

УДК 619:612.017.1:612.112.9

Научный обзор



Открытый доступ

DOI: 10.32634/0869-8155-2025-390-01-57-70

Е.А. Колесник¹ ✉М.А. Дерхо²М.Б. Ребезов^{3, 4}¹Государственный университет просвещения, Москва, Россия²Южно-Уральский государственный аграрный университет, Троицк, Россия³Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия⁴Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

✉ evgeniy251082@mail.ru

Поступила в редакцию: 30.08.2024

Одобрена после рецензирования: 10.12.2024

Принята к публикации: 25.12.2024

© Колесник Е.А., Дерхо М.А., Ребезов М.Б.

Review



Open access

DOI: 10.32634/0869-8155-2025-390-01-57-70

Evgeniy A. Kolesnik¹ ✉Marina A. Derkho²Maksim B. Rebezov^{3, 4}¹Federal State University of Education, Moscow, Russia²South Ural State Agrarian University, Troitsk, Russia³Gorbatov Research Center for Food Systems, Moscow, Russia⁴Ural State Agrarian University, Yekaterinburg, Russia

✉ evgeniy251082@mail.ru

Received by the editorial office: 30.08.2024

Accepted in revised: 10.12.2024

Accepted for publication: 25.12.2024

© Kolesnik E.A., Derkho M.A., Rebezov M.B.

Лизосомальные катионные белки как основа клеточного и гуморального иммунитета животных: роль нейтрофильных внеклеточных ловушек в иммунном гомеостазе (обзор)

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Лизосомальные катионные белки (ЛКБ) гранулоцитарных лейкоцитов (эластаза, катепсин G, протеиназа-3, кальгранулин, кателицидины, дефензины, лактоферрин, протегрины) активны в отношении вирусов, бактерий, грибов, простейших. Отмечаются вопросы физиологических регуляторных, иммунных и патологических воздействий ЛКБ и их производных — нейтрофильных (гетерофильных) внеклеточных ловушек (НВЛ) — на патогены, здоровые клеточные и тканевые структуры организма.

Результаты. Инкреция гранулоцитами ЛКБ реализуется: 1. мерокриновым типом — путем дегрануляции; 2. экзоцитозом и ложной дегрануляцией, то есть процессом декатионизации лизосом, содержащих гранулы катионных протеинов с апокриновым или голокриновым типом секреции. Декатионизация реализует экзоцитоз ЛКБ, экструзию из клетки интактных лизосом с ЛКБ, диффундирование ЛКБ через мембрану лизосом. Реакции дегрануляции лизосом с ЛКБ формируют фаголизосомы и инициируют фагоцитоз, реакции декатионизации лизосом с ЛКБ — обеспечивают формирование и функции НВЛ. НВЛ формируются нелигическим (нелизируемым) и лигическим (лизируемым) путем при септическом и асептическом воспалении, при онтогенетическом развитии звеньев иммунитета. НВЛ стереотипно образуются внутрисосудисто при асептическом воспалении, оксидативном стрессе и в физиологическом режиме, при стимуляции гранулоцитов продуктами окислительного метаболизма. На модельном организме птиц (Aves) за счет применения цитохимического теста с высокочувствительным кислотно-щелочным бромфеноловым синим индикатором изучены субклеточные и клеточные проявления физиологической возрастной иммунной активности катионных протеинов кумулированных в лизосомах гранулоцитов, изучены неспецифические адаптационные реакции (НАР) позвоночных в раннем постнатальном онтогенезе. В основе формирования НАР реализуются взаимосвязи групп лейкоцитов (лимфоцитов, моноцитов и гранулоцитов) с динамикой их лизосомальных катионных белков. Метод расчета уровня активности и потенциальных возможностей гранулоцитов в фагоцитарных реакциях и при формировании НВЛ включает индексы, характеризующие направления и интенсивность иммунных реакций гранулоцитов с учетом процессов: 1. дегрануляции лизосом с ЛКБ — в инициации клеточного фагоцитарного звена; 2. декатионизации лизосом с ЛКБ — в инициации внеклеточных ловушек, участвующих в реализации гуморального звена иммунитета.

Ключевые слова: лизосомальные катионные белки, лизосомы, фаголизосомы, фагосомы, нейтрофильные внеклеточные ловушки, дегрануляция, декатионизация, иммунный ответ, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, иммунный гомеостаз, морфология крови, гранулоциты, гетерофилы

Для цитирования: Колесник Е.А., Дерхо М.А., Ребезов М.Б. Лизосомальные катионные белки как основа клеточного и гуморального иммунитета животных: роль нейтрофильных внеклеточных ловушек в иммунном гомеостазе (обзор). *Аграрная наука*. 2025; 390(01): 57–70. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-390-01-57-70>

Lysosomal cationic proteins as the basis of cellular and humoral immunity of animals: the role of neutrophil extracellular traps (NETs) in immune homeostasis (review)

ABSTRACT

Relevance. Lysosomal cationic proteins (LCP) of granulocytic leukocytes: elastase, cathepsin G, proteinase-3, calgranulin, cathelicidins, defensins, lactoferrin, protegrins are active against viruses, bacteria, fungi, protozoa. The issues of physiological regulatory, immune and pathological effects of LCP and their derivatives – neutrophil (heterophil) extracellular traps (NETs) on pathogens, healthy cellular and tissue structures of the body are noted.

Results. The increment of LCP granulocytes is realized by: 1. merocrine type — by degranulation; 2. exocytosis and false degranulation, that is, the process of decationization of lysosomes containing granules of cationic proteins with apocrine or holocrine type of secretion. Decationization implements exocytosis of LCP, extrusion of intact lysosomes from the cell with LCP, and diffusion of LCP through the lysosome membrane. Lysosome degranulation reactions with LCP form phagolysosomes and initiate phagocytosis, lysosome decationization reactions with LCP ensure the formation and functions of NETs. NETs is formed by non-lytic (non-lytic) and lytic (lyzed) pathways in septic and aseptic inflammation, with the ontogenetic development of immune links. NETs is stereotypically formed intravascularly during aseptic inflammation, oxidative stress and in a physiological regime, when granulocytes are stimulated by products of oxidative metabolism. Using a cytochemical test with a highly sensitive acid-base bromophenol blue indicator, subcellular and cellular manifestations of the physiological age-related immune activity of cationic proteins accumulated in granulocyte lysosomes were studied on the avian model organism (Aves), and nonspecific adaptive reactions (NAR) of vertebrates in early postnatal ontogenesis were studied. The basis for the formation of NAR is the relationship of groups of leukocytes (lymphocytes, monocytes and granulocytes) with the dynamics of their lysosomal cationic proteins. The method for calculating the level of activity and potential capabilities of granulocytes in phagocytic reactions and in the formation of NETs includes indices characterizing the directions and intensity of immune reactions of granulocytes, taking into account the processes: 1. degranulation of lysosomes with LCP — in the initiation of the cellular phagocytic link; 2. decationization of lysosomes with LCP — in the initiation of extracellular traps involved in the implementation of the humoral link of immunity.

Key words: lysosomal cationic proteins, lysosomes, phagolysosomes, phagosomes, neutrophil extracellular traps, degranulation, decationization, immune response, cellular immunity, humoral immunity, immune homeostasis, blood morphology, granulocytes, heterophils

For citation: Kolesnik E.A., Derkho M.A., Rebezov M.B. Lysosomal cationic proteins as the basis of cellular and humoral immunity of animals: the role of neutrophil extracellular traps (NETs) in immune homeostasis (review). *Agrarian science*. 2025; 390(01): 57–70 (in Russian).

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2025-390-01-57-70>

Введение/Introduction

Функциональная роль лизосомального гранулярного аппарата полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) в действии гуморальных и клеточных звеньев неспецифического иммунного ответа организма описана в работах П. Эрлих [1–3].

В реализации действия ПМЯЛ участвуют лизосомальные катионные белки (ЛКБ), являющиеся биохимическими и цитохимическими маркерами иммунного гомеостаза [4–8]. ЛКБ и их производные выполняют роль внеклеточных ловушек (ВЛ) гранулоцитов периферической крови (эозинофилов, нейтрофилов), участвующих в ингибировании действия многих грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов, вирусов, и одноклеточных паразитов. При этом хроматин внеклеточных ловушек фиксирует патогены, ограничивая тем самым их распространение в организме хозяина, а лизосомальные катионные белки снижают их вирулентность, определяя последующий эффективный фагоцитоз или приводя к их полному уничтожению. В частности, патогенные бактерии фиксируются ВЛ гранулоцитов крови посредством

электростатических взаимодействий между фибриллами хроматина (+) и бактериальными стенками (-) [9].

Механизм инактивации факторов вирулентности микроорганизмов ЛКБ внеклеточных ловушек гранулоцитов реализуется или посредством ферментов, например эластазы (*Leukocyte Elastase*), протеиназы-3 (*Proteinase-3, PR-3*), катепсина G (*Cathepsin G, CathG*), которые расщепляют протеиновые факторы вирулентности *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium* и *Yersinia enterocolitica* [2, 10–12], или катионных белков, например кальгранулина (*Calgranulin*), проявляющих фунгицидную активность в отношении *Candida albicans* [13], *Aspergillus sp.* [14].

Цель исследования — отражение представлений об иммунных лизосомальных катионных белках гранулоцитов, внеклеточных ловушках с раскрытием цитофизиологических механизмов их функций в гуморальном и клеточном звеньях иммунитета.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

Научный обзор включает результаты работ отечественных и зарубежных авторов, которые были систематизированы по схеме (рис. 1).

Поиск литературных источников данных проводился с 1971 по 2024 г. в научных электронных библиотеках и поисковых системах, включая eLIBRARY.RU, Science Direct, Scopus, WOS и портал ResearchGate и др.

Методы исследований включают:

- ✓ монографический метод;
- ✓ статистический анализ.

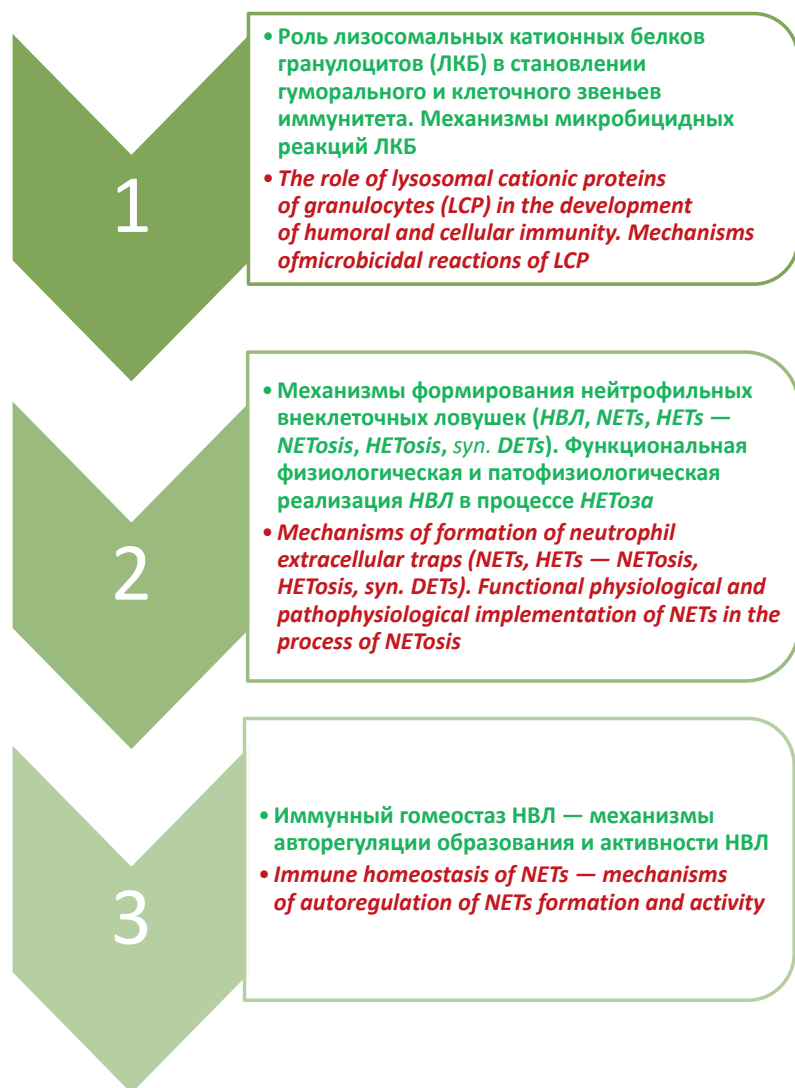
Материалы и методы исследования / Materials and methods

