

## ЭОЗИНОФИЛЬНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЛОВУШКИ: РОЛЬ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

МИНИНА Е.С., НОВИКОВ П.Д., СЕНЬКОВИЧ С.А.

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

Вестник ВГМУ. – 2019. – Том 18, №5. – С. 26-34.

## EOSINOPHIL EXTRACELLULAR TRAPS: THEIR ROLE IN HEALTH AND DISEASE

MININA E.S., NOVIKOV P.D., SENKOVICH S.A.

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

Vestnik VGMU. 2019;18(5):26-34.

### Резюме.

В обзоре представлены данные о новом механизме антимикробного действия эозинофильных гранулоцитов – образовании эозинофильных внеклеточных ловушек (ЭВЛ). Выделение внеклеточных ДНК-ловушек было выявлено также у нейтрофилов, тучных клеток, моноцитов, тканевых макрофагов и лимфоцитов. Образование внеклеточных ловушек, помимо человека, наблюдали у рыбы, быка, лошади, кошки, мыши и курицы. Гибель эозинофилов с выбросом внеклеточных ДНК-ловушек называется «ЭЭТоз». В статье описаны структурные компоненты эозинофильных внеклеточных ловушек, факторы, стимулирующие их появление, и механизмы антимикробного действия внеклеточных ДНК-ловушек. Приводятся основные инфекционные, иммуновоспалительные и аллергические заболевания, при которых наблюдали образование ЭВЛ. Изучение новых иммунологических механизмов защиты организма, таких как образование внеклеточных ловушек различными клетками системы иммунитета, представляет большой интерес не только для ученых, но и для практикующих врачей.

*Ключевые слова:* эозинофильные гранулоциты, эозинофильные внеклеточные ловушки, ЭЭТоз, ДНК.

### Abstract.

The review presents the current data about a new mechanism of antimicrobial action of eosinophilic granulocytes – the formation of eosinophil extracellular traps (EETs). The extraction of extracellular DNA traps was also detected in neutrophils, mast cells, monocytes, tissue macrophages and lymphocytes. The formation of extracellular traps, apart from humans, was observed in fish, bull, horse, cat, mouse and hen. The death of eosinophils with the release of extracellular DNA traps is called «EETosis». The main structural components of eosinophil extracellular traps, factors stimulating their appearance and mechanisms of the antimicrobial action of eosinophil extracellular DNA traps are described in the article. The main infectious, inflammatory and allergic diseases, in which EETs formation was observed, are presented in this review. The study of new immunological mechanisms of the human body defense, such as the formation of extracellular traps by various immune system cells, appears to be of great interest not only for scientists, but also for practicing physicians.

*Key words:* eosinophils, eosinophil extracellular traps, EETosis, DNA.

В последнее десятилетие ученые заинтересовались исследованием внеклеточных ДНК-ловушек. Выделение сетей ДНК клетками системы иммунитета является частью врожденного иммунного ответа. Гибель клеток с выбросом

внеклеточных ДНК-ловушек (extracellular DNA trap cell death, EETosis, или ЭТоз) была выявлена у нейтрофилов, тучных клеток, моноцитов, тканевых макрофагов, эозинофилов и лимфоцитов [1].

Впервые сетчатые ДНК-структуры, выде-

ляемые эозинофилами, обнаружили S. Yousefi с соавт. в 2008 г. [2]. Эти ДНК-сети имели митохондриальное происхождение. Позднее в 2013 г. S. Ueki с соавт. [3] установили, что ДНК, входящая в состав сетей, была ядерного происхождения. Эти структуры, состоящие из ДНК-сетей и гранулярных белков, были названы эозинофильными внеклеточными ловушками (eosinophil extracellular traps, EETs или ЭВЛ), а гибель эозинофилов с выбросом ЭВЛ – ЭЭТозом (eosinophil extracellular DNA trap cell death, EETosis). Увеличение NADPH (никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат)-оксидаза-опосредованной продукции активных форм кислорода (АФК) играет важную роль в активации эозинофильного ЭТоза [1]. Согласно S. Ueki с соавт. 2016 г. [4] и А. Omokawa с соавт. 2018 г. [5] в состав ЭВЛ входят гистоны H1. Однако в исследовании V. Muniz с соавт. 2018 г. [6] было установлено, что ЭВЛ происходят из гистонов H3. Считается, что ЭВЛ, подобно нейтрофильным внеклеточным ловушкам, участвуют в захвате и уничтожении бактерий [1]. В исследовании S. Ueki с соавт. 2013 г. [3] было показано, что ЭЭТоз отличается от некроза и апоптоза.

Процесс ЭЭТоза происходит следующим образом: первоначально билобулярная форма ядра эозинофилов начинает терять свою форму, затем нуклеолема распадается и ДНК заполняет цитоплазму. Плазматическая мембрана разрывается, и происходит выброс сетей ДНК. Эти этапы ЭЭТоза схожи с таковым при НЕТозе (neutrophil extracellular DNA trap cell death, NETosis), однако точный механизм деконденсации ядерного содержимого эозинофилов требует дальнейшего изучения. При разрыве плазматической мембраны выделяются как производные от ядерной ДНК (гистон-положительные) сети, так и свободные гранулы эозинофилов. Внеклеточные интактные эозинофильные гранулы связываются с сетями ДНК. Часть внеклеточных гранул, выделенных во время ЭЭТоза, проявляла способность к секреции в ответ на эотаксин-1, подтверждая тем самым, что внеклеточные гранулы эозинофилов могут оставаться функциональными и способны секретировать свое содержимое [1].

