Doi: 10.52341/20738080_2026_144_5_22

РОЛЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК В ОСТРОЙ ПАТОЛОГИИ ЛЁГКИХ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ



КУТЕПОВ Д.Е.,
д.м.н., доцент, заведующий отделением экстракорпоральных методов лечения ФГБУ «Клиническая больница № 1» УД Президента России, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» УД Президента России, *kutepovde@gmail.com*



ПАСЕЧНИК И.Н.,
д.м.н., профессор, главный внештатный специалист по анестезиологии-реаниматологии Главного медицинского управления УД Президента России, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» УД Президента России, *pasigor@yandex.ru*

Острое повреждение лёгких и острый респираторный дистресс-синдром остаются актуальной проблемой для врачей реанимационного профиля, так как характеризуются высокими показателями летальности у больных в критических состояниях. В настоящее время прослежена роль нейтрофилов и, в частности, нейтрофильных внеклеточных ловушек при острой патологии лёгких. Обзор литературы посвящен роли нейтрофильных внеклеточных ловушек в патогенезе различных состояний, приводящих к острому повреждению лёгких и острому респираторному дистресс-синдрому.

Ключевые слова: острое повреждение лёгких, острый респираторный дистресс-синдром, нейтрофилы, нейтрофильные внеклеточные ловушки.

ROLE OF NEUTROPHILIC EXTRACELLULAR TRAPS IN ACUTE PULMONARY PATHOLOGY. REVIEW OF LITERATURE

Kutepov D., Pasechnik I.

Acute lung injury and acute respiratory distress syndrome remain an urgent problem for intensive care physicians, as they are characterized by a high mortality rate in emergency patients. Currently, the role of neutrophils, and in particular neutrophil extracellular traps, in the pathogenesis of acute lung pathology has been traced. This review focuses on the role of neutrophil extracellular traps in various pathological conditions leading to acute lung injury and acute respiratory distress syndrome.

Key words: acute lung injury, acute respiratory distress syndrome, neutrophils, neutrophil extracellular traps.

Введение

В практике врачей реанимационного профиля часто встречается острая патология лёгких при различных критических состояниях. Особенно тяжёлыми формами являются

острое повреждение лёгких (ОПЛ) и острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС).

ОПЛ – это острое воспаление лёгких, в основе которого лежит нарушение эндотелиального и эпителиального барьеров лёгочных сосудов [1].

ОРДС – это острое заболевание, которое начинается через 7 дней после провоцирующего события и характеризуется двусторонними лёгочными инфильтратами и тяжёлой лёгочной гипоксемией при отсутствии каких-либо признаков кардиогенного отёка лёгких. В соответствии с Берлинским определением для ОРДС характерно острое начало с двусторонними лёгочными инфильтратами на рентгенограмме грудной клетки или компьютерной томографии некардиогенного происхождения и соотношением PaO_2/FiO_2 менее 300 мм рт. ст. [2].

ОПЛ и ОРДС – полиэтиологические заболевания, которые включают *лёгочные* и *внелёгочные* этиологические факторы. К *лёгочным* этиологическим факторам можно отнести пневмонию, ингаляционное повреждение, аспирацию кислого содержимого желудка, ушиб лёгкого и травму грудной клетки. Наиболее частыми *внелёгочными* факторами выступают сепсис, панкреатит, ожоги, употребление наркотических веществ, массивные гемотрансфузии, шок, курение электронных сигарет, химио- и иммунотерапия [3].

Инфильтрация альвеол нейтрофилами – это один из компонентов ОПЛ и ОРДС. Роль нейтрофилов в развитии ОПЛ и ОРДС в целом связана с генерацией активных форм кислорода (АФК), нарушением фагоцитоза и неотозом [3, 4].

Нейтрофилы являются компонентом врождённого иммунитета и первой линией защиты организма хозяина. В результате инвазии патогенов происходит активация нейтрофилов и уничтожение патогенов за счёт фагоцитоза, дегрануляции, продукции АФК, антимикробных пептидов и нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps [NETs]) [3].

NETs состоят из дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), гистонов, гранулярных протеаз (таких, как нейтрофильная эластаза, катепсин G и миелопероксидаза). Образование нейтрофилами NETs получило название *неотоз*.

Неотоз был описан в 2004 г. *V. Brinkmann et al.* как процесс уничтожения бактерий активированными нейтрофилами. В настоящее время неотоз представляет собой запрограммированную гибель нейтрофилов и может происходить по суицидальному и витальному путям [3, 4].