1. Роль лизосомальных катионных белков гранулоцитов (ЛКБ) в становлении гуморального и клеточного звеньев иммунитета. Механизмы микробицидных реакций ЛКБ

ЛКБ ПМЯЛ участвуют в определении функциональной напряженности специфического или приобретенного иммунитета. В частности, в очаге воспаления они активируют макрофаги для продуцирования и высвобождения антигенов (опосредованных цитокинов) и участвуют в опсонизации иммуноглобулинами G патогенных бактерий, определяя превращение их антигенов в химически (хемотаксически) «видимые» макрофагами, что

Рис. 1. Общая схема научного обзора

Fig. 1. General scheme of a scientific review



способствует их последующему фагоцитированию [3], то есть хемоаттракция макрофагов к обработанным антителами (иммуноглобулинами G) патогенным бактериям — это необходимое условие для их фагоцитоза [3].

Кроме этого, ЛКБ ПМЯЛ участвуют в энергетическом обеспечении фагоцитоза нейтрофилов, регулируя активность внутриклеточных протеаз — ГТФаз (*GTPas*), обеспечивающих подготовку митохондрий к синтезу аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) [15].

При непосредственном хеморецепторном контакте ЛКБ ПМЯЛ способны активировать дендритные клетки, происходящие из моноцитов, улучшая тем самым антигенпрезентацию патогенов и способствуя формированию иммунологической памяти [3].

Ключевую регуляторную роль ЛКБ ПМЯЛ играют в реализации механизмов, лежащих в основе превращения моноцитов в макрофаги [16] при участии нейтрофилов и синтезируемых ими факторов, обеспечивая формирование макрофагального звена иммунитета из моноцитов, циркулирующих в кровяном русле [3, 17–19].

Интегративная роль ЛКБ в поддержании иммунного гомеостаза [19, 20] определяется способностью ЛКБ ПМЯЛ контролировать процесс дифференциации миелоидных клеток — предшественников из костного мозга — в моноциты и гранулоциты [21], а ЛКБ гранулоцитов — регулировать дифференцировку моноцитов в макрофаги [3, 18], которые в свою очередь секретируют колониестимулирующие факторы — факторы стимуляции и ингибирования пролиферации гранулоцитов и моноцитов [16, 46].

Установлено, что ЛКБ ПМЯЛ, продуцируемые во внеклеточную среду при экзоцитозе лизосом, способны воздействовать на эндотелий сосудов микроциркуляторного русла [18]. При этом экзоцитоз может осуществляться или путем дегрануляции, то есть растворения мембран лизосом [1, 4, 6–8, 19], или путем декатионизации, то есть перехода ЛКБ чрез мембрану лизосом при сохранении ее целостности, например, у гранулоцитов [4; 22, с. 36, с. 37, с. 39], или в смешанном виде. При этом стимулированный ЛКБ ПМЯЛ эндотелиальный слой сосудов в ответ продуцирует цитокины (интерлейкины, *IL*), ведущие из которых *IL-1*, *IL-6*, *IL-8* и хемокины. Они в совокупном воздействии вызывают хемоаттракцию моноцитов из кровяного русла в очаг воспаления [18].

В то же время функциональные свойства ЛКБ, источником которых являются нейтрофилы, во внеклеточном пространстве внутренней среды еще мало изучены [21]. Хотя установлено, что из гранулоцитарных ПМЯЛ нейтрофилы (гетерофилы у птиц) первыми мигрируют из микроциркуляторного русла в очаг воспаления и только потом лимфоциты и моноциты, активизируются фиксированные тканевые макрофаги, тучные клетки, эозинофилы и базофилы [17].

Экстравазация (миграция) ПМЯЛ из сосудов микроциркуляторного русла в очаг воспаления происходит по механизму хемотаксиса за счет проявления действия хемоаттрактантов патогенных микроорганизмов и медиаторов воспаления [15, 21].

Впервые обнаруженные в лизосомах нейтрофилов жвачных животных (*Ruminantia*) ЛКБ кателицидины (*Cathelicidins*) проявляют существенные микробицидные свойства при формировании неспецифического иммунитета [2], что позволяет их отнести к семейству бактерицидных ЛКБ ПМЯЛ наравне с дефензинами (*Defensins*). Кателицидины способны оказывать токсическое воздействие на эукариотические клетки [2], а на опухолевые — цитотоксическое [23].

Как отмечают [17], ЛКБ ПМЯЛ — дефензины, кателицидины, лактоферрин (*Lactoferrin*, *LF*, *syn. Lactotransferrin*, *LTF*), а также протегрины (*Protegrins*, *PGs*), впервые обнаруженные в лизосомах нейтрофилов свиньи (*Suidae*), являются перспективными моделями для разработки, синтеза и клинических испытаний новых антибактериальных и фунгицидных пептидных фармацевтических препаратов.

Микробицидное действие ЛКБ определяется:

1. Изменением состояния мембранных структур у бактерий или разрушением биологически значимых молекул:

- ЛКБ дефензины (*syn. дефенсины*) гранулоцитов во внеклеточном пространстве и в ходе фагоцитарных реакций нарушают целостность бактериальных мембран, делая их более доступными для цитотоксических веществ в процессе фагоцитоза [24];

- ЛКБ ПМЯЛ, взаимодействуя за счет электростатических сил с отрицательно заряженными молекулами в мембранных структурах бактерий, изменяют их свойства и конформацию, изменяя проницаемость и нарушая целостность [9];

- ЛКБ в фагосомах ПМЯЛ оказывают кислородопосредованное микробицидное действие, основанное на разрушении пептидных связей в дыхательных белках (цитохромах) бактериальных клеток за счет протекания катионно-анионных реакций [25, 26];

- ЛКБ в процессе фагоцитоза анаэробных бактерий реализуют антимикробное действие за счет смещения pH среды в фаголизосомах ПМЯЛ в кислую сторону, что приводит к росту концентрации хлорноватистой, молочной и других лизирующих бактерии кислот [22].

2. Способностью ЛКБ выполнять свойства медиаторов (посредников) и модуляторов (регуляторов) воспалительного процесса. Так, ЛКБ, продуцируемые ПМЯЛ, повышают проницаемость сосудов микроциркуляторного русла, активируют тучные клетки, инициируя высвобождение из их везикул гистамина, гепарина, простагландинов и интерлейкинов [2, 19, 27, 28], что связано с действием катионного протеина лизосом

нейтрофилов — эластазы [27, 28]. Кроме этого, тучные клетки продуцируют иммунные хемотаксические факторы, активирующие нейтрофилы, эозинофилы и базофилы, что служит проявлением гуморально-клеточной авторегуляции [16].

Нейтрофилы, в которых происходят дифференцировка и активация ядра, реструктуризация хроматина, синтезируют про- и противовоспалительные интерлейкины, колониестимулирующие факторы роста [3, 18, 19].

Лизосомы гранулоцитов при электронной микроскопии имеют малококонтрастные контуры, что обусловлено особенностями физико-химических свойств их молекул и мембран [16, 29], поэтому для их идентификации используют различные способы окраски.

При окраске лейкоцитов красителями, использующимися в гематологии для подсчета лейкоформулы, лизосомы, содержащие катионные белки у нейтрофилов, гетерофилов и эозинофилов, практически не выявляются. В то же время цитохимический метод окраски гранулярных лейкоцитов (по М.Г. Шубичу [30–33]) кислотнo-основным индикаторным бромфеноловым синим красителем (тетрабромфенолсульфоталеин) позволяет при оптической микроскопии идентифицировать четко различимые очертания лизосом, содержащих весь пул катионных белков, и диагностировать морфофизиологию их органоидов.

Бромфеноловый синий индикатор с широким цветовым спектром — от желтого ($pH > 3$) до бирюзового и насыщенно-синего (pH от 4–8 ед. и выше) [34–37] — позволяет выявлять самые чувствительные особенности в концентрации, физиологическом состоянии и метаболизме катионных белков в ПМЯЛ [33].

Описаны азурофильные лизосомальные гранулы с катионными белками (ЛГКБ), выявляющиеся на стадии промиелоцита, и специфические (псевдотворичные) ЛГКБ — на стадии миелоцита. Они являются истинно первичными, так как образуются в мембранах пластинчатого комплекса (ретикулюма) аппарата Гольджи [4, 29]. При этом истинно вторичными гранулами с ЛКБ в ПМЯЛ являются только фаголизосомы (фагосомы), в связи с тем что они образуются путем эндоцитоза и пиноцитоза, то есть дегрануляции (слияния) первичных азурофильных и специфических ЛГКБ [4, 29].

По составу азурофильные и специфические (псевдотворичные) группы лизосом различаются в основном содержанием катионных протеиновых ферментов. Однако и в тех и других присутствуют неферментные катионные белки [2, 3, 17, 18, 29, 38].

Выделяют разновидности псевдотворичных специфических лизосом, а именно третичные и четвертичные, отличающиеся набором катионных протеиновых ферментов [2, 3, 17, 21].

Секреция нейтрофилами биологически активных веществ, в том числе обладающих иммуномодулирующей и иммуномедиаторной активностью

неферментных и ферментных катионных протеинов, осуществляется:

1. Мерокриновым типом — путем дегрануляции.

2. Экзоцитозом и так называемой ложной дегрануляцией [1], или (по В.Е. Пигаревскому) процессом декатионизации лизосом, содержащих гранулы катионного белка с апокриновым или голокриновым типом секреции [4]. Дегрануляция напрямую характерна для формирования фаголизосом (*syn. фагосомы*) при развитии фагоцитарных реакций. В ходе их образования лизосомы с ЛКБ объединяются путем слияния и растворения собственных мембран с итоговой кумуляцией в фаголизосомах совокупности катионных белков (КБ) (рис. 2) [33]. При декатионизации осуществляется преимущественно экзоцитоз ЛКБ, который начинается с выталкивания из клетки морфологически не измененных лизосом с гранулами КБ наружу, то есть во внеклеточное пространство (из: [4, по: N. Taichman (1975), с. 48]). Далее в ходе экзоцитоза ЛКБ перемещаются во внеклеточное пространство через интактные мембраны лизосом. При этом экзоцитоз ЛКБ реализуется апокриновым путем с сохранением структуры гранулоцита или с дальнейшей полной реструктуризацией клетки при голокриновом типе секреции [1, 4] (рис. 2).

Аналогичные результаты В.Е. Пигаревский получил по нейтрофилам (*equivalent* гетерофилам) кроликов, изучая экспериментальное асептическое воспаление [4].

Декатионизация лизосом с ЛКБ у гранулоцитов служит триггером для формирования нейтрофильных (*equivalent* гетерофильных) внеклеточных ловушек (НВЛ, *neutrophil extracellular traps — NETs, heterophil extracellular traps — HETs, syn. DNA — Deoxyribonucleic acid extracellular traps, DETs*) в ходе *NETs, HETs, DETs* — опосредованной запрограммированной смерти гранулоцитов (НЕТоз, *NETosis, HETosis*) [8, 19, 20, 39, 40].