Среди факторов стимуляции выброса ЭВЛ были выявлены липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий, фактор комплемента C5a и эотаксин, IgG и IgA, иммобилизованные в среде с SYTOX Green, ионофор кальция A23187, фактор активации тромбоцитов (ФАТ), форбол-1,2-миристан-1,3-ацетат (ФМА), ти-

мический стромальный лимфопоэтин (thymic stromal lymphopoietin, TSLP или ТСЛП). ФАТ в сочетании с ИЛ-5 или гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF или ГМ-КСФ) индуцировал ЭЭТоз. ФАТ сам по себе был менее мощным индуктором ЭЭТоза и в отдельности ни ИЛ-5, ни ГМ-КСФ не вызывали ЭЭТоз. ФМА и ионофор кальция также индуцировали ЭЭТоз. ЭЭТоз, индуцированный ионофором кальция, развивался быстрее по сравнению со стимуляцией иммобилизованными IgG и ФМА [1].

Целью данной работы был обзор литературы, посвященный изучению роли внеклеточных ловушек эозинофилов при заболеваниях разной этиологии.

### ЭВЛ при различных заболеваниях

В последние годы ЭВЛ были выявлены при различных инфекционных и неинфекционных заболеваниях, в частности при воспалительных заболеваниях кожи и кишечника. Также формирование ЭВЛ часто наблюдается у пациентов с аллергическими заболеваниями, такими как бронхиальная астма, контактный дерматит, атопический дерматит, крапивница и аллергические реакции на лекарства [2, 7, 8, 9, 10, 11].

В данном обзоре приводятся исследования роли ЭВЛ при различных патологиях в хронологическом порядке.

#### ЭВЛ при кожных заболеваниях

В исследовании D. Simon с соавт. 2011 г. [8] внеклеточная ДНК в сочетании с эозинофильным катионным белком (eosinophil cationic protein, ЕСР) была обнаружена в биоптатах при инфекционных заболеваниях кожи, таких как эктопаразитозы и мигрирующая кожная личинка (larva migrans). Также обнаружили ЭВЛ в биоптатах кожи при эозинофильном целлюлите Уэллса, гиперэозинофильном синдроме, буллезном пемфигоиде, листовидной пузырчатке и герпетическом дерматите. Кроме этого, ЭВЛ были выявлены при положительной накожной пробе (atopy patch test), аллергическом контактном дерматите и лекарственной гиперчувствительности.

При всех приведенных выше заболеваниях, кроме эозинофильного целлюлита Уэллса, количество эозинофилов, выделяющих ДНК и ЕСР, было ниже 10%. При эозинофильном целлюлите

Уэллса доля эозинофилов была 10-30%.

Эозинофилы, генерирующие ЭВЛ, являлись неапоптотическими, потому что они были отрицательны по каспазе-3 и имели нормальную морфологию ядра. Следует отметить, что внеклеточные отложения ЕСР также были обнаружены и при отсутствии внеклеточной ДНК. Например, были выявлены ЕСР-позитивные внеклеточные гранулы во всех эозинофильных биоптатах кожи. Это говорит о том, что выделение ЕСР может происходить независимо от выделения ДНК. Возможно, ЕСР менее подвержен деградации по сравнению с ДНК и, следовательно, может легче накапливаться.

Было предположено, что образование ЭВЛ обеспечивает эффективную доставку токсичных гранулярных белков к патогену/антигену, который может быть захвачен сетями ДНК. В ходе исследования авторы обнаружили большое количество эозинофилов и ЭВЛ в непосредственной близости от апоптотических кератиноцитов пациентов с буллезным пемфигоидом. Это может говорить о том, что эозинофилы, возможно, с помощью ЭВЛ или без таковой вовлечены в повреждение кератиноцитов и образование булл [8].

#### ***ЭВЛ при аллергическом синусите и гиперэозинофильном синдроме***

В исследовании S. Ueki с соавт. 2013 г. у пациентов с аллергическим синуситом и гиперэозинофильным синдромом наблюдались нарушения ядерных и плазматических мембран в цитолитических эозинофилах. Чтобы выяснить ультраструктурные характеристики цитолиза эозинофилов *in vivo*, тканевые эозинофилы оценивались с помощью трансмиссионной электронной микроскопии. Эозинофилы в биоптатах из пазух носа и кожи (от пациентов с аллергическим синуситом и гиперэозинофильным синдромом соответственно) показали сходные характеристики цитолитической дегрануляции с нарушением структуры плазматических и ядерных мембран. В отличие от ядерной конденсации хроматина, наблюдаемой у апоптотических эозинофилов, в данном случае наблюдалась деконденсация ядерного гетерохроматина и выделение содержимого ядра во внеклеточное пространство. Гранулы эозинофилов, выделяемые *in vivo*, были интактными и сохраняли свое содержимое [3].

#### ***ЭВЛ при эозинофильном эзофагите***

В исследовании D. Simon с соавт. 2015 г. у

пациентов с эозинофильным эзофагитом наблюдалось повышенное содержание ЭВЛ в местах дефектов эпителиального барьера. Таким образом, формирование ЭВЛ может быть как важным механизмом защиты от инфекций, так и одновременно вызывать повреждение окружающих тканей, что еще больше ухудшает эпителиальный барьер [11]. Поскольку дефекты эпителиального барьера являются ключевым фактором при развитии многих заболеваний, вероятно, ЭВЛ могут участвовать и в патогенезе хронических заболеваний дыхательных путей [11, 12, 13].

