

СТЕАРИЛАМИН ВЫЗЫВАЕТ ОБРАЗОВАНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК НЕЗАВИСИМО ОТ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

© 2019 г. Н. Ю. Лотош¹*, С. О. Алясева², Р. Г. Васильев¹, А. А. Селищева^{1,3}

¹НИИЦ “Курчатовский институт”, Москва, 123098 Россия

²Московский технологический университет (МИТХТ), Москва, 119571 Россия

³Биологический факультет Московского государственного университета, Москва, 119991 Россия

*E-mail: natalotosh@gmail.com

Поступила в редакцию 02.11.2018 г.

После доработки 19.12.2018 г.

Принята к публикации 25.01.2019 г.

Нейтрофилы способны формировать внеклеточные ловушки, состоящие из хроматина и гранулярных белков, в которые, как в сети, попадают бактерии. Этот процесс, называемый нетозом и подробно изученный при воздействии на клетки форболового эфира (ФМА), протекает в течение 2–3 ч и зависит от активных форм кислорода, синтезируемых НАДФН-оксидазой (так называемый классический нетоз). Цель настоящей работы – изучение особенностей протекания нетоза, вызванного действием стеариламина (СА), растворенного в ДМСО или введенного в состав липосом из фосфатидилхолина (ФХ), по сравнению с нетозом, вызванным ФМА. Нейтрофилы человека инкубировали в присутствии 0.2 мг/мл СА (содержание ДМСО 2%) или с катионными липосомами из ФХ, содержащими СА (ФХ-СА-липосомы; концентрации ФХ и СА – соответственно 1.8 и 0.2 мг/мл). С помощью конфокальной флуоресцентной микроскопии на фиксированных препаратах нейтрофилов показали, что СА, как растворенный в ДМСО, так и в составе липосом, вызывает образование нейтрофильных внеклеточных ловушек. Кинетику протекания нетоза изучали на живых клетках в режиме реального времени с помощью флуоресцентно меченных ФХ-СА-липосом. Установили, что при добавлении к нейтрофилам ФХ-СА-липосомы сначала адсорбируются на отдельных участках цитоплазматической мембраны, а при увеличении времени воздействия – по всей ее поверхности. При этом происходит деконденсация хроматина и слияние содержимого ядра с цитоплазмой – стадии, общие с нетозом, индуцированным форболовым эфиром. Однако нетоз, вызванный СА, протекает со значительно большей скоростью (30–90 мин) по сравнению с нетозом, вызванным ФМА. Следует подчеркнуть, что при этом СА не индуцирует кислородный взрыв (в отличие от ФМА), что показано методом люминол-зависимой хемилюминесценции. На процесс образования ловушек нейтрофилами под действием ФХ-СА-липосом не влияли апоцинин и DPI (ингибиторы НАДФН-оксидазы) и каталаза, что также свидетельствует о том, что СА стимулирует АФК-независимое образование нейтрофильных внеклеточных ловушек.

Ключевые слова: стеариламин, нейтрофилы, нейтрофильные внеклеточные ловушки, нетоз, конфокальная флуоресцентная микроскопия, липосомы из фосфатидилхолина, люминол-зависимая хемилюминесценция

DOI: 10.1134/S0041377119040035

В том случае, когда фагоцитоз оказывается неэффективным из-за большого размера или из-за большого количества патогенов, нейтрофилы защищают организм ценой собственной жизни, образуя внеклеточные ловушки. Этот процесс, впервые по-

этапно описанный группой Циклинского (Brinkmann et al., 2004), носит название нетоза (neutrophil extracellular traps, NETosis) или образования внеклеточных ловушек нейтрофилами. Нетоз вызывают многие индукторы: ФМА, вирусы, бактерии и компоненты бактериальной стенки (липополисахарид), цитокины IL-8 или TNF α , катионные липосомы (Ramos-Kichik et al., 2009; Goldmann, Medina, 2013; Воробьева, Пинегин, 2014; de Buhr et al., 2016; Hu et al., 2017; Лотош и др., 2018). При образовании ловушек клетка выбрасывает во внеклеточное пространство хроматин, с которым связаны бактерицидные белки

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода, ДМСО – диметилсульфоксид, СА – стеариламин, ФМА – форболовый эфир мирилата ацетата (форбол-12-мирилат-13-ацетат), ФХ – фосфатидилхолин, ФХ-СА-липосомы – липосомы из ФХ, содержащие СА, ХЛ – хемилюминесценция, DPI – дифенилениодоний хлорид, NBD – 1-Oleoyl-2-[12-[(7-nitro-2-1,3-benzoxadiazol-4-yl)amino]dodecanoyl].