НВЛ являются морфофизиологическими структурами из вышедших в плазму лизосом с активными катионными белками и другими биополимерами — хроматином, белками — гистонами и митохондриальной ДНК, которые обеспечивают гуморальное звено регуляторных и посреднических функций ПМЯЛ в формировании неспецифического иммунного ответа, участии в активации специфического звена иммунитета в организме животных [8, 19, 20].

Было подтверждено, что высвобождение одних из основных катионных белков — нейтрофильной эластазы и катепсина G — из первичных гранул при формировании НВЛ возникает без лизиса мембраны гранул [26].

Ранее В.Е. Пигаревский показал, что декатионизация лизосом с ЛКБ происходит с сохранением целостности их мембраны при асептическом воспалении у кроликов [4]. Это обусловлено воздействием ядерных белков — гистонов, увеличивающих проницаемость лизосомальной мембраны для

ЛКБ, сохраняя, таким образом, целостность самих лизосом при их декатионизации [4].

Катионные белки при декатионизации лизосом с ЛКБ способны активно проникать через целостную клеточную мембрану во внеклеточное пространство. При экспериментальной инициации декатионизации была установлена способность лизосом с гранулами КБ к агрегации, проявляющейся морфофизиологически, и «краевому стоянию» у границ клеточной мембраны гранулоцитов [4] (рис. 2).

Субклеточные и клеточные реакции гранулоцитов, ассоциированные с ЛКБ, реализуются в ходе онтогенетического становления механизмов резистентности регуляторных, то есть адаптивных, систем гомеостаза.

У птиц функцию иммунных нейтрофильных ловушек выполняют «гетерофильные внеклеточные ловушки» *chicken heterophil extracellular traps*, синоним *Deoxyribonucleic Acid mediated Extracellular Traps (HETs, DETs)* [5–8, 33, 39–41], из вышедших в

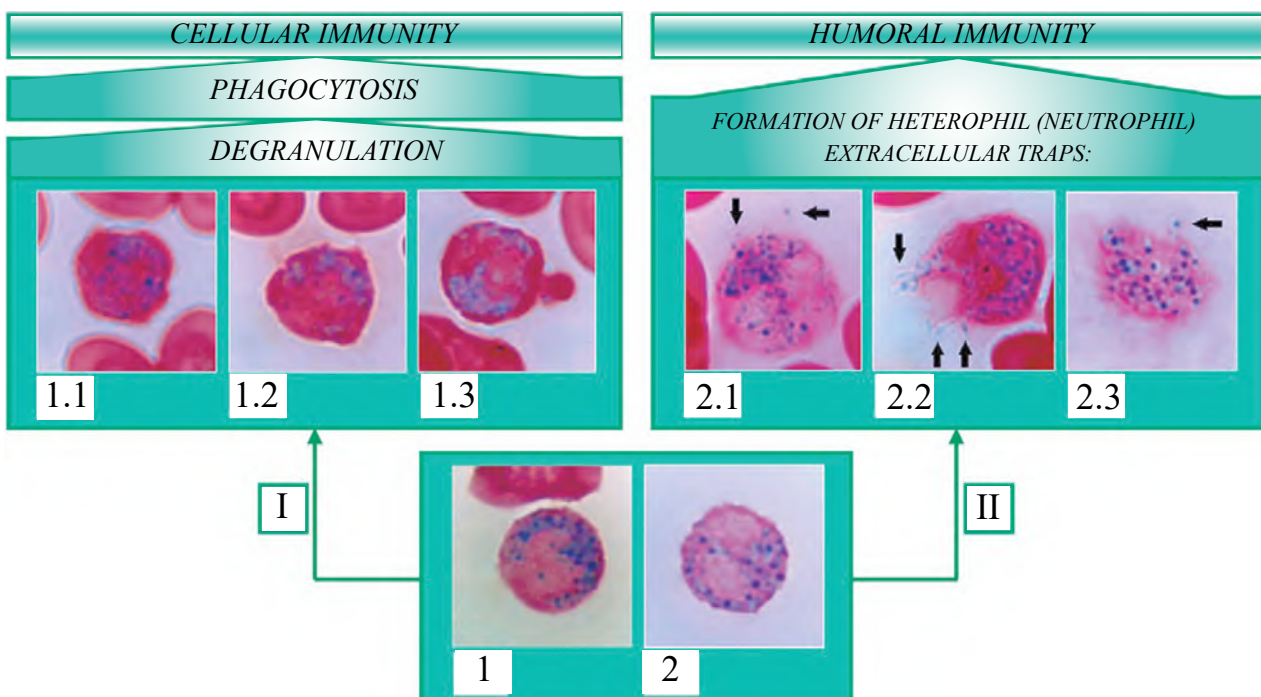
плазму крови лизосом с иммунными катионными белками и структур клеточного ядра (рис. 2).

По результатам морфофизиологических и цитохимических исследований неспецифических адаптационных реакций (НАР) позвоночных (*Vertebrata*) на модельном организме птиц (*Aves*) в раннем постэмбриональном онтогенезе в основе формирования НАР были установлены взаимосвязи групп лейкоцитов периферической крови — лимфоцитов, моноцитов с динамикой гранулоцитов и их лизосомальных катионных белков [33, 42].

При изучении субклеточных и клеточных проявлений физиологической возрастной иммунной активности катионных протеинов, кумулированных в лизосомах гранулоцитов птиц [33, 41], был предложен метод расчета уровня активности и потенциальных возможностей лейкоцитарных клеток в фагоцитарных реакциях и при формировании внеклеточных ловушек [33, 41]; разработаны комплексные индексы, характеризующие

Рис. 2. Схема, отражающая участие лизосомальных катионных белков (ЛКБ) полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ) периферической крови у птиц в реализации клеточного и гуморального звеньев иммунного гомеостаза: 1, 2 — гранулы синего цвета стабильных катионных белков в лизосомах ПМЯЛ (цитохимическая реакция с бромфеноловым синим и основным фуксином на лизосомальные катионные белки по М.Г. Шубичу) со структурной предрасположенностью к: дегрануляции (1), декатионизации (2); I — переход к стадиям дегрануляции лизосом с ЛКБ в ПМЯЛ; 1.1, 1.2, 1.3 — слияние лизосом, содержащих ЛКБ, и их дегрануляция у ПМЯЛ в процессе фагоцитоза, обеспечивающего клеточный иммунитет; II — переход к стадиям декатионизации лизосом с ЛКБ в ПМЯЛ; 2.1, 2.2, 2.3 — завершение жизни ПМЯЛ путем реструктуризации плазмолеммы и ядра с выведением во внеклеточное пространство хроматина и лизосом с ЛКБ (показаны стрелками) в ходе образования гетерофильных (нейтрофильных) внеклеточных ловушек (*HETs* — *HETosis*, *NETs* — *NETosis*, syn. *DETs*); гетерофильные (нейтрофильные) внеклеточные ловушки формируются нелитическим типом *HETosis* без тотальной реструктуризации и лизиса плазмолеммы (2.1, 2.2) и литическим типом *HETosis* с ремоделированием цитоскелета, тотальной реструктуризацией и лизисом плазмолеммы (2.3), обеспечивающих гуморальный иммунитет

Fig. 2. Scheme reflecting the participation of lysosomal cationic proteins (LCP) of polymorphonuclear leukocytes (PMNs) of peripheral blood in birds in the implementation of cellular and humoral links of immune homeostasis: 1, 2 — blue granules of stable cationic proteins in PMNs lysosomes (cytochemical reaction with bromophenol blue and basic fuchsin for lysosomal cationic proteins according to M.G. Shubich) with a structural predisposition to: degranulation (1); decationization (2); I — transition to the stages of degranulation of lysosomes with LCP in PMNs; 1.1, 1.2, 1.3 — fusion of lysosomes containing LCP and their degranulation in PMNs during phagocytosis, providing cellular immunity; II — transition to the stages of decationization of lysosomes with LCP in PMNs; 2.1, 2.2, 2.3 — termination of PMNs life by restructuring of the plasma membrane and nucleus with the release into the extracellular space of chromatin and lysosomes with LCP (shown by arrows) during the formation of heterophil (neutrophil) extracellular traps (*HETs* — *HETosis*, *NETs* — *NETosis*, syn. *DETs*); heterophil (neutrophil) extracellular traps are formed by the non-lytic type of *HETosis*, without total restructuring and lysis of the plasma membrane (2.1, 2.2) and the lytic type of *HETosis*, with remodeling of the cytoskeleton, total restructuring and lysis of the plasma membrane (2.3), providing humoral immunity



направления и интенсивность иммунных реакций гранулоцитов посредством учета процессов:

1. Дегрануляции ЛКБ — в инициации клеточного фагоцитарного звена.

2. Декатионизации ЛКБ, обуславливающих совокупность гуморального, в том числе опосредованного внеклеточными ловушками звена, иммунитета [33, 41, 43].

Нейтрофильные (гетерофильные) внеклеточные ловушки представляют собой субклеточную и молекулярную сеть со структурной и функциональной основой из ядерного хроматина, гистонов и митохондриальной ДНК. Ведущей иммунной основой ловушек служат свободные, выведенные из лизосом путем декатионизации и кумулированные в лизосомальных гранулах — ЛКБ [4, 9, 25, 26, 28, 30, 33, 41, 43]. Данные внеклеточные ЛКБ-ловушки способны образовываться как в кровяном русле, так и в межклеточной жидкости в очаге воспаления и выполняют роль внеклеточного захвата болезнетворных микроорганизмов с микробицидными, сигнально-иммунными реакциями, регуляции — формирования и активности звеньев иммунитета, аутоиммунных реакций и тромбообразования [4, 5, 7, 9, 25, 26, 28, 30, 33, 41, 43].

2. Механизмы формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ, NETs, HETs — NETosis, HETosis, *syn.* DETs). Функциональная физиологическая и патофизиологическая реализация НВЛ в процессе НЕТоза

Процесс образования внеклеточных ловушек (ВЛ) является одним из типов запрограммированного развития, характерного для нейтрофильных (NETs) — NETosis и эозинофильных гранулоцитов [8, 25, 44], нередко с завершением жизненного цикла данных лейкоцитов, наряду с такими формами клеточной дегенерации, как апоптоз и некроз [7, 25, 26, 43, 45].

НВЛ формируются в регуляторной конкуренции с балансом между направлениями к апоптозу [7, 46], некрозу в зависимости от асептического или септического генеза NETs [7].

Однако, в отличие от апоптоза и некроза, НВЛ изначально являются иммуноассоциированными структурами гуморального звена с сопричастием к клеточному звену иммунитета, в том числе к фагоцитозу [1, 2, 4, 8, 9, 25, 26, 33, 45].

Дискуссионным является ведущее направление иммунных реакций при воспалении в сторону развития НВЛ или фагоцитоза [25, 47]. Размер патогена предложен в качестве ключевого определяющего фактора: когда возбудитель слишком велик, чтобы его можно было поглотить, гранулоциты могут образовывать внеклеточные ловушки [25, 47]. Тем не менее внеклеточные и внутриклеточные паразиты, включая вирусы, могут вызывать NETosis [48]. *Candida albicans* может вызывать NETosis после ее фагоцитирования [26].

Формирование НВЛ — это энергетически и энзимозависимый процесс, происходящий поэтапно

на молекулярном, субклеточном, клеточном уровнях с итоговой функциональной конструкцией во внеклеточном или внутриклеточном пространстве [7, 11, 12, 15, 25, 26, 33, 39, 41].