#### ***ЭВЛ при эозинофильном хроническом риносинусите и эозинофильном среднем отите***

В исследовании S. Ueki с соавт. 2016 г. изучалось явление ЭЭТоза у пациентов с эозинофильным хроническим риносинуситом и эозинофильным средним отитом. У пациентов с эозинофильным хроническим риносинуситом, помимо интактных эозинофилов, было выявлено большое количество эозинофилов с изменениями, характерными для ЭЭТоза: деконденсированные ядра, потеря лобуляции и/или разрушенные ядра. Кластеры свободных интактных эозинофильных гранул были обнаружены вблизи клеток, подвергшихся ЭЭТозу. В ходе исследования было выявлено, что в состав ЭВЛ входила ДНК. Обработка секрета ДНКазой I значительно ингибировала способность к образованию ЭВЛ. Также в исследовании ЭВЛ были обнаружены в ушных выделениях у пациентов с эозинофильным средним отитом. Таким образом, ЭВЛ являются компонентом экссудативных секретов при аллергических заболеваниях человека и, как было установлено в исследовании, способствуют повышению их вязкости. Авторы предложили рассматривать ЭВЛ как возможную мишень терапии заболеваний [4].

#### ***ЭВЛ при хроническом полипозном риносинусите***

В исследовании E. Gevaert с соавт. 2017 г. [14] было показано, что образование ЭВЛ связано с повышением уровня ИЛ-5, а также с колонизацией *S. aureus* в тканях пациента. Кроме того, авторы впервые наблюдали захват *S. aureus* с помощью ЭВЛ в тканях пациента. Эозинофилы мигрировали в направлении *S. aureus* и захватывали их.

Поскольку цитотоксичность гранулярных эозинофильных белков хорошо известна и в пре-

дыдущих исследованиях рассматривалась роль эозинофилов в повреждении и предотвращении восстановления эпителиального барьера, возможно, и у пациентов с хроническим полипозным риносинуситом происходят те же процессы [11, 15]. Являются ли выявленные ЭВЛ причинным фактором повреждения эпителиального барьера у пациентов с хроническим полипозным риносинуситом, необходимо дополнительно исследовать.

У пациентов с хроническим полипозным риносинуситом ЭВЛ образовывались в основном в субэпителиальных участках с дефектами эпителиального барьера. Также была показана связь между уровнями периостина и эозинофильным воспалением, в связи с чем вызывает интерес изучение роли периостина в функционировании ЭВЛ. Периостин, который способствует эозинофильной инфильтрации в легочной ткани пациентов при аллергическом процессе, в частности при эозинофильном эзофагите [16], был обнаружен на высоких уровнях в тканях пациентов с большим количеством ЭВЛ, но периостин не был обнаружен, когда эозинофилы культивировали совместно с *S. aureus* [17], что, вероятно, связано с отсутствием необходимости в периостине при культивировании *in vitro*, так как в этом случае нет инфильтрации тканей.

ИЛ-5 и ТСЛП являются хорошо известными факторами стимуляции формирования ЭВЛ *in vitro* [1]. Поэтому ИЛ-5 и ТСЛП были исследованы как потенциальные триггеры формирования ЭВЛ в тканях пациентов с хроническим полипозным риносинуситом. Ожидается повышенные уровни ИЛ-5 были связаны с большим количеством ЭВЛ. Однако уровни ТСЛП не были заметно повышены в ткани. Это противоречило предыдущим исследованиям, в ходе которых уровень ТСЛП повышался после повреждения эпителия и коррелировал с выделением ЭВЛ у пациентов с эозинофильным эзофагитом и непосредственно запускал формирование ЭВЛ [11, 18, 19]. Однако данные ПЦР показали увеличение продукции ТСЛП через 2 часа. Поэтому, возможно, ТСЛП стимулировал формирование ЭВЛ позднее.

В целом, эти данные показали, что состояние ткани, природа триггера и взаимодействие между этими двумя факторами играют важную роль в определении интенсивности формирования ЭВЛ. Вполне вероятно, что инициация формирования ЭВЛ происходила в ходе прямого контакта между *S. aureus* и эозинофилами, при этом

формирование ЭВЛ дополнительно поддерживалось повышенными уровнями ИЛ-5, ТСЛП.

### ***ЭВЛ при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ)***

Еще в 1995 г. было установлено, что ХОБЛ в основном обусловлена наличием нейтрофилов, а нейтрофильная эластаза способствует легочным поражениям, наблюдаемым при данном заболевании [20]. Кроме того, сообщалось, что увеличение количества эозинофилов не имеет клинической значимости [21], но в настоящее время известно, что у пациентов среднего возраста эозинофилы являются одной из причин развития хронического кашля, связанного с перенной обструкцией и гиперреактивностью дыхательных путей, ускоренным снижением уровня ОФВ1 и развитием ХОБЛ. [22, 23].

В 2015 г. F. Grabcanovic-Musija с соавт. [24] пришли к выводу, что тяжесть легочных нарушений при ХОБЛ была связана с НЕТозом. Однако авторы этого исследования оценивали только роль нейтрофилов в патогенезе ХОБЛ, без учета возможной роли ЭЭТоза.

