thromb Haemost*. 2018 Jan;118(1):6-27.
  43. Nakazawa D, Kumar S, Desai J, Anders H. Neutrophil extracellular traps in tissue pathology. *Histol Histopathol*. 2017; 32(3):203-13.
  44. Esmon, CT, Xu J, Lupu F. Innate immunity and coagulation. *J Thromb Haemost*. 2011;9:182-8.
  45. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, Schatzberg D, Monestier M, Myers DD Jr. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(36):15880-5.
  46. Saffarzadeh M, Juenemann C, Queisser MA, Lochnit G, Barreto G, Galuska SP, Lohmeyer J, Preissner KTJ. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones. *PLoS One*. 2012; 7(2):e32366.
  47. Yang H, Biermann MH, Brauner JM, Liu Y, Zhao Y and Herrmann M. New insights into neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in inflammation. *Front Immunol*. 2016;7:302.
  48. Kevin R. Kasten, Jared T. Muenzer, Charles C. Caldwell. Neutrophils are significant producers of IL-10 during sepsis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Feb;393(26):28-31.
  49. Perobelli SM, Mercadante AC, Galvani RG, Goncalves-Silva T, Alves AP, Pereira-Neves A, Benchimol M, Nobrega A, Bonomo A. G-CSF-induced suppressor IL-10+ neutrophils promote regulatory T cells that inhibit graft-versus-host disease in a long-lasting and specific way. *J Immunol*. 2016;197:3725-34.
  50. Tamassia N, Bianchetto-Aguilera F, Arruda-Silva F, Gardiman E, Gasperini S, Calzetti F, Cassatella MA. Cytokine production by human neutrophils: Revisiting the “dark side of the moon”. *Eur J Clin Invest*. 2018 Nov;48, Suppl 2:e12952.
  51. Marino F, Tozzi M, Schembri L, Ferraro S, Tarallo A, Scanzano A, Legnaro M, Castelli P, Cosentino M. Production of IL-8, VEGF and elastase by circulating and intraplaque neutrophils in patients with carotid atherosclerosis. *PLoS One*. 2015;10(4):e0124565.
  52. Kalyan Sh, Kabelitz D. When neutrophils meet T cells: Beginnings of a tumultuous relationship with under appreciated potential. *Eur J Immunol*. 2014; 44:627-33.
  53. Mantovani, A, Cassatella, MA, Costantini C, Jaillon, S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*. 2011;11:519-31.
  54. Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:181-218.
  55. Abdallah A, Egan CE, Butcher BA, Denkers EY. Mouse neutrophils are professional antigen-presenting cells programmed to instruct Th1 and Th17 T-cell differentiation. *Int. Immunol*. 2011; 23: 317-26.
  56. Schauer C, Janko C, Munoz LE, Zhao Y, Kienhöfer D, Frey B, Lell M, Manger B, Rech J, Naschberger E, Holmdahl R, Krenn V, Harrer T, Jeremic I, Bilyy R, Schett G, Hoffmann M, Herrmann M. Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines. *Nat Med*. 2014; 20: 511-7.
  57. Fan J, Frey RS, Malik AB. TLR-4 signaling induced TLR-2 expression in endothelial cells via neutrophil NADPH oxidase. *J Clin Invest*. 2003;112:1234-43.
  58. Darbousset R, Thomas GM, Mezouar S, Frère C, Bonier R, Mackman N, Renné Th, Dignat-George F, Dubois Ch, Panicot-Dubois L. Tissue factor-positive neutrophils bind to injured endothelial wall and initiate thrombus formation. *Blood*. 2012;120(10):2133-43.
  59. Kimball AS, Obi AT, Diaz JA, Henke PK. The emerging role of NETs in venous thrombosis and immunothrombosis.

- Front Immunol. 2016;7:236.
60. Furze RC, Rankin SM. Neutrophil mobilization and clearance in the bone marrow. Immunology. 2008 Nov;125(3):281-8.
61. Wang J, Hossain M, Thanabalasuriar A, Gunzer M, Meininger C, Kubes P. Visualizing the function and fate of neutrophils in sterile injury and repair. Science. 2017;358:111-6.
62. Bratton DL, Henson PM. Neutrophil clearance: when the party is over, clean-up begins. Trends Immunol. 2011 Aug;32(8):350-7.
63. Eghbalzadeh K, Georgi L, Louis T, Zhao H, Keser U, Weber C, Mollenhauer M, Conforti A, Wahlers T, Paunel-Görgülü A. Compromised anti-inflammatory action of neutrophil extracellular traps in PAD4-deficient mice contributes to aggravated acute inflammation after myocardial infarction. Front Immunol. 2019 Oct 1;10:2313.
64. Stark MA, Huo Y, Burcin TL, Morris MA, Olson TS, Ley K. Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates granulopoiesis via IL-23 and IL-17. Immunity. 2005; 22:285-94.
65. Schernberg A, Blanchard P, Chargari C, Deutsch E. Neutrophils, a candidate biomarker and target for radiation therapy? Acta Oncol. 2017 Nov;56(11):1522-30.
66. Ryzhkova NO, Gavrilenko TI, Parkhomenko OM. Korvitin reduces the high level of myeloperoxidase in plasma of blood of patients with the acute coronary syndrome. Fiziol Zh. 2016; 62(2):87-93. [Ukrainian].

*Матеріал надійшов  
до редакції 05.04.2021*