Суицидальный путь неотоза зависит от никотинамид аденин динуклеотид фосфатоксидазы (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase [NOX]). Пусковыми механизмами суицидального пути неотоза являются антитела и микроорганизмы, которые запускают активацию NOX и повышение Ca^{2+} [5].

Как было отмечено выше, NETs состоят из ДНК, гистонов и протеаз. Все указанные структурные компоненты обладают способностью вызывать повреждение эпителиальных и эндотелиальных клеток лёгких, запускать процессы иммунного тромбоза, становясь соучастниками ОПЛ и ОРДС [3, 4].

В стабильном состоянии в гранулах нейтрофилов содержатся сериновые протеазы: нейтрофильная эластаза (НЭ), катепсин G, протеиназа 3 и нейтрофильная сериновая протеаза 4. Данные медиаторы обладают сильной антимикробной и иммуномодулирующей активностью, которая играет важную роль в физиологическом ответе на инфекцию. В случае неконтролируемого гиперреактивного ответа выброс протеаз может вызывать повреждение окружающих здоровых тканей. Наиболее активной протеазой является НЭ.

Эффекты НЭ связаны с эндотелиальной цитотоксичностью и способностью разрушать эндотелиальный цитоскелет, что приводит к нарушению целостности альвеолярно-капиллярного барьера. Результатом прямого воздействия НЭ является нарушение альвеолярно-капиллярной проницаемости [3, 4].

Миелопероксидаза обладает способностью превращать перекись водорода в хлорноватистую кислоту и вырабатывать АФК. Данный цитотоксический эффект проявляется двояко: может вызывать гибель бактерий или повреждать ткани хозяина. Миелопероксидаза, высвобождаемая во время вторичного некроза нейтрофилов, индуцирует разрыв нитей ДНК в эпителиальных клетках лёгких, в результате чего происходит их повреждение. Кроме этого, миелопероксидаза учувствует в формировании неотоза и NETs путём окисления фосфолипидов и синергетического стимулирования хроматиновой декомпактизации НЭ [3].

ДНК – это структурный компонент NETs, связанный с коагуляцией. Функция ДНК не ограничивается созданием каркаса для прикрепления тромбоцитов, лейкоцитов и факторов свёртывания. Дальнейшие исследования показали, что бесклеточная ДНК, полученная из NETs у больных сепсисом, способна запускать генерацию тромбина через факторы XI и XII [6].

Гистоны располагаются в ядре клетки и являются компонентами хроматина, который связан с ДНК и NETs. На долю гистонов приходится до 70% всех белков NETs. В результате неотоза происходит ряд реакций, которые приводят к снижению стабилизации гистона, благодаря чему облегчается деконденсация хроматина и изгнание хроматиновой ДНК. Гистоны играют значительную роль в повреждении эндотелиальных клеток, повышая их проницаемость. Одним из ведущих механизмов повреждения эндотелиальных клеток является приток Ca^{2+} в результате разрушения плазматической мембраны. Гистоны инициируют микрососудистый тромбоз и внутриальвеолярное кровоизлияние [3, 4].

Роль NETs при критических состояниях

Рассмотрим ряд критических состояний, при которых нейтрофильные внеклеточные ловушки играют заметную роль.

Сепсис

Это состояние достаточно часто ассоциируется с ОРДС. Из патогенеза сепсиса следует, что ОРДС – следствие прямого повреждающего действия паталогических агентов. Однако алярмины (такие, как патоген-ассоциированные молекулярные паттерны [pathogen associated molecular patterns – PAMPs] и молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением [damage associated molecular patterns – DAMPs]) тоже способны вносить свой вклад в повреждение лёгких и развитие ОРДС [4].

Как было указано выше, NETs обладают способностью блокировать и инактивировать патогены. Это свойство NETs связано с их электростатическим взаимодействием с отрицательно заряженной поверхностью микроорганизмов. NETs увеличивают способность комплемента уничтожать микроорганизмы, например, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* [4].

Вклад, который вносят NETs в ОРДС у больных сепсисом, связан с их способностью напрямую вызывать повреждение органов, потенцировать воспалительную реакцию, вызывать альвеолярное повреждение и высвобождать провоспалительные цитокины [4, 7].