Исследование L. Uribe Echevarria с соавт. 2017 г. посвящено изучению воспалительного процесса при ХОБЛ с ранним развитием симптоматики и прогрессирующим течением [25]. Авторами было установлено, что формирование ЭВЛ и НВЛ происходило в мокроте здоровых пациентов, которые бросили курить в течение не менее 6 месяцев, и пациентов с ХОБЛ. Было отмечено, что даже у пациентов, которые не курят в течение  $\geq 6$  месяцев, есть ЭЭТоз, который вызывает НЕТоз. У пациентов с низким риском обострения заболевания вырабатывались ЭВЛ, а у пациентов с высоким риском обострения – ЭВЛ и НВЛ. Также отмечалось, что ЭЭТоз был связан с повреждением клеток, и было выявлено, что ЭВЛ остаются даже у пациентов, которые больше не курят. Клеточные остатки и хроматин эозинофилов, подвергшихся ЭЭТозу, накапливаются в дыхательных путях и вызывают стимулирование нейтрофилов, в результате чего могут образовываться НВЛ [25].

Хорошо известно, что сигаретный дым содержит более 4000 токсинов и приводит к индукции провоспалительных цитокинов. Кроме того, большое количество АФК вырабатываются в горящей сигарете, и они способны повредить эпителиальные клетки, выстилающие дыхательные пути. АФК также активируют внутриклеточные

сигнальные каскады, приводящие к активации воспалительных генов (IL-8 и TNF- $\alpha$ ), которые способствуют развитию хронического воспаления. Следовательно, индукция ЭЭТоза у пациентов с ХОБЛ, как описано в данном исследовании, вероятно, являлась вторичной характеристикой у генетически предрасположенных пациентов, имеющих эозинофилы в дыхательных путях. Согласно наблюдениям, отмечалась высокая чувствительность эозинофилов к токсинам сигаретного дыма и они реагировали массивным ЭЭТозом.

Цитотоксическое действие эозинофилов может способствовать развитию более выраженной симптоматики при ХОБЛ, а также утяжелению обострений и, следовательно, более быстрому прогрессированию заболевания. Свободные разрушенные секреторные гранулы эозинофилов могут быть агрессивными в отношении эпителия и эндотелия, поскольку содержащиеся в них белки способствуют повреждению тканей и, как следствие, их дисфункции.

При этом у авторов возникли сомнения в эффективности кортикостероидов для индукции контроля эозинофилов при ЭЭТозе, что требует дальнейшего тщательного исследования.

Полученные результаты могут способствовать разработке профилактических мероприятий, направленных на предотвращение развития ХОБЛ у молодых курильщиков с предрасположенностью к развитию заболевания. Однако для лечения прогрессирующего заболевания все еще необходимы новые терапевтические методы.

### **ЭВЛ при эозинофильной астме**

ЭВЛ формируются в дыхательных путях пациентов с аллергической астмой [1, 26]. Помимо наличия ЭВЛ, наблюдали присутствие НВЛ при биопсии дыхательных путей, и в этом случае выделенная ДНК была митохондриальной и не была связана с гибелью эозинофилов или нейтрофилов [26]. ЭВЛ при астме может повредить легочную паренхиму [26]. ЭВЛ выделяют цитотоксические катионные белки, которые могут усугублять повреждение дыхательных путей и приводить к их ремоделированию [1], но ЭВЛ могут выполнять и защитную функцию, предотвращая распределение цитотоксических белков в тканях легких, и могут быть полезны для защиты дыхательных путей от микроорганизмов [1, 26].

Как сообщалось в 2014 г., при исследовании мышинной модели аллергической астмы, по-

сле провокации овалъбумином, продукция ЭВЛ в жидкости при бронхоальвеолярном лаваже наблюдалась как *in vivo*, так и *in vitro* [10].

В работе E. Gevaert с соавт. 2017 г. отмечалось усиление формирования ЭВЛ в слизистой оболочке дыхательных путей у пациентов с тяжелой астмой [14].

В исследовании Y. Choi с соавт. 2018 г. [27] впервые было продемонстрировано негативное действие эозинофилов путем выработки ЭВЛ при астме. Эозинофилы от пациентов с тяжелой эозинофильной астмой были более активированы в отношении ЭВЛ, чем эозинофилы от пациентов с нетяжелой эозинофильной астмой. Кроме того, процент эозинофилов, образующих ЭВЛ, отрицательно коррелировал с исходным уровнем ОФВ1 и положительно коррелировал с уровнями эозинофильного нейротоксина (eosinophil-derived neurotoxin, EDN) в сыворотке у пациентов с астмой. Эозинофилы периферической крови, выделенные у пациентов с тяжелой эозинофильной астмой, обладали повышенной способностью к продукции ЭВЛ после активации ИЛ-5 и липополисахаридом в зависимости от уровня АФК. Эти результаты показывают, что увеличение ЭВЛ тесно связано с воспалением дыхательных путей и обструкцией у пациентов с тяжелой эозинофильной астмой. В исследовании также было продемонстрировано, что ЭВЛ способствовали отслоению эпителия дыхательных путей, что увеличивало его проницаемость и усиливало воспаление при астме.

Многие предыдущие исследования были сосредоточены на изучении ингибирования цитотоксических гранулярных белков эозинофилов (главного щелочного (или основного) протеина и ЕСР) с целью регуляции иммунных реакций в эпителии дыхательных путей [28, 29]. Было установлено, что антитела против ЕСР значительно снижали ЭВЛ-опосредованную продукцию провоспалительных цитокинов эпителиальными клетками дыхательных путей [27, 30, 31].