События формирования ловушек обусловлены реструктуризацией (декомпозицией), то есть разборкой и ремоделированием цитоскелета, гранулярного аппарата, митохондрий, плазмолеммы, матрикса (стромы) ядра и кариолеммы, деконденсацией ядерного хроматина гранулоцитов [25, 26, 33, 41].

Гранулоцитарные ловушки формируются 1) нелигическим (нелизируемым) и 2) лигическим (лизируемым) путями (рис. 2) [25, 33, 41] при септическом и асептическом (*syn.* — стерильном) воспалении (рис. 2), при онтогенетическом развитии звеньев иммунитета [1, 4, 9, 33, 41].

НВЛ стереотипно способны образовываться внутрисосудисто при асептическом воспалении [25], например NETs и HETs под воздействием активных форм кислорода (АФК) при оксидативном стрессе полиэтиологичной природы [25, 26], а также в физиологическом режиме (рис. 2) [25, 33, 41], при стимуляции гранулоцитов продуктами окислительного метаболизма [4, 33, 39, 41].

Экспериментально показан пример нелигического септического НЕТоза, при котором плазмолемма нейтрофилов в целом оставалась интактной, а гранулоциты сохранили свою активность [49]. В этом случае стимулирование нейтрофилов от 5 до 60 мин. *Staphylococcus aureus* вызывало при точечной деструкции плазмолеммы вывод из клеток деконденсированного хроматина и лизосом с бактерицидными катионными белками, которые формировали ловушки во внеклеточном пространстве [49].

В случае нелигического НЕТоза деконденсированный хроматин после деструкции цитоплазматической мембраны выводится во внеклеточное пространство, образуя «паутинный» сетевой каркас ловушек, в который встраиваются выведенные из клетки гранулы (лизосомы) с катионными белками (рис. 2). Во втором лигическом варианте [25, 33, 41] деконденсированный хроматин внутриклеточно образует сеть с гранулами с катионными белками с одновременным процессом лизисной деструкции плазмолеммы (рис. 2).

Морфодинамика НВЛ практически на всех этапах зависит от включения в данный процесс ионов кальция (Ca^{2+}), депонированного в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР), который необходим для активации ферментного аппарата гранулоцитов. При этом в самих механизмах построения ловушек реализуются реакции и молекулярно-субклеточные конструкции, обеспечивающие авторегуляцию образования и активности компонентов НВЛ.

Развитие специальных гранулоцитов в направлении НВЛ инициируется взаимодействием факторов НВЛ со специализированными рецепторами плазмолеммы или внутриклеточными органоидами гранулоцитов. Факторами НВЛ

служат: 1) молекулярные структуры вирулентности патогенных микроорганизмов, в частности поверхностные рецепторы клеточных стенок бактерий, грибов, капсидов вирусов, метаболиты — липополисахариды (*Lipopolysaccharides*, *LPS*); 2) физиологические и патофизиологические метаболиты — активные формы кислорода (АФК), диэфир форбола (*Phorbol-12-Myristate-13-Acetate*, *PMA*), медиаторы воспаления — провоспалительный *IL-8* [50, 51], гистамин, простагландины [9, 11, 25, 26].

Микотоксин фумонизин *B1* (*Fumonisin B1*, *FB1*) [5, 7] и цитринин (*Citrinin*, *CTN*) — вторичный метаболит грибов рода *Aspergillus*, *Penicillium* и *Monascus* [6] — индуцируют НВЛ у гетерофилов птиц посредством активации гетерофильной пептидил аргинин дезаминазы типа 4, обеспечивающий морфобиохимическую перестройку гетерофилов при образовании НВЛ. *FB1* [5, 7] и *CTN* [6] стимулируют синтез активных форм кислорода и активируют $P2 \times 1$ рецептор запуска образования НВЛ гетерофилами в организме птиц.

Конидии *Aspergillus fumigatus* и *in vitro* экстрагированный из *Aspergillus fumigatus* пептидогалактоманнан (галактоманнан, *peptidogalactomannan*, *PGM*) [8] индуцируют НВЛ гетерофилами у птиц посредством запуска в гранулоцитах синтеза активных форм кислорода, активации катионного белка — эластазы и энзима пептидил аргинин дезаминазы типа 4.

Для запуска развития внеклеточных ловушек служат рецепторы плазмолеммы гранулоцитов: с лигандами *G*-белков (*GPCRs*) [51, 52], рецептор фактора некроза опухоли (*TNF*) [53], *Fcγ*-рецепторы [52], *TLR4*-рецептор (толл-подобный рецептор — 4, *CD284*), рецепторы комплемента, гетеродимерные рецепторы с компонентом интегрин $\beta 2$ [54]. Данное рецепторное взаимодействие вызывает активизацию кальциевого пула ЭПР гранулоцитов для включения кальцийзависимых ферментов на каждом этапе развития ловушек.

Эвакуация кальция из ЭПР возможна при непосредственном нереперторном воздействии на гранулоциты бактериальных токсинов, таких как иономицин [55], нигерицин [56], а также активных форм кислорода (АФК) [57]. Выработка АФК, необходимых для задействования кальциевого пула ЭПР при формировании НВЛ, обеспечивается митохондриями и НАДФН-оксидазой (*NADPH-oxidases*, *NOXs*) [26].

Реструктуризация ядра гранулоцита при НЕТозе обеспечивается деконденсацией (декомпактизацией) хроматина с упразднением его гетерогенности и декомпозицией нуклеарной ламинарной сети матрикса (стромы). Десегрегация хроматина на эухроматин и гетерохроматин происходит вследствие его деконденсации комплексом энзимов, в том числе из азурофильных первичных гранул [57].

Деконденсация хроматина (и прежде всего его гетерохроматиновой фракции) осуществляется путем модификации и расщепления гистонов *H1*,

H2A, *H2B*, *H3* и *H4*-ферментами — пептидил аргинин дезаминазой типа 4 (*Peptidyl Arginine Deiminase 4*, *PAD4*), протеолитической нейтрофильной эластазой (*Neutrophil Elastase*, *NE*) и цистеиновой протеазой — кальпаином (*Calpain*) [25, 26, 43].

Активируемая внутриклеточными ионами кальция *PAD4* осуществляет дезаминирование аргининовых остатков в цитруллиновые в трех из четырех коровых гистонах.

Цитруллинирование гистонов приводит к уменьшению электростатического взаимодействия между гистонами и ДНК [55, 58]. Индуцированное *PAD4*-снижение положительного заряда гистонов уменьшает их сродство к отрицательно заряженной ДНК, в результате чего происходит диссоциация связей гистонов с ДНК, приводя к потере компактной структуры хроматина и его деконденсации [55]. Для внеклеточного выведения деконденсированной ДНК при формировании ловушек нуклеиновая кислота эвакуируется из ядра, в связи с этим происходит опосредованное кальцийзависимой протеинкиназой *C* (*Protein Kinase C*, *PKC*) фосфорилирование ламинных структур в основе каркаса ядерной стромы [59]. Дегградацию ламинарной сети стромы ядра вызывают *PAD4* и иономицин [26]. Деструкция кариолеммы происходит вследствие воздействия на нее продуктов расщепления цитозольного белка — гасдермина *D* (*Gasdermin D*), которые под действием ферментов каспаз (*Caspases*) усиливают проницаемость ядерной мембраны вплоть до ее разрыва [60–62].

Тотальная декомпозиция структур ядра гранулоцита при НЕТозе реализуется сопряженно с реструктуризацией цитоскелета [25, 26, 43, 63].

В принципе интактная и патологическая адаптация формы клеток и логистика мембранных органелл, включая аппарат Гольджи, митохондрии и ядерную оболочку к потребностям жизнедеятельности клеток для модуляции структуры, динамики и субклеточного расположения органелл, в том числе в ходе НЕТоза, реализуется прежде всего за счет интермедиативных (вставочных, промежуточных) филаментов (нитей) цитоскелетного белка — виментина [63]. При этом функционально взаимосвязанные моторные белки (динеины и кинезин-1) обеспечивают локомоцию филаментов виментина по тубулиновым микротрубочкам в реакциях перестройки цитоскелета в физиологических и патофизиологических процессах на субклеточном и клеточном уровнях [26, 43, 63]. Эпигенетическая координация субклеточного трафика органоидов и их отдельных компонентов обеспечивается комплектом динамичного цитоскелета — филаментами актина, виментина с белками динеином, кинезином-1 и тубулиновыми микротрубочками [59, 63].

Так, три цитоскелетные системы клетки образуют плотную взаимосвязанную сеть, которая обеспечивает и сохраняет физическую целостность клетки: 1. жесткая сеть микротрубочек регулирует

транспортировку и распределение мембранных органелл по всей клетке; 2. динамический актиновый цитоскелет составляет корсет плазматической мембраны, устанавливает натяжение и вызывает изменения формы клеток; 3. густая сеть промежуточных нитей виментина позволяет клеткам противостоять большим деформациям [25, 26, 43, 63].

Наиболее выраженное remodelирование цитоскелета осуществляется при литическом НЕТозе путем реструктуризации тубулиновых цепочек микротрубочек, промежуточных виментиновых и актиновых филаментов [63, 64]. Тубулин и виментин перестраиваются кальцийзависимым цитруллинированием, протеолитическим расщеплением протеазами и фосфорилированием киназами (*Kinases, Protein Kinases*) [64].

Сеть кортикальных актиновых филаментов действует как финальное биофизическое препятствие разрыву плазмолеммы и высвобождению ДНК и гранул с ЛКБ во внеклеточное пространство при НЕТозе [26].

Актиновые филаменты деполимеризуются под действием РМА, иономицина и *LPS* [62, 64] и окисляются АФК с предотвращением вторичной полимеризации за счет действия собственных гранулоцитарных плазменных белков *CasL MICAL* [65] и бактериального ионофора кальция [66]. При этом белки *CasL MICAL* активируются АФК [67].

При нелитическом типе НЕТоза экструзия внеклеточной ДНК происходит локально в участках разрыва плазматической мембраны [26, 64]. Один из механизмов деструкции плазмолеммы при НЕТозе является биофизическим и вызывается воздействием внутриклеточного давления де-конденсированного хроматина вследствие его реструктуризации [26, 64]. По данным [64], оценка давления на плазмолемму, создаваемая полностью раскрытой геномной ДНК, составляет 100–200 Па, в конце НЕТоза давление сохраняется до 20 Па. Поэтому набухание хроматина может механически разрывать плазматическую мембрану [64].

Однако временной интервал итоговой деструкции плазмолеммы с выводом всех компонентов НВЛ зависит от иммунных резервов организма животного, уровня и направления (заразного, аутоиммунного) их активации, при септическом воспалении, от патогенности, вирулентности микроорганизмов и составляет несколько минут или часов после лавинного или постепенного увеличения ее проницаемости [25, 26, 43, 64].

Так, некоторые штаммы бактерий способны ослаблять и подавлять развитие НЕТоза различными путями, в том числе через связывание с собственными рецепторами плазмолеммы гранулоцитов, которые регулируют их активацию. В частности, стрептококки группы А (*GAS*) и стрептококки группы В (*GBS*) применяют молекулы, маскирующиеся под сиаловые кислоты, которые являются адекватными сигналами для рецепторов гранулоцитов типа *Siglec* и так подавляют синтез АФК, необходимых для НЕТоза [68, 69]. Со схожим механизмом

могут действовать *Pseudomonas aeruginosa*, подавляя НЕТоз посредством связывания с регуляторным рецептором гранулоцитов «Сиглек-9» (*Siglec-9*) путем покрытия себя сиалилированными гликопротеинами хозяина-носителя [70].