Один из механизмов повреждения лёгких во время сепсиса был описан *B. McDonald et al.* (2017) как последовательный процесс NETs – тромбоцит – тромбин. Авторы, используя животную модель сепсиса, наблюдали сильную агрегацию тромбоцитов, активацию тромбина и образование фибриновых сгустков внутри NETs. В результате под воздействием NETs происходит внутрисосудистое свёртывание с последующей окклюзией микроциркуляторного русла [8].

COVID-19 – вирус SARS-Cov-2

Данное состояние представляет собой тяжёлое поражение лёгких, ассоциированное с ОПЛ и ОРДС, вызванное вирусом SARS-CoV-2. Иммунопатогенез вирусного поражения лёгких связан со способностью нейтрофилов образовывать NETs и запускать процесс неотоза. Исследования лёгких, проведённые у умерших больных, продемонстрировали диффузную инфильтрацию нейтрофилами с отложением NETs, накопление тромбоцитов и микрососудистые тромбозы [4]. Вклад, который вносят NETs в развитие микрососудистого тромбоза при вирусном поражении лёгких, связан со способностью NETs выступать в качестве центра «кристаллизации» в активации тромбоцитов и лейкоцитов. Дополнительными факторами, которые приводят к ОПЛ и ОРДС, являются гистоны и протеазы. Они увеличивают проницаемость эндотелия, внося свой дополнительный вклад в тромбообразование [4].

Острое повреждение лёгких, связанное с переливанием донорских компонентов крови (TRALI)

TRALI (transfusion-related acute lung injury) возникает в течение 6 час. после переливания донорских компонентов крови, и его нельзя объяснить другими этиологическими факторами. В основе патогенеза TRALI лежит активация и секвестрация нейтрофилов в лёгочных капиллярах в ответ на переливание донорских компонентов крови [4]. Роль, которую играют тромбоциты в высвобождении NETs при TRALI, продемонстрировал *A. Caudrillier et al.* (2012). Исследование показало, что в результате активации тромбоцитов агонистом PAR-1, пептидом, активирующим рецептор тромбина, происходило высвобождение NETs через тромбоксан А2. В качестве доказательства роли тромбоцитов в образовании NETs может служить применение аспирина, который снижает активность тромбоцитов и, соответственно, образование NETs [9].

Ишемически-реперфузионное повреждение лёгких (ИРПЛ)

ИРПЛ – это асептическое повреждение, которое возникает в результате последовательно сменяющихся процессов ишемии и реперфузии. Наиболее частой причинной ИРПЛ являются кардиохирургические операции, трансплантация лёгких, а также ТЭЛА [4].

В настоящее время считается, что ранняя фаза ИРПЛ связана с лёгочными макрофагами и тромбоцитами, за которыми следует активация нейтрофилов [4].

Понимание механизма ИРПЛ было достигнуто благодаря животной модели ортотопической трансплантации лёгкого [4]. С помощью прижизненной 2-фотонной микроскопии был визуализирован внутритрансплантантный неотоз. В ответ на ишемию происходило накопление нейтрофилов и NETs в субплевральной капиллярной сети, что приводило к опосредованному микрососудистому повреждению [4].

Ещё одним механизмом неотоза при ИРПЛ является активация рецептора серин/треонин киназа 3, который приводит к внеклеточному высвобождению алярминов, включая митохондриальные DAMPs. В свою очередь, митохондриальные DAMPs стимулируют перемещение нейтрофилов в лёгочный трансплантат и выработку АФК [4].

Вентилятор-ассоциированное повреждение лёгких (ВАПЛ)

Искусственная вентиляция лёгких (ИВЛ), как это ни парадоксально звучит, кроме пользы, может вызывать тяжёлое ОПЛ. Процесс ОПЛ на фоне ВАПЛ связан со стимуляцией L-селектина, который приводит к высвобождению нейтрофильных хемокинов: CXCL1 и CXCL2/3 [4]. Исследования показали, что ИВЛ связана с выбросом провоспалительных цитокинов – таких, как фактор некроза опухоли-α (ФНО-α), интерлейкин-1 (ИЛ-1) и ИЛ-8. Провоспалительные цитокины являются активаторами NETs, что приводит к неотозу и ОПЛ [4].

J. Rossaint et al. (2014), исследуя механизм повреждения лёгких во время ИВЛ, пришли к выводу, что неотоз является тромбоцитарно-зависимым процессом