Интересно, что эксперименты *in vitro* показали, что фармакологически значимые концентрации дексаметазона не приводили к снижению образования ЭВЛ, что может быть одним из механизмов устойчивого воспаления у стероид-резистентных пациентов с бронхиальной астмой. Полученные данные свидетельствуют о том, что необходимы исследования лекарственных препаратов для подавления образования ЭВЛ у пациентов с тяжелой эозинофильной астмой [27].

Тучные клетки участвуют в патогенезе тяжелой эозинофильной астмы. Они продуцируют гистамин и цитокины 2-го типа (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13), которые регулируют развитие и активацию эозинофильного воспаления [32]. В данном исследовании [27] изучалось влияние ЭВЛ на тучные клетки. Однако ЭВЛ не вызывали значительное увеличение дегрануляции тучных клеток и продукции ими цитокинов.

Недавние наблюдения Е. Dunican с соавт. (2018 г.) [33] показали, что наличие слизистых пробок у пациентов с астмой (58% пациентов с астмой по сравнению с 4,5% здоровых добровольцев) коррелировало с эозинофилией дыхательных путей и повышенным содержанием эозинофильной пероксидазы (eosinophil peroxidase, ЕРХ/ЕРО), а также было связано со снижением функции легких. У пациентов с астмой с повышенной эозинофильной активностью (на что указывает увеличение ЕРХ) может наблюдаться потеря иммунной толерантности, увеличение содержания локальных аутоантител и генерация ЭВЛ, что способствует гиперплазии бокаловидных клеток и приводит к образованию высоковязких слизистых пробок, блокирующих дыхательные пути.

Имеются данные, что при респираторной аллергии лишь небольшое количество эозинофилов подвергается некрозу или апоптозу [34]. Свободные эозинофильные гранулы были обнаружены после цитолиза эозинофилов при различных респираторных заболеваниях, таких как астма, ринит и риносинусит [3, 34, 35, 36]. ЭВЛ могут играть важную роль в патогенезе эозинофильного воспаления дыхательных путей путем активации эозинофилов и эпителиальных клеток. Следовательно, регуляция формирования или функционирования ЭВЛ может быть новым подходом к лечению пациентов с астмой.

### **ЭВЛ при грибковой инфекции**

В исследовании А. Omokawa с соавт. 2018 г. впервые было установлено формирование ЭВЛ при грибковом заболевании (аллергический бронхолегочный аспергиллез). У пациентов происходило интенсивное накопление эозинофилов в бронхиальных секретах и были выявлены нитевидные структуры, которые окрашивались на антитела против гистона H1. Также были обнаружены кластеры свободных гранул эозинофилов, прикрепленных к ловушкам ДНК [5].

### **ЭВЛ при атеротромбозе**

Нейтрофилы и макрофаги, и в меньшей степени тучные клетки и эозинофилы, генерируют внеклеточные ловушки (ВЛ) при атеротромбозе. В свою очередь, формирование ВЛ охватывает все стадии развития коронарного тромбоза. Различные типы лейкоцитов и их ВЛ в зависимости от временного промежутка участвуют в образовании и росте тромба. Изучение роли ВЛ при атеротромбозе важно, так как оно может обеспечить новые стратегии лечения сердечно-сосудистых заболеваний [37].

### **Заключение**

Таким образом, помимо антимикробной функции, ЭВЛ участвуют в патогенезе эозинофильных заболеваний. Негативное влияние ЭВЛ заключается в выделении цитотоксических катионных белков, которые могут усугублять повреждение тканей, повышать вязкость выделений. Регулирование избыточного ЭЭТоза может быть новым терапевтическим подходом.

Необходимо проводить дальнейшие исследования по изучению роли ЭВЛ при различных заболеваниях с целью выбора правильной терапевтической тактики.

### **Литература**

1. Минина, Е. С. Эозинофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции / Е. С. Минина, П. Д. Новиков // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2019. – № 2. – С. 48–58.
2. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense / S. Yousefi [et al.] // Nat. Med. – 2008 Sep. – Vol. 14, N 9. – P. 949–953.
3. Eosinophil extracellular DNA trap cell death mediates lytic release of free secretion-competent eosinophil granules in humans / S. Ueki [et al.] // Blood. – 2013 Mar. – Vol. 121, N 11. – P. 2074–2083.
4. Eosinophil ETosis-derived DNA traps: their presence in secretions and their functional attributes / S. Ueki [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2016 Jan. – Vol. 137, N 1. – P. 258–267.
5. Mucus plugging in allergic bronchopulmonary aspergillosis: implication of the eosinophil DNA traps / A. Omokawa [et al.] // Allergol. Int. – 2018 Apr. – Vol. 67, N 2. – P. 280–282.
6. Eosinophils release extracellular DNA traps in response to aspergillus fumigatus / V. Muniz [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2018 Feb. – Vol. 141, N 2. – P. 571–585.
7. Eosinophil and neutrophil extracellular DNA traps in human allergic asthmatic airways / R. Dworski [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2011 May. – Vol. 127, N 5. – P. 1260–1266.
8. Eosinophil extracellular DNA traps in skin diseases / D. Simon [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. – 2011 Jan. – Vol.