Бактериальные эндонуклеазы, продуцируемые *Streptococcus pneumoniae* [71] и *Neisseria gonorrhoeae*, способны разрушать НВЛ [72]. Бактериальные капсулы способны ограничивать захват вегетативных форм *Streptococcus pneumoniae* сетью НВЛ [73].

Известна роль ЛКБ ПМЯЛ как в развитии общего воспалительного процесса, так и в патогенезе ряда болезней неинфекционной природы с поражением сосудов микроциркуляторного русла, таких как атеросклероз, ишемия, ревматоидный артрит, патологии легких, в том числе астмы [3, 21].

Провоцирующую роль НЕТоза отмечают в остром респираторном дистресс-синдроме взрослых (*Acute Respiratory Distress Syndrome*), остром повреждении легких (*Acute Lung Injury*), кистозном фиброзе (*Cystic Fibrosis*) [74]. Значима роль ПМЯЛ и их производных НВЛ в патогенезе аутоиммунных болезней, обусловленных альтерацией клеток вследствие аутогенного иммунного ответа на антигены организма [74]. В связи с этим подчеркивается актуальность изучения функций ПМЯЛ в организме [17].

НВЛ за счет протеолитического действия эластазы [75, 76], ДНКазы (*DNase-1*) [77] и цитотоксичности свободных гистонов [76, 78] и дефенсинов [79] способны нарушать целостность плазмолеммы здоровых эпителиоцитов, эндотелиальных клеток и гепатоцитов.

Стартовые роли гранулоцитов и их НВЛ в продукции медиаторов воспалительных, аутоиммунных реакций служат основой пролонгации клеточного, гуморального иммунитета [1–4, 9, 11, 33, 41–43, 45, 80] и регуляции тромбообразования в физиологических и патофизиологических процессах. Так, в физиологическом ключе при развитии защитных воспалительных реакций ЛКБ ПМЯЛ оказывают существенное антикоагулянтное воздействие за счет ингибирования тромбопластина — фактора свертывания крови [81] — путем блокирования функции некоторых структурных фосфолипидов тромбоцитов, имеющих отрицательный заряд молекулы, в основном таких, как кефалины (*Cephalins, Kephalsins*) [81]. Подчеркнем, антикоагулянтное действие ЛКБ обеспечивает необходимое реологическое состояние микроциркуляторных участков внутренней среды в развитии защитного воспалительного процесса.

Однако НВЛ могут способствовать развитию вазоокклюзии за счет роли нейтрофилов в тромбозе. При тромбозе в локусах адгезии нейтрофилы продуцируют НВЛ, служащие вместе с фибрином функциональной стромой образующегося тромба. Эффект НВЛ в активизации тромбоза заключается в том, что адсорбированные на внутрисосудистых фибриллах хроматина ЛКБ — сериновые протеазы

эластаза и катепсин G — деградируют ингибиторы коагуляции крови [82]. НВЛ способны рецепторно (внутрисосудисто) стимулировать высвобождение из эндотелия медиаторов тромбообразования, таких как фактор Виллебранда [83] и Р-селектин [84]. При этом Р-селектин является хемоаттрактором для нейтрофилов в развивающийся очаг воспаления [84]. Гистоны в составе НВЛ внутрисосудисто способны кумулировать фактор Виллебранда и фибрин, таким образом агрегируя тромбоциты и эритроциты при тромбозе [82, 83].

3. Иммунный гомеостаз НВЛ — механизмы авторегуляции образования и активности НВЛ

Реализуемые гранулоцитами внутриклеточные механизмы регуляции активации и ингибирования синтеза АФК, необходимых для образования НВЛ, состоят в следующем:

1. ЛКБ ПМЯЛ (дефензины могут инактивировать НАДФ (оксидазу) и, следовательно, блокировать НАДФ (оксидаз) — зависимую продукцию супероксидных радикалов, таким образом, регулируют иммунный ответ, так как в данном случае супероксидные радикалы направлены на противомикробное действие в фагоцитах [24]. В этом проявляется и защитное действие ЛКБ от чрезмерной продукции свободных радикалов кислорода и, соответственно, от развития патологических последствий оксидативного стресса в организме [24].

2. Каталаза (*Catalase*) и супероксиддисмутаза (*Superoxide Dismutases, SODs*) подавляют синтез АФК [9].

3. Семейство белков *MUNC-13-4* посредством связывания с цитохромом *flavocytochrome b558* регулируют сборку *NADPH oxidase*, обеспечивающей продукцию АФК [85].

Эндонуклеаза — ДНКаз-1 (*DNase-1*) — катализирует деградацию выброшенного из нейтрофилов хроматина и так ограничивает НЕТоз [77, 86].

Выводы/Conclusion

Лизосомальные катионные белки гранулоцитов — это эволюционно раносформированная система врожденного иммунитета, так как ЛКБ функционируют в организме беспозвоночных и позвоночных животных. При этом ЛКБ участвуют в онтогенетическом развитии клеточного и гуморального звена неспецифического и специфического пулов иммунитета.

Биохимическая и биофизическая универсальность микробицидных механизмов ЛКБ и сопричастных с ними субклеточных структур определяет широкий спектр патогенных объектов воздействия, включающих вирусы, бактерии, грибы. Однако неспецифичность воздействия ЛКБ ограничивает напряженность их действия в сравнении со специфическими реакциями приобретенного иммунитета.

Избыточность реакций ЛКБ субклеточной, в том числе нуклеарной, стромы в составе НВЛ способствует побочным последствиям, соотносимым с воздействием на организм аутоиммунного цитокинового шторма.

Внеклеточные гранулоцитарные ловушки — это эффективная система реагирования гранулоцитов на стресс-реакции физиологической и патофизиологической этиологии.

НВЛ обеспечивают реализацию гуморального звена иммунитета за счет тотального микробицидного действия на патогены лизосомальных катионных белков или подготавливают ослабленные лизосомальными катионными белками патогены к последующему фагоцитозу.

Найдены цитофизиологические критерии оценки иммунологических реакций ЛКБ на основе расчета индексов дегрануляции и декатионизации ЛКБ гранулоцитов, позволяющие оценивать вовлеченность и потенциал гранулоцитов в резистентности организма к воздействию стресс-факторов.

Все авторы несут ответственность за работу и представленные данные. Все авторы внесли равный вклад в работу. Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат. Авторы объявили об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data. All authors made an equal contribution to the work. The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism. The authors declare no conflict of interest.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бережная Н.М. Нейтрофилы и иммунологический гомеостаз. Киев: *Наукова думка*. 1988; 187. ISBN 5-12-000251-X
2. Borregaard N., Cowland J.B. Granules of the Human Neutrophilic Polymorphonuclear Leukocyte. *Blood*. 1997; 89(10): 3503–3521. <https://doi.org/10.1182/blood.V89.10.3503>
3. Soehnlein O., Weber C., Lindbom L. Neutrophil granule proteins tune monocyte cell function. *Trends in Immunology*. 2009; 30(11): 538–546. <https://doi.org/10.1016/j.it.2009.06.006>
4. Пигаревский В.Е. Зернистые лейкоциты и их свойства. М.: *Медицина*. 1978; 127.
5. Wu Z. et al. Fumonisin B₁ induces chicken heterophil extracellular traps mediated by PAD4 enzyme and P2 × 1 receptor. *Poultry Science*. 2022; 101(1): 101550. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101550>

REFERENCES

1. Berezhnaya N.M. Neutrophils and immunological homeostasis. Kyiv: *Naukova dumka*. 1988; 187 (in Russian). ISBN 5-12-000251-X
2. Borregaard N., Cowland J.B. Granules of the Human Neutrophilic Polymorphonuclear Leukocyte. *Blood*. 1997; 89(10): 3503–3521. <https://doi.org/10.1182/blood.V89.10.3503>
3. Soehnlein O., Weber C., Lindbom L. Neutrophil granule proteins tune monocyte cell function. *Trends in Immunology*. 2009; 30(11): 538–546. <https://doi.org/10.1016/j.it.2009.06.006>
4. Pigarevsky V.E. Granular leukocytes and their properties. Moscow: *Meditsina*. 1978; 127 (in Russian).
5. Wu Z. et al. Fumonisin B₁ induces chicken heterophil extracellular traps mediated by PAD4 enzyme and P2 × 1 receptor. *Poultry Science*. 2022; 101(1): 101550. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101550>

