

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БЫСТРОГО И КЛАССИЧЕСКОГО НЕТОЗА

© 2019 г. С. Н. Плескова<sup>1,2, \*</sup>, Е. Н. Горшкова<sup>1</sup>, А. В. Боряков<sup>1</sup>, Р. Н. Крюков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-образовательный центр “Физика твердотельных наноструктур” Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, 603950 Россия

<sup>2</sup> Кафедра Нанотехнологии и биотехнологии Нижегородского государственного технического университета им. Р.Е. Алексеева, Нижний Новгород, 603950, Россия

\*E-mail: pleskova@mail.ru

Поступила в редакцию 13.05.2019 г.

После доработки 15.06.2019 г.

Принята к публикации 20.06.2019 г.

Целью исследования являлось определение структурно-морфологических различий быстрого и классического нетоза нейтрофилов крови человека. Разработан метод исследования процесса нетоза с использованием решеток для просвечивающей электронной микроскопии. Методом проточной цитометрии исследована временная динамика нетоза нейтрофилов крови и установлены различия в реализации процессов клеточной гибели, индуцированных иономицином и опсонизированными бактериями *Staphylococcus aureus*. Морфологические особенности быстрого и классического нетоза исследованы методами микроскопии – сканирующей электронной, флуоресцентной и световой. Установлены и описаны черты структурно-морфологического сходства и различия двух вариантов нетоза, индуцированного опсонизированным *S. aureus*. Выявлено, что классический нетоз может индуцировать формирование внеклеточных ловушек в соседних нейтрофилах. Показано, что по морфологическим особенностям внеклеточных ловушек можно дифференциально диагностировать развитие быстрого и классического нетоза не только методами высокоразрешающей микроскопии, но и используя традиционную световую микроскопию.

**Ключевые слова:** нейтрофильные гранулоциты, быстрый нетоз, классический нетоз, морфология, сканирующая электронная микроскопия, конфокальная микроскопия, проточная цитофлуориметрия, *Staphylococcus aureus*

DOI: 10.1134/S0041377119090098

Клеточная гибель не только является неизбежным следствием процесса жизнедеятельности, она играет важную роль в поддержании постоянства как физиологических, так и патологических процессов (Galluzzi et al., 2018). Относительно недавно, в 2004 г., был открыт нетоз (Brinkmann et al., 2004) – механизм гибели нейтрофильных гранулоцитов (НГ), который сопровождается выбросом внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps – NETs) в экстрацеллюлярное пространство. Основными компонентами NETs НГ являются: ДНК, гистоны, протеазы (которые в цельной клетке локализируются в первичных, вторичных и третичных гранулах) (Barnado et al., 2016; Grayson et al., 2016).

**Принятые сокращения:** АСМ – атомно-силовая микроскопия, АФК – активные формы кислорода, БСА – бычий сывороточный альбумин, БФР – физиологический буферный раствор, МПО – миелопероксидаза, НГ – нейтрофильные гранулоциты, ПЭМ – просвечивающая электронная микроскопия, СЭМ – сканирующая электронная микроскопия, NETs – (нейтрофильные внеклеточные ловушки (neutrophil extracellular traps)).

Нетоз легко отличим от других вариантов клеточной гибели благодаря характерной морфологии внеклеточных ловушек. Исследование ультраструктуры внеклеточных ловушек показало, что они состоят из гладких филаментов диаметром около 17 нм (модифицированных нуклеосом), на которых располагаются глобулярные домены, диаметром около 50 нм (белки гранул нейтрофилов) (Brinkmann, Zychlinsky, 2012). Все основные компоненты внеклеточных ловушек: ДНК, специфически модифицированные гистоны, активные формы кислорода (АФК), образуемые в процессе формирования сетеподобной структуры, и многочисленные ферменты, ассоциированные с внеклеточными ловушками, обладают выраженной антибактериальной активностью (Dąbrowska et al., 2016). Интересной особенностью нетоза является то, что при его индукции в нативных условиях объем занимаемый внеклеточной ловушкой может в 10–15 раз превосходить размеры первоначальной клетки, из которой она образуется. Например, если НГ располагается в альвеоле легкого, то нетоз займет все пространство альвеолы (Brinkmann, Zychlinsky, 2012).