- 127, N 1. – P. 194–199.
9. Extensive accumulation of eosinophil extracellular traps in bullous delayed-pressure urticaria: a pathophysiological link? / A. Kerstan [et al.] // *Br. J. Dermatol.* – 2012 May. – Vol. 166, N 5. – P. 1151–1152.
10. Extracellular DNA traps in bronchoalveolar fluid from a murine eosinophilic pulmonary response / A. Cunha [et al.] // *Allergy.* – 2014 Dec. – Vol. 69, N 12. – P. 1696–1700.
11. Active eosinophilic esophagitis is characterized by epithelial barrier defects and eosinophil extracellular trap formation / D. Simon [et al.] // *Allergy.* – 2015 Apr. – Vol. 70, N 4. – P. 443–452.
12. Gon, Y. Role of airway epithelial barrier dysfunction in pathogenesis of asthma / Y. Gon, S. Hashimoto // *Allergol. Int.* – 2018 Jan. – Vol. 67, N 1. – P. 12–17.
13. Kim, B. E. Significance of skin barrier dysfunction in atopic dermatitis / B. E. Kim, D. Y. M. Leung // *Allergy Asthma Immunol. Res.* – 2018 May. – Vol. 10, N 3. – P. 207–215.
14. Extracellular eosinophilic traps in association with *Staphylococcus aureus* at the site of epithelial barrier defects in patients with severe airway inflammation / E. Gevaert [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2017 Jun. – Vol. 139, N 6. – P. 1849–1860.
15. Toxicity of eosinophil MBP is repressed by intracellular crystallization and promoted by extracellular aggregation / A. Soragni [et al.] // *Mol. Cell.* – 2015 Mar. – Vol. 57, N 6. – P. 1011–1021.
16. Periostin facilitates eosinophil tissue infiltration in allergic lung and esophageal responses / C. Blanchard [et al.] // *Mucosal. Immunol.* – 2008 Jul. – Vol. 1, N 4. – P. 289–296.
17. Persson, C. Lytic eosinophils produce extracellular DNA traps as well as free eosinophil granules / C. Persson, S. Ueki // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2018 Mar. – Vol. 141, N 3. – P. 1164.
18. Thymic stromal lymphopoietin stimulates the formation of eosinophil extracellular traps / M. Morshed [et al.] // *Allergy.* – 2012 Sep. – Vol. 67, N 9. – P. 1127–1137.
19. TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation / Y. Liu [et al.] // *Annu. Rev. Immunol.* – 2007. – Vol. 25. – P. 193–219.
20. Shapiro, S. D. The pathogenesis of emphysema: the elastase:antielastase hypothesis 30 years later / S. D. Shapiro // *Proc. Assoc. Am. Physicians.* – 1995 Oct. – Vol. 107, N 3. – P. 346–352.
21. Neutrophil apoptosis: relevance to the innate immune response and inflammatory disease / S. Fox [et al.] // *J. Innate Immun.* – 2010. – Vol. 2, N 3. – P. 216–227.
22. Eosinophilic inflammation in COPD: prevalence and clinical characteristics / D. Singh [et al.] // *Eur. Respir. J.* – 2014 Dec. – Vol. 44, N 6. – P. 1697–1700.
23. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease? / L. Uribe Echevarria [et al.] // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2017 Mar. – Vol. 12. – P. 885–896.
24. Neutrophil extracellular trap (NET) formation characterises stable and exacerbated COPD and correlates with airflow limitation / F. Grabcanovic-Musija [et al.] // *Respir. Res.* – 2015 May. – Vol. 16. – P. 59.
25. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease? / L. Uribe Echevarria [et al.] // *Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis.* – 2017 Mar. – Vol. 12. – P. 885–896.
26. Simon, D. Extracellular DNA traps in allergic, infectious, and autoimmune diseases / D. Simon, H. U. Simon, S. Yousefi // *Allergy.* – 2013 Apr. – Vol. 68, N 4. – P. 409–416.
27. Biological function of eosinophil extracellular traps in patients with severe eosinophilic asthma / Y. Choi [et al.] // *Exp. Mol. Med.* – 2018 Aug. – Vol. 50, N 8. – P. 104.
28. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor beta, and TNF-alpha: receptors, functions, and roles in diseases / M. Akdis [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2016 Oct. – Vol. 138, N 4. – P. 984–1010.
29. Antibody to eosinophil cationic protein suppresses dextran sulfate sodium-induced colitis in rats / K. Shichijo [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2005 Aug. – Vol. 11, N 29. – P. 4505–4510.
30. Sputum autoantibodies in patients with severe eosinophilic asthma / M. Mukherjee [et al.] // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2018 Apr. – Vol. 141, N 4. – P. 1269–1279.
31. Sputum ANCA in serum ANCA-negative eosinophilic granulomatosis with polyangiitis / M. Mukherjee [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 2019 Jan. – Vol. 199, N 2. – P. 158–170.
32. Bradding, P. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma / P. Bradding, A. Walls, S. Holgate // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 2006 Jun. – Vol. 117, N 6. – P. 1277–1284.
33. Mucus plugs in patients with asthma linked to eosinophilia and airflow obstruction / E. Dunican [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2018 Mar. – Vol. 128, N 3. – P. 997–1009.
34. Allergen-induced eosinophil cytolysis is a primary mechanism for granule protein release in human upper airways / J. Erjefalt [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* – 1999 Jul. – Vol. 160, N 1. – P. 304–312.
35. Eosinophil-derived cytokines in health and disease: unraveling novel mechanisms of selective secretion / R. Melo [et al.] // *Allergy.* – 2013 Mar. – Vol. 68, N 3. – P. 274–284.
36. Eosinophil secretion of granule-derived cytokines / L. Spencer [et al.] // *Front. Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – P. 496.
37. Extracellular traps derived from macrophages, mast cells, eosinophils and neutrophils are generated in a time-dependent manner during atherothrombosis / K. R. Pertiwi [et al.] // *J. Pathol.* – 2019 Apr. – Vol. 247, N 4. – P. 505–512.