6. Chen Y. *et al.* Citrinin stimulated heterophil extracellular trap formation in chickens. *Molecular Immunology*. 2022; 152: 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2022.09.014>
7. Wu H. *et al.* The release of FB₁-induced heterophil extracellular traps in chicken is dependent on autophagy and glycolysis. *Poultry Science*. 2023; 102(4): 102511. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102511>
8. Lima-Gomes P.d.S. *et al.* Chick heterophils release DNA extracellular traps (DETs) *in vitro* and *in vivo* upon *Aspergillus fumigatus* conidia exposure. *Microbes and Infection*. 2024; 26(3): 105261. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2023.105261>
9. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs. *Nature Reviews Microbiology*. 2007; 5(8): 577–582. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1710>
10. Horwitz M., Benson K.F., Duan Z., Li F.-Q., Person R.E. Hereditary neutropenia: dogs explain human neutrophil elastase mutations. *Trends in Molecular Medicine*. 2004; 10(4): 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2004.02.002>
11. Brinkmann V. *et al.* Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science*. 2004; 303(5663): 1532–1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
12. Averhoff P., Kolbe M., Zychlinsky A., Weinrauch Y. Single Residue Determines the Specificity of Neutrophil Elastase for *Shigella* Virulence Factors. *Journal of Molecular Biology*. 2008; 377(4): 1053–1066. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.12.034>
13. Urban C.F. *et al.* Neutrophil Extracellular Traps Contain Calprotectin, a Cytosolic Protein Complex Involved in Host Defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathogens*. 2009; 5(10): e1000639. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000639>
14. Bianchi M., Niemiec M.J., Siler U., Urban C.F., Reichenbach J. Restoration of anti-*Aspergillus* defense by neutrophil extracellular traps in human chronic granulomatous disease after gene therapy is calprotectin-dependent. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011; 127(5): 1243–1252.e7. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.01.021>
15. Chen C.X.-J., Soto I., Guo Y.-L., Liu Y. Control of Secondary Granule Release in Neutrophils by Ral GTPase. *Journal of Biological Chemistry*. 2011; 286(13): 11724–11733. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.154203>
16. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань: функциональная морфология и общая патология. М.: Медицина. 1981; 312.
17. Witko-Sarsat V., Rieu P., Descamps-Latscha B., Lesavre P., Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: Molecules, Functions and Pathophysiological Aspects. *Laboratory Investigation*. 2000; 80(5): 617–653. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3780067>
18. Soehnlein O., Lindbom L., Weber C. Mechanisms underlying neutrophil-mediated monocyte recruitment. *Blood*. 2009; 114(21): 4613–4623. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-06-221630>
19. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле. *Иммунология*. 2015; 36(4): 257–265. <https://www.elibrary.ru/umhqkj>
20. Mócsai A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond. *Journal of Experimental Medicine*. 2013; 210(7): 1283–1299. <https://doi.org/10.1084/jem.20122220>
21. Sheshachalam A., Srivastava N., Mitchell T., Lacy P., Eitzen G. Granule protein processing and regulated secretion in neutrophils. *Frontiers in Immunology*. 2014; 5: 448. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00448>
22. Bystrom J., Amin K., Bishop-Bailey D. Analysing the eosinophil cationic protein — a clue to the function of the eosinophil granulocyte. *Respiratory Research*. 2011; 12: 10. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-12-10>
23. Clark R.A., Olsson I., Klebanoff S.J. Cytotoxicity for tumor cells of cationic proteins from human neutrophil granules. *Journal of Cell Biology*. 1976; 70(3): 719–723. <https://doi.org/10.1083/jcb.70.3.719>
24. Tal T., Sharabani M., Aviram I. Cationic proteins of neutrophil azurophilic granules: protein-protein interaction and blockade of NADPH oxidase activation. *Journal of Leukocyte Biology*. 1998; 63(3): 305–311. <https://doi.org/10.1002/jlb.63.3.305>
25. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2018; 18(2): 134–147. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.105>
6. Chen Y. *et al.* Citrinin stimulated heterophil extracellular trap formation in chickens. *Molecular Immunology*. 2022; 152: 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2022.09.014>
7. Wu H. *et al.* The release of FB₁-induced heterophil extracellular traps in chicken is dependent on autophagy and glycolysis. *Poultry Science*. 2023; 102(4): 102511. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102511>
8. Lima-Gomes P.d.S. *et al.* Chick heterophils release DNA extracellular traps (DETs) *in vitro* and *in vivo* upon *Aspergillus fumigatus* conidia exposure. *Microbes and Infection*. 2024; 26(3): 105261. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2023.105261>
9. Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs. *Nature Reviews Microbiology*. 2007; 5(8): 577–582. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1710>
10. Horwitz M., Benson K.F., Duan Z., Li F.-Q., Person R.E. Hereditary neutropenia: dogs explain human neutrophil elastase mutations. *Trends in Molecular Medicine*. 2004; 10(4): 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2004.02.002>
11. Brinkmann V. *et al.* Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science*. 2004; 303(5663): 1532–1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
12. Averhoff P., Kolbe M., Zychlinsky A., Weinrauch Y. Single Residue Determines the Specificity of Neutrophil Elastase for *Shigella* Virulence Factors. *Journal of Molecular Biology*. 2008; 377(4): 1053–1066. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.12.034>
13. Urban C.F. *et al.* Neutrophil Extracellular Traps Contain Calprotectin, a Cytosolic Protein Complex Involved in Host Defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathogens*. 2009; 5(10): e1000639. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000639>
14. Bianchi M., Niemiec M.J., Siler U., Urban C.F., Reichenbach J. Restoration of anti-*Aspergillus* defense by neutrophil extracellular traps in human chronic granulomatous disease after gene therapy is calprotectin-dependent. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2011; 127(5): 1243–1252.e7. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.01.021>
15. Chen C.X.-J., Soto I., Guo Y.-L., Liu Y. Control of Secondary Granule Release in Neutrophils by Ral GTPase. *Journal of Biological Chemistry*. 2011; 286(13): 11724–11733. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.154203>
16. Serov V.V., Shekhter A.B. Connective tissue: functional morphology and general pathology. Moscow: Meditsina. 1981; 312 (in Russian).
17. Witko-Sarsat V., Rieu P., Descamps-Latscha B., Lesavre P., Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils: Molecules, Functions and Pathophysiological Aspects. *Laboratory Investigation*. 2000; 80(5): 617–653. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3780067>
18. Soehnlein O., Lindbom L., Weber C. Mechanisms underlying neutrophil-mediated monocyte recruitment. *Blood*. 2009; 114(21): 4613–4623. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-06-221630>
19. Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Evglevsky A.A. Neutrophilic granulocytes: a new look at “old players” on the immunological field. *Immunologiya*. 2015; 36(4): 257–265 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/umhqkj>
20. Mócsai A. Diverse novel functions of neutrophils in immunity, inflammation, and beyond. *Journal of Experimental Medicine*. 2013; 210(7): 1283–1299. <https://doi.org/10.1084/jem.20122220>
21. Sheshachalam A., Srivastava N., Mitchell T., Lacy P., Eitzen G. Granule protein processing and regulated secretion in neutrophils. *Frontiers in Immunology*. 2014; 5: 448. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00448>
22. Bystrom J., Amin K., Bishop-Bailey D. Analysing the eosinophil cationic protein — a clue to the function of the eosinophil granulocyte. *Respiratory Research*. 2011; 12: 10. <https://doi.org/10.1186/1465-9921-12-10>
23. Clark R.A., Olsson I., Klebanoff S.J. Cytotoxicity for tumor cells of cationic proteins from human neutrophil granules. *Journal of Cell Biology*. 1976; 70(3): 719–723. <https://doi.org/10.1083/jcb.70.3.719>
24. Tal T., Sharabani M., Aviram I. Cationic proteins of neutrophil azurophilic granules: protein-protein interaction and blockade of NADPH oxidase activation. *Journal of Leukocyte Biology*. 1998; 63(3): 305–311. <https://doi.org/10.1002/jlb.63.3.305>
25. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2018; 18(2): 134–147. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.105>

26. Thiam H.R., Wong S.L., Wagner D.D., Waterman C.M. Cellular Mechanisms of NETosis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2020; 36: 191–218. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-020520-111016>
27. Cochrane C.G. The participation of cells in the inflammatory injury of tissue. *The Journal of Investigative Dermatology*. 1975; 64(5): 301–306. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12512255>
28. Ranadive N.S., Cochrane C.G. Mechanism of Histamine Release from Mast Cells by Cationic Protein (Band 2) from Neutrophil Lysosomes. *The Journal of Immunology*. 1971; 106(2): 506–516. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.106.2.506>
29. Нагоев Б.С. Очерки о нейтрофильном гранулоците. Нальчик: Эльбрус. 1986; 142.
30. Шубич М.Г. Выявление катионного белка в цитоплазме лейкоцитов с помощью бромфенолового синего. *Цитология*. 1974; 16(10): 1321–1322. <https://www.elibrary.ru/qbthxd>
31. Нагоев Б.С. Качественные и количественные показатели лизосомального катионного белка лейкоцитов у здоровых людей. *Лабораторное дело*. 1983; (6): 6–9.
32. Дробот Г.П., Забиякин В.А., Степанова А.Е., Смоленцев С.Ю. Динамика цитохимических показателей псевдоэозинофилов крови цесарок. *Российская сельскохозяйственная наука*. 2017; (1): 42–44. <https://www.elibrary.ru/xtdnvf>
33. Колесник Е.А., Дерхо М.А., Лебедева И.А. Комплексная морфологическая характеристика иммунного лизосомального катионного белка лейкоцитов в раннем онтогенезе бройлерных кур. *Ученые записки Казанского университета. Серия: Естественные науки*. 2019; 161(3): 440–458. <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2019.3.440-458>
34. Pourtabrizi M., Shahtahmassebi N., Sharifmoghadam M.R. Bromophenol blue doped in nano-droplet: spectroscopy, nonlinear optical properties and *Staphylococcus aureus* treatment. *Optical and Quantum Electronics*. 2021; 53: 1. <https://doi.org/10.1007/s11082-020-02634-9>
35. Plaza-Garrido M., Salinas-Garcia M.C., Alba-Elena D., Martínez J.C., Camara-Artigas A. Lysozyme crystals dyed with bromophenol blue: where has the dye gone?. *Acta Crystallographica Section D: Structural Biology*. 2020; 76(9): 845–856. <https://doi.org/10.1107/S2059798320008803>
36. Barron A.J., Agrawal S., Lesperance D.N.A., Doucette J., Calle S., Broderick N.A. Microbiome-derived acidity protects against microbial invasion in *Drosophila*. *Cell Reports*. 2024; 43(4): 114087. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.114087>
37. Pastore A., Badocco D., Cappellin L., Pastore P. Modeling the Dichromatic Behavior of Bromophenol Blue to Enhance the Analytical Performance of pH Colorimetric Sensor Arrays. *Chemosensors*. 2022; 10(2): 87. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10020087>
38. Мазинг Ю.А. Функциональная морфология катионных белков лизосом нейтрофильных гранулоцитов. *Вопросы медицинской химии*. 1990; 36(6): 8–10.
39. Chuammitri P., Ostojić J., Andreassen C.B., Redmond S.B., Lamont S.J., Palic D. Chicken heterophil extracellular traps (HETs): Novel defense mechanism of chicken heterophils. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2009; 129(1–2): 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.12.013>
40. Jones M.P. Avian Hematology. *Clinics in Laboratory Medicine*. 2015; 35(3): 649–659. <https://doi.org/10.1016/j.cl.2015.05.013>
41. Колесник Е.А. Цитофизиологические и математические критерии оценки фаголизосом и нейтрофильных внеклеточных ловушек в клеточном и гуморальном звеньях иммунитета. *2nd Congress of the International Society for Clinical Physiology and Pathology (ISCPP2024)*. Moscow. 2024; 24–26. <https://doi.org/10.5281/zenodo.13739047>
42. Колесник Е.А., Дерхо М.А. Об участии гипоталамическо-адренотропических гормонов в регуляции клеточного пула крови у цыплят-бройлеров. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2018; (1): 64–74. <https://doi.org/10.25687/1996-6733.prodanimb.2018.1.64-74>
43. Rada B. Neutrophil Extracellular Traps. Knaus U., Leto T. (eds.). *NADPH Oxidases. Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Humana. 2019; 1982: 517–528. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9424-3_31
44. Metzler K.D., Goosmann C., Lubojemska A., Zychlinsky A., Papayannopoulos V. A Myeloperoxidase-Containing Complex Regulates Neutrophil Elastase Release and Actin Dynamics during NETosis. *Cell Reports*. 2014; 8(3): 883–896. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.06.044>
26. Thiam H.R., Wong S.L., Wagner D.D., Waterman C.M. Cellular Mechanisms of NETosis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2020; 36: 191–218. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-020520-111016>
27. Cochrane C.G. The participation of cells in the inflammatory injury of tissue. *The Journal of Investigative Dermatology*. 1975; 64(5): 301–306. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12512255>
28. Ranadive N.S., Cochrane C.G. Mechanism of Histamine Release from Mast Cells by Cationic Protein (Band 2) from Neutrophil Lysosomes. *The Journal of Immunology*. 1971; 106(2): 506–516. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.106.2.506>
29. Nagoyev B.S. Essays on the neutrophilic granulocyte. Nalchik: El'brus. 1986; 142 (in Russian).
30. Shubich M.G. Detection of cationic proteins in the cytoplasm of leukocytes with the use of bromphenol blue. *Tsitologiya*. 1974; 16(10): 1321–1322 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/qbthxd>
31. Nagoyev B.S. Qualitative and quantitative indices of lysosomal cationic leukocyte protein in healthy persons. *Laboratornoye delo*. 1983; (6): 6–9 (in Russian).
32. Drobot G.P., Zabyakin V.A., Stepanova A.E., Smolentsev S.Yu. Dynamics of cytochemical indicators of pseudoeosinophil [sic!] blood of guinea fowl. *Rossiyskaya sel'skokhozyaystvennaya nauka*. 2017; (1): 42–44 (in Russian). <https://www.elibrary.ru/xtdnvf>
33. Kolesnik E.A., Derkho M.A., Lebedeva I.A. Comprehensive morphophysiological description of the immune lysosomal cationic protein of leukocytes in the early ontogeny of broiler chickens. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Series: Estestvennye Nauki*. 2019; 161(3): 440–458 (in Russian). <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2019.3.440-458>
34. Pourtabrizi M., Shahtahmassebi N., Sharifmoghadam M.R. Bromophenol blue doped in nano-droplet: spectroscopy, nonlinear optical properties and *Staphylococcus aureus* treatment. *Optical and Quantum Electronics*. 2021; 53: 1. <https://doi.org/10.1007/s11082-020-02634-9>
35. Plaza-Garrido M., Salinas-Garcia M.C., Alba-Elena D., Martínez J.C., Camara-Artigas A. Lysozyme crystals dyed with bromophenol blue: where has the dye gone?. *Acta Crystallographica Section D: Structural Biology*. 2020; 76(9): 845–856. <https://doi.org/10.1107/S2059798320008803>
36. Barron A.J., Agrawal S., Lesperance D.N.A., Doucette J., Calle S., Broderick N.A. Microbiome-derived acidity protects against microbial invasion in *Drosophila*. *Cell Reports*. 2024; 43(4): 114087. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.114087>
37. Pastore A., Badocco D., Cappellin L., Pastore P. Modeling the Dichromatic Behavior of Bromophenol Blue to Enhance the Analytical Performance of pH Colorimetric Sensor Arrays. *Chemosensors*. 2022; 10(2): 87. <https://doi.org/10.3390/chemosensors10020087>
38. Mazing Yu.A. Functional morphology of lysosomal cationic proteins in neutrophilic granulocytes. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1990; 36(6): 8–10 (in Russian).
39. Chuammitri P., Ostojić J., Andreassen C.B., Redmond S.B., Lamont S.J., Palic D. Chicken heterophil extracellular traps (HETs): Novel defense mechanism of chicken heterophils. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2009; 129(1–2): 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.12.013>
40. Jones M.P. Avian Hematology. *Clinics in Laboratory Medicine*. 2015; 35(3): 649–659. <https://doi.org/10.1016/j.cl.2015.05.013>
41. Kolesnik E.A. Cytophysiological and mathematical criteria for assessing phagolysosomes and neutrophil extracellular traps in the cellular and humoral immunity. *2nd Congress of the International Society for Clinical Physiology and Pathology (ISCPP2024)*. Moscow. 2024; 24–26 (in Russian). <https://doi.org/10.5281/zenodo.13739047>
42. Kolesnik E.A., Derkho M.A. About participation of pituitary-adrenocortical hormones in regulation of blood cellular pool in chicken-broilers. *Problems of Productive Animal Biology*. 2018; (1): 64–74 (in Russian). <https://doi.org/10.25687/1996-6733.prodanimb.2018.1.64-74>
43. Rada B. Neutrophil Extracellular Traps. Knaus U., Leto T. (eds.). *NADPH Oxidases. Methods in Molecular Biology*. New York, NY: Humana. 2019; 1982: 517–528. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9424-3_31
44. Metzler K.D., Goosmann C., Lubojemska A., Zychlinsky A., Papayannopoulos V. A Myeloperoxidase-Containing Complex Regulates Neutrophil Elastase Release and Actin Dynamics during NETosis. *Cell Reports*. 2014; 8(3): 883–896. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.06.044>