Поступила 27.06.2019 г.

Принята в печать 27.09.2019 г.

## References

1. Minina ES, Novikov PD. Eosinophilic extracellular traps: mechanisms of formation, functions. *Immunopatologiya Allergologiya Infektologiya*. 2019;(2):48-58. (In Russ.)
2. Yousefi S, Gold JA, Andina N, Lee JJ, Kelly AM, Kozłowski E, et al. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense. *Nat. Med.* 2008 Sep;14(9):949-53. doi: 10.1038/nm.1855
3. Ueki S, Melo RC, Ghiran I, Spencer LA, Dvorak AM, Weller PF. Eosinophil extracellular DNA trap cell death mediates lytic release of free secretion-competent eosinophil granules in humans. *Blood*. 2013 Mar;121(11):2074-83. doi: 10.1182/blood-2012-05-432088

4. Ueki S, Konno Y, Takeda M, Moritoki Y, Hirokawa M, Matsuwaki Y, et al. Eosinophil ETosis-derived DNA traps: their presence in secretions and their functional attributes. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Jan;137(1):258-267. doi: 10.1016/j.jaci.2015.04.041
5. Omokawa A, Ueki S, Kikuchi Y, Takeda M, Asano M, Sato K, et al. Mucus plugging in allergic bronchopulmonary aspergillosis: implication of the eosinophil DNA traps. *Allergol Int*. 2018 Apr;67(2):280-282. doi: 10.1016/j.alit.2017.08.002
6. Muniz VS, Silva JC, Braga YAV, Melo RCN, Ueki S, Takeda M, et al. Eosinophils release extracellular DNA traps in response to *aspergillus fumigatus*. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Feb;141(2):571-585.e7. doi: 10.1016/j.jaci.2017.07.048
7. Dworski R, Simon HU, Hoskins A, Yousefi S. Eosinophil and neutrophil extracellular DNA traps in human allergic asthmatic airways. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 May;127(5):1260-6. doi: 10.1016/j.jaci.2010.12.1103
8. Simon D, Hoesli S, Roth N, Staedler S, Yousefi S, Simon HU. Eosinophil extracellular DNA traps in skin diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Jan;127(1):194-9. doi: 10.1016/j.jaci.2010.11.002
9. Kerstan A, Simon HU, Yousefi S, Leverkus M. Extensive accumulation of eosinophil extracellular traps in bullous delayed-pressure urticaria: a pathophysiological link? *Br J Dermatol*. 2012 May;166(5):1151-2. doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.10848.x
10. Cunha AA, Porto BN, Nuñez NK, Souza RG, Vargas MH, Silveira JS, et al. Extracellular DNA traps in bronchoalveolar fluid from a murine eosinophilic pulmonary response. *Allergy*. 2014 Dec;69(12):1696-700. doi: 10.1111/all.12507
11. Simon D, Radonjic-Hösli S, Straumann A, Yousefi S, Simon HU. Active eosinophilic esophagitis is characterized by epithelial barrier defects and eosinophil extracellular trap formation. *Allergy*. 2015 Apr;70(4):443-52. doi: 10.1111/all.12570
12. Gon Y, Hashimoto S. Role of airway epithelial barrier dysfunction in pathogenesis of asthma. *Allergol Int*. 2018 Jan;67(1):12-17. doi: 10.1016/j.alit.2017.08.011
13. Kim BE, Leung DYM. Significance of skin barrier dysfunction in atopic dermatitis. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2018 May;10(3):207-215. doi: 10.4168/aair.2018.10.3.207
14. Gevaert E, Zhang N, Krysko O, Lan F, Holtappels G, De Ruyck N, et al. Extracellular eosinophilic traps in association with *Staphylococcus aureus* at the site of epithelial barrier defects in patients with severe airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Jun;139(6):1849-1860.e6. doi: 10.1016/j.jaci.2017.01.019
15. Soragni A, Yousefi S, Stoeckle C, Soriaga AB, Sawaya MR, Kozlowski E, et al. Toxicity of eosinophil MBP is repressed by intracellular crystallization and promoted by extracellular aggregation. *Mol Cell*. 2015 Mar;57(6):1011-1021. doi: 10.1016/j.molcel.2015.01.026
16. Blanchard C, Mingler MK, McBride M, Putnam PE, Collins MH, Chang G, et al. Periostin facilitates eosinophil tissue infiltration in allergic lung and esophageal responses. *Mucosal Immunol*. 2008 Jul;1(4):289-96. doi: 10.1038/mi.2008.15
17. Persson C, Ueki S. Lytic eosinophils produce extracellular DNA traps as well as free eosinophil granules. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Mar;141(3):1164. doi: 10.1016/j.jaci.2017.05.047
18. Morshed M, Yousefi S, Stöckle C, Simon HU, Simon D. Thymic stromal lymphopoietin stimulates the formation of eosinophil extracellular traps. *Allergy*. 2012 Sep;67(9):1127-37. doi: 10.1111/j.1398-9995.2012.02868.x
19. Liu YJ, Soumelis V, Watanabe N, Ito T, Wang YH, Malefyt Rde W, et al. TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:193-219. doi: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141718
20. Shapiro SD. The pathogenesis of emphysema: the elastase:antielastase hypothesis 30 years later. *Proc Assoc Am Physicians*. 1995 Oct;107(3):346-52.
21. Fox S, Leitch AE, Duffin R, Haslett C, Rossi AG. Neutrophil apoptosis: relevance to the innate immune response and inflammatory disease. *J Innate Immun*. 2010;2(3):216-27. doi: 10.1159/000284367
22. Singh D, Kolsum U, Brightling CE, Locantore N, Agusti A, Tal-Singer R. Eosinophilic inflammation in COPD: prevalence and clinical characteristics. *Eur Respir J*. 2014 Dec;44(6):1697-700. doi: 10.1183/09031936.00162414
23. Uribe Echevarria L, Leimgruber C, García González J, Nevado A, Álvarez R, García LN, et al. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease? *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017 Mar;12:885-896. doi: 10.2147/COPD.S115969
24. Grabcanovic-Musija F, Obermayer A, Stoiber W, Krautgartner WD, Steinbacher P, Winterberg N, et al. Neutrophil extracellular trap (NET) formation characterises stable and exacerbated COPD and correlates with airflow limitation. *Respir Res*. 2015 May;16:59. doi: 10.1186/s12931-015-0221-7
25. Uribe Echevarria L, Leimgruber C, García González J, Nevado A, Álvarez R, García LN, et al. Evidence of eosinophil extracellular trap cell death in COPD: does it represent the trigger that switches on the disease? *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017 Mar ;12:885-896. doi: 10.2147/COPD.S115969
26. Simon D, Simon HU, Yousefi S. Extracellular DNA traps in allergic, infectious, and autoimmune diseases. *Allergy*. 2013 Apr;68(4):409-16. doi: 10.1111/all.12111
27. Choi Y, Le Pham D, Lee D-H, Lee S-H, Kim S-H, Park H-S. Biological function of eosinophil extracellular traps in patients with severe eosinophilic asthma. *Exp Mol Med*. 2018 Aug;50(8):104. doi: 10.1038/s12276-018-0136-8
28. Akdis M, Aab A, Altunbulakli C, Azkur K, Costa RA, Crameri R, et al. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor beta, and TNF-alpha: receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Oct;138(4):984-1010. doi: 10.1016/j.jaci.2016.06.033
29. Shichijo K, Makiyama K, Wen CY, Matsuu M, Nakayama T, Nakashima M, et al. Antibody to eosinophil cationic protein suppresses dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *World J Gastroenterol*. 2005 Aug;11(29):4505-10. doi: 10.3748/wjg.v11.i29.4505
30. Mukherjee M, Bulir DC, Radford K, Kjarsgaard M, Huang CM, Jacobsen EA, Ochkur SI, et al. Sputum autoantibodies in patients with severe eosinophilic asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2018 Apr;141(4):1269-1279. doi: 10.1016/j.jaci.2017.06.033
31. Mukherjee M, Thomas SR, Radford K, Dvorkin-Gheva



- A, Davydchenko S, Kjarsgaard M, et al. Sputum ANCA in serum ANCA-negative eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019 Jan;199(2):158-170. doi: 10.1164/rccm.201804-0809OC
32. Bradding P, Walls A, Holgate S. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2006 Jun;117(6):1277-84
  33. Dunican EM, Elicker BM, Gierada DS, Nagle SK, Schiebler ML, Newell JD, et al. Mucus plugs in patients with asthma linked to eosinophilia and airflow obstruction. *J Clin Invest.* 2018 Mar;128(3):997-1009. doi: 10.1172/JCI95693
  34. Erjefält JS, Greiff L, Andersson M, Matsson E, Petersen H, Linden M, et al. Allergen-induced eosinophil cytotoxicity is a primary mechanism for granule protein release in human upper airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999 Jul;160(1):304-12.
  35. Melo RC, Liu L, Xenakis JJ, Spencer LA. Eosinophil-derived cytokines in health and disease: unraveling novel mechanisms of selective secretion. *Allergy.* 2013 Mar;68(3):274-84. doi: 10.1111/all.12103
  36. Spencer L, Bonjour K, Melo RCN, Weller PF. Eosinophil secretion of granule-derived cytokines. *Front Immunol.* 2014;5:496. doi: 10.3389/fimmu.2014.00496
  37. Pertiwi KR, de Boer OJ, Mackaaij C, Pabittei DR, de Winter RJ, Li X, et al. Extracellular traps derived from macrophages, mast cells, eosinophils and neutrophils are generated in a time-dependent manner during atherothrombosis. *J Pathol.* 2019 Apr;247(4):505-512. doi: 10.1002/path.5212

Submitted 27.06.2019

Accepted 27.09.2019

### Сведения об авторах:

Минина Е.С. – к.м.н., ассистент кафедры педиатрии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;

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

Сенькович С.А. – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

### Information about authors:

*Minina E.S. – Candidate of Medical Sciences, lecturer of the Chair of Pediatrics, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

*Novikov P.D. – Doctor of Medical Sciences, professor of the Chair of Clinical Immunology and Allergology with the course of the Faculty for Advanced Training and Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;*

*Senkovich S.A. – Candidate of Medical Sciences, associate professor of the Chair of Clinical Microbiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.*

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210009, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, кафедра педиатрии. E-mail: minina.e.s@mail.ru – Минина Елена Сергеевна.

**Correspondence address:** Republic of Belarus, 210009, Vitebsk, 27 Frunze ave., Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Chair of Pediatrics. E-mail: minina.e.s@mail.ru – Elena S. Minina.