45. Kharisma V.D. *et al.* Garcinoxanthones from *Garcinia mangostana* L. tackle SARS-CoV-2 infection and cytokine storm pathway inhibition: A viroinformatics study. *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research*. 2023; 11(5): 743–756. https://doi.org/10.56499/jppres23.1650_11.5.743
46. Колесник Е.А., Дерхо М.А., Ребезов М.Б. Формы дегенерации клеток крови, их физиологическое и клиническое значение, механизмы образования, тени клеток в мазках крови птиц. *Аграрная наука*. 2024; (1): 65–74. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-378-1-65-74>
47. Branzk N. *et al.* Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens. *Nature Immunology*. 2014; 15(11): 1017–1025. <https://doi.org/10.1038/ni.2987>
48. Delgado-Rizo V., Martínez-Guzmán M.A., Iñiguez-Gutierrez L., García-Orozco A., Alvarado-Navarro A., Fafutis-Morris M. Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview. *Frontiers in Immunology*. 2017; (8): 81. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00081>
49. Pilsczek F.H. *et al.* A Novel Mechanism of Rapid Nuclear Neutrophil Extracellular Trap Formation in Response to *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Immunology*. 2010; 185(12): 7413–7425. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000675>
50. de Bont C.M., Koopman W.J.H., Boelens W.C., Pruijn G.J.M. Stimulus-dependent chromatin dynamics, citrullination, calcium signalling and ROS production during NET formation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Molecular Cell Research*. 2018; 1865(11–A): 1621–1629. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.08.014>
51. Gupta A.K., Giaglis S., Hasler P., Hahn S. Efficient Neutrophil Extracellular Trap Induction Requires Mobilization of Both Intracellular and Extracellular Calcium Pools and Is Modulated by Cyclosporine A. *PLoS ONE*. 2014; 9(5): e97088. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097088>
52. Rossaint J. *et al.* Synchronized integrin engagement and chemokine activation is crucial in neutrophil extracellular trap-mediated sterile inflammation. *Blood*. 2014; 123(16): 2573–2584. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-07-516484>
53. Keshari R.S. *et al.* Cytokines Induced Neutrophil Extracellular Traps Formation: Implication for the Inflammatory Disease Condition. *PLoS ONE*. 2012; 7(10): e48111. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048111>
54. Schappe M.S. *et al.* Chanzyme TRPM7 Mediates the Ca²⁺ Influx Essential for Lipopolysaccharide-Induced Toll-Like Receptor 4 Endocytosis and Macrophage Activation. *Immunity*. 2018; 48(1): 59–74.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.11.026>
55. Wang Y. *et al.* Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *Journal of Cell Biology*. 2009; 184(2): 205–213. <https://doi.org/10.1083/jcb.200806072>
56. Kenny E.F. *et al.* Diverse stimuli engage different neutrophil extracellular trap pathways. *eLife*. 2017; 6: e24437. <https://doi.org/10.7554/eLife.24437>
57. Fuchs T.A. *et al.* Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *Journal of Cell Biology*. 2007; 176(2): 231–241. <https://doi.org/10.1083/jcb.200606027>
58. Sun B. *et al.* Citrullination of NF-κB p65 promotes its nuclear localization and TLR-induced expression of IL-1β and TNFα. *Science Immunology*. 2017; 2(12): eaal3062. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aal3062>
59. Li Y., Werth V.P., Mall M., Liu M.-L. Nuclear lamin B is crucial to the nuclear envelope integrity and extracellular trap release in neutrophils. *bioRxiv*. 2019; 647529. <https://doi.org/10.1101/647529>
60. Ruan J., Xia S., Liu X., Lieberman J., Wu H. Cryo-EM structure of the gasdermin A3 membrane pore. *Nature*. 2018; 557(7703): 62–67. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0058-6>
61. Chen K.W. *et al.* Noncanonical inflammasome signaling elicits gasdermin D-dependent neutrophil extracellular traps. *Science Immunology*. 2018; 3(26): eaar6676. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aar6676>
62. Sollberger G. *et al.* Gasdermin D plays a vital role in the generation of neutrophil extracellular traps. *Science Immunology*. 2018; 3(26): eaar6689. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aar6689>
63. Renganathan B. *et al.* Transport and Organization of Individual Vimentin Filaments Within Dense Networks Revealed by Single Particle Tracking and 3D FIB-SEM. *bioRxiv*. 2024; 2024.06.10.598346. <https://doi.org/10.1101/2024.06.10.598346>
45. Kharisma V.D. *et al.* Garcinoxanthones from *Garcinia mangostana* L. tackle SARS-CoV-2 infection and cytokine storm pathway inhibition: A viroinformatics study. *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research*. 2023; 11(5): 743–756. https://doi.org/10.56499/jppres23.1650_11.5.743
46. Kolesnik E.A., Derkho M.A., Rebezov M.B. Forms of degeneration of blood cells, their physiological and clinical significance, mechanisms of formation, shadows of cells in blood smears of birds. *Agrarian science*. 2024; (1): 65–74 (in Russian). <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-378-1-65-74>
47. Branzk N. *et al.* Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens. *Nature Immunology*. 2014; 15(11): 1017–1025. <https://doi.org/10.1038/ni.2987>
48. Delgado-Rizo V., Martínez-Guzmán M.A., Iñiguez-Gutierrez L., García-Orozco A., Alvarado-Navarro A., Fafutis-Morris M. Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview. *Frontiers in Immunology*. 2017; (8): 81. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00081>
49. Pilsczek F.H. *et al.* A Novel Mechanism of Rapid Nuclear Neutrophil Extracellular Trap Formation in Response to *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Immunology*. 2010; 185(12): 7413–7425. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000675>
50. de Bont C.M., Koopman W.J.H., Boelens W.C., Pruijn G.J.M. Stimulus-dependent chromatin dynamics, citrullination, calcium signalling and ROS production during NET formation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Molecular Cell Research*. 2018; 1865(11–A): 1621–1629. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2018.08.014>
51. Gupta A.K., Giaglis S., Hasler P., Hahn S. Efficient Neutrophil Extracellular Trap Induction Requires Mobilization of Both Intracellular and Extracellular Calcium Pools and Is Modulated by Cyclosporine A. *PLoS ONE*. 2014; 9(5): e97088. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097088>
52. Rossaint J. *et al.* Synchronized integrin engagement and chemokine activation is crucial in neutrophil extracellular trap-mediated sterile inflammation. *Blood*. 2014; 123(16): 2573–2584. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-07-516484>
53. Keshari R.S. *et al.* Cytokines Induced Neutrophil Extracellular Traps Formation: Implication for the Inflammatory Disease Condition. *PLoS ONE*. 2012; 7(10): e48111. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048111>
54. Schappe M.S. *et al.* Chanzyme TRPM7 Mediates the Ca²⁺ Influx Essential for Lipopolysaccharide-Induced Toll-Like Receptor 4 Endocytosis and Macrophage Activation. *Immunity*. 2018; 48(1): 59–74.e5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2017.11.026>
55. Wang Y. *et al.* Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *Journal of Cell Biology*. 2009; 184(2): 205–213. <https://doi.org/10.1083/jcb.200806072>
56. Kenny E.F. *et al.* Diverse stimuli engage different neutrophil extracellular trap pathways. *eLife*. 2017; 6: e24437. <https://doi.org/10.7554/eLife.24437>
57. Fuchs T.A. *et al.* Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *Journal of Cell Biology*. 2007; 176(2): 231–241. <https://doi.org/10.1083/jcb.200606027>
58. Sun B. *et al.* Citrullination of NF-κB p65 promotes its nuclear localization and TLR-induced expression of IL-1β and TNFα. *Science Immunology*. 2017; 2(12): eaal3062. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aal3062>
59. Li Y., Werth V.P., Mall M., Liu M.-L. Nuclear lamin B is crucial to the nuclear envelope integrity and extracellular trap release in neutrophils. *bioRxiv*. 2019; 647529. <https://doi.org/10.1101/647529>
60. Ruan J., Xia S., Liu X., Lieberman J., Wu H. Cryo-EM structure of the gasdermin A3 membrane pore. *Nature*. 2018; 557(7703): 62–67. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0058-6>
61. Chen K.W. *et al.* Noncanonical inflammasome signaling elicits gasdermin D-dependent neutrophil extracellular traps. *Science Immunology*. 2018; 3(26): eaar6676. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aar6676>
62. Sollberger G. *et al.* Gasdermin D plays a vital role in the generation of neutrophil extracellular traps. *Science Immunology*. 2018; 3(26): eaar6689. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aar6689>
63. Renganathan B. *et al.* Transport and Organization of Individual Vimentin Filaments Within Dense Networks Revealed by Single Particle Tracking and 3D FIB-SEM. *bioRxiv*. 2024; 2024.06.10.598346. <https://doi.org/10.1101/2024.06.10.598346>

64. Neubert E. *et al.* Chromatin swelling drives neutrophil extracellular trap release. *Nature Communications*. 2018; 9: 3767. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06263-5>
65. Giridharan S.S.P., Caplan S. MICAL-Family Proteins: Complex Regulators of the Actin Cytoskeleton. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014; 20(13): 2059–2073. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5487>
66. Petretto A. *et al.* Neutrophil extracellular traps (NET) induced by different stimuli: A comparative proteomic analysis. *PLoS ONE*. 2019; 14(7): e0218946. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218946>
67. Deng W. *et al.* MICAL1 controls cell invasive phenotype via regulating oxidative stress in breast cancer cells. *BMC Cancer*. 2016; 16: 489. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2553-1>
68. Chang Y.-C. *et al.* Group B *Streptococcus* Engages an Inhibitory Siglec through Sialic Acid Mimicry to Blunt Innate Immune and Inflammatory Responses *In Vivo*. *PLoS Pathogens*. 2014; 10(1): e1003846. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003846>
69. Secundino I. *et al.* Host and pathogen hyaluronan signal through human siglec-9 to suppress neutrophil activation. *Journal of Molecular Medicine*. 2016; 94(2): 219–233. <https://doi.org/10.1007/s00109-015-1341-8>
70. Khatua B., Bhattacharya K., Mandal C. Sialoglycoproteins adsorbed by *Pseudomonas aeruginosa* facilitate their survival by impeding neutrophil extracellular trap through siglec-9. *Journal of Leukocyte Biology*. 2012; 91(4): 641–655. <https://doi.org/10.1189/jlb.0511260>
71. Beiter K., Wartha F., Albiger B., Normark S., Zychlinsky A., Henriques-Normark B. An Endonuclease Allows *Streptococcus pneumoniae* to Escape from Neutrophil Extracellular Traps. *Current Biology*. 2006; 16(4): 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.01.056>
72. Juneau R.A., Stevens J.S., Apicella M.A., Criss A.K. A Thermonuclease of *Neisseria gonorrhoeae* Enhances Bacterial Escape From Killing by Neutrophil Extracellular Traps. *The Journal of Infectious Diseases*. 2015; 212(2): 316–324. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv031>
73. Wartha F. *et al.* Capsule and D-alanylated lipoteichoic acids protect *Streptococcus pneumoniae* against neutrophil extracellular traps. *Cellular Microbiology*. 2007; 9(5): 1162–1171. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00857.x>
74. Воробьева Н.В., Пинегин Б.В. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, роль в норме и при патологии (обзор). *Биохимия*. 2014; 79(12): 1580–1591. <https://elibrary.ru/tqqmsn>
75. Kawabata K., Hagio T., Matsuoka S. The role of neutrophil elastase in acute lung injury. *European Journal of Pharmacology*. 2002; 451(1): 1–10. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(02\)02182-9](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(02)02182-9)
76. Xu J. *et al.* Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nature Medicine*. 2009; 15(11): 1318–1321. <https://doi.org/10.1038/nm.2053>
77. Thomas G.M. *et al.* Extracellular DNA traps are associated with the pathogenesis of TRALI in humans and mice. *Blood*. 2012; 119(26): 6335–6343. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-01-405183>
78. Abrams S.T. *et al.* Circulating Histones Are Mediators of Trauma-associated Lung Injury. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2013; 187(2): 160–169. <https://doi.org/10.1164/rccm.201206-1037OC>
79. Poon I.K.H. *et al.* Phosphoinositide-mediated oligomerization of a defensin induces cell lysis. *eLife*. 2014; 3: e01808. <https://doi.org/10.7554/eLife.01808>
80. Horwitz D.A., Fahmy T.M., Piccirillo C.A., La Cava A. Rebalancing Immune Homeostasis to Treat Autoimmune Diseases. *Trends in Immunology*. 2019; 40(10): 888–908. <https://doi.org/10.1016/j.it.2019.08.003>
81. Saba H.I., Roberts H.R., Herion J.C. The Anticoagulant Activity of Lysosomal Cationic Proteins from Polymorphonuclear Leukocytes. *Journal of Clinical Investigation*. 1967; 46(4): 580–589. <https://doi.org/10.1172/JCI105559>
82. Fuchs T.A. *et al.* Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107(36): 15880–15885. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>
83. Brill A. *et al.* von Willebrand factor-mediated platelet adhesion is critical for deep vein thrombosis in mouse models. *Blood*. 2011; 117(4): 1400–1407. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-05-287623>
64. Neubert E. *et al.* Chromatin swelling drives neutrophil extracellular trap release. *Nature Communications*. 2018; 9: 3767. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06263-5>
65. Giridharan S.S.P., Caplan S. MICAL-Family Proteins: Complex Regulators of the Actin Cytoskeleton. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014; 20(13): 2059–2073. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5487>
66. Petretto A. *et al.* Neutrophil extracellular traps (NET) induced by different stimuli: A comparative proteomic analysis. *PLoS ONE*. 2019; 14(7): e0218946. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218946>
67. Deng W. *et al.* MICAL1 controls cell invasive phenotype via regulating oxidative stress in breast cancer cells. *BMC Cancer*. 2016; 16: 489. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2553-1>
68. Chang Y.-C. *et al.* Group B *Streptococcus* Engages an Inhibitory Siglec through Sialic Acid Mimicry to Blunt Innate Immune and Inflammatory Responses *In Vivo*. *PLoS Pathogens*. 2014; 10(1): e1003846. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003846>
69. Secundino I. *et al.* Host and pathogen hyaluronan signal through human siglec-9 to suppress neutrophil activation. *Journal of Molecular Medicine*. 2016; 94(2): 219–233. <https://doi.org/10.1007/s00109-015-1341-8>
70. Khatua B., Bhattacharya K., Mandal C. Sialoglycoproteins adsorbed by *Pseudomonas aeruginosa* facilitate their survival by impeding neutrophil extracellular trap through siglec-9. *Journal of Leukocyte Biology*. 2012; 91(4): 641–655. <https://doi.org/10.1189/jlb.0511260>
71. Beiter K., Wartha F., Albiger B., Normark S., Zychlinsky A., Henriques-Normark B. An Endonuclease Allows *Streptococcus pneumoniae* to Escape from Neutrophil Extracellular Traps. *Current Biology*. 2006; 16(4): 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.01.056>
72. Juneau R.A., Stevens J.S., Apicella M.A., Criss A.K. A Thermonuclease of *Neisseria gonorrhoeae* Enhances Bacterial Escape From Killing by Neutrophil Extracellular Traps. *The Journal of Infectious Diseases*. 2015; 212(2): 316–324. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv031>
73. Wartha F. *et al.* Capsule and D-alanylated lipoteichoic acids protect *Streptococcus pneumoniae* against neutrophil extracellular traps. *Cellular Microbiology*. 2007; 9(5): 1162–1171. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00857.x>
74. Vorobjeva N.V., Pinegin B.V. Neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in health and disease. *Biochemistry (Moscow)*. 2014; 79(12): 1286–1296. <https://doi.org/10.1134/S0006297914120025>
75. Kawabata K., Hagio T., Matsuoka S. The role of neutrophil elastase in acute lung injury. *European Journal of Pharmacology*. 2002; 451(1): 1–10. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(02\)02182-9](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(02)02182-9)
76. Xu J. *et al.* Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nature Medicine*. 2009; 15(11): 1318–1321. <https://doi.org/10.1038/nm.2053>
77. Thomas G.M. *et al.* Extracellular DNA traps are associated with the pathogenesis of TRALI in humans and mice. *Blood*. 2012; 119(26): 6335–6343. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-01-405183>
78. Abrams S.T. *et al.* Circulating Histones Are Mediators of Trauma-associated Lung Injury. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2013; 187(2): 160–169. <https://doi.org/10.1164/rccm.201206-1037OC>
79. Poon I.K.H. *et al.* Phosphoinositide-mediated oligomerization of a defensin induces cell lysis. *eLife*. 2014; 3: e01808. <https://doi.org/10.7554/eLife.01808>
80. Horwitz D.A., Fahmy T.M., Piccirillo C.A., La Cava A. Rebalancing Immune Homeostasis to Treat Autoimmune Diseases. *Trends in Immunology*. 2019; 40(10): 888–908. <https://doi.org/10.1016/j.it.2019.08.003>
81. Saba H.I., Roberts H.R., Herion J.C. The Anticoagulant Activity of Lysosomal Cationic Proteins from Polymorphonuclear Leukocytes. *Journal of Clinical Investigation*. 1967; 46(4): 580–589. <https://doi.org/10.1172/JCI105559>
82. Fuchs T.A. *et al.* Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107(36): 15880–15885. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>
83. Brill A. *et al.* von Willebrand factor-mediated platelet adhesion is critical for deep vein thrombosis in mouse models. *Blood*. 2011; 117(4): 1400–1407. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-05-287623>

84. Etulain J., Martinod K., Wong S.L., Cifuni S.M., Schattner M., Wagner D.D. P-selectin promotes neutrophil extracellular trap formation in mice. *Blood*. 2015; 126(2): 242–246. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-01-624023>

85. Monfregola J., Johnson J.L., Meijler M.M., Napolitano G., Catz S.D. MUNC13-4 Protein Regulates the Oxidative Response and Is Essential for Phagosomal Maturation and Bacterial Killing in Neutrophils. *Journal of Biological Chemistry*. 2012; 287(53): 44603–44618. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.414029>

86. Hakkim A. *et al.* Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107(21): 9813–9818. <https://doi.org/10.1073/pnas.0909927107>

ОБ АВТОРАХ

Евгений Анатольевич Колесник¹

доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии, экологии человека и медико-биологических знаний

evgeniy251082@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2326-651X>

Марина Аркадьевна Дерхо²

доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой естественно-научных дисциплин

derkho2010@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3818-0556>

Максим Борисович Ребезов^{3, 4}

• доктор сельскохозяйственных наук, кандидат ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник³;

• доктор сельскохозяйственных наук, кандидат ветеринарных наук, профессор кафедры биотехнологии и пищевых продуктов⁴

rebezov@ya.ru

<https://orcid.org/0000-0003-0857-5143>

¹Государственный университет просвещения, ул. Радио, 10А, стр. 2, Москва, 105005, Россия

²Южно-Уральский государственный аграрный университет, ул. им. Гагарина, 13, Троицк, 457100, Россия

³Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова Российской академии наук, ул. им. Талалихина, 26, Москва, 109316, Россия

⁴Уральский государственный аграрный университет, ул. им. Карла Либкнехта, 42, Екатеринбург, 620075, Россия

84. Etulain J., Martinod K., Wong S.L., Cifuni S.M., Schattner M., Wagner D.D. P-selectin promotes neutrophil extracellular trap formation in mice. *Blood*. 2015; 126(2): 242–246. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-01-624023>

85. Monfregola J., Johnson J.L., Meijler M.M., Napolitano G., Catz S.D. MUNC13-4 Protein Regulates the Oxidative Response and Is Essential for Phagosomal Maturation and Bacterial Killing in Neutrophils. *Journal of Biological Chemistry*. 2012; 287(53): 44603–44618. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.414029>

86. Hakkim A. *et al.* Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010; 107(21): 9813–9818. <https://doi.org/10.1073/pnas.0909927107>

ABOUT THE AUTHORS

Evgeniy Anatolyevich Kolesnik¹

Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Physiology, Human Ecology and Medical and Biological Knowledge

evgeniy251082@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-2326-651X>

Marina Arkadyevna Derkho²

Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Natural Sciences

derkho2010@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3818-0556>

Maksim Borisovich Rebezov^{3, 4}

• Doctor of Agricultural Sciences, Candidate of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher³;

• Doctor of Agricultural Sciences, Candidate of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Biotechnology and Food Products⁴

rebezov@ya.ru

<https://orcid.org/0000-0003-0857-5143>

¹Federal State University of Education, 10A/2 Radio Str., Moscow, 105005, Russia

²South Ural State Agrarian University, 13 Gagarin Str., Troitsk, 457100, Russia

³Gorbatov Research Center for Food Systems,

26 Talalikhin Str., Moscow, 109316, Russia

⁴Ural State Agrarian University, 42 Karl Liebknecht Str., Yekaterinburg, 620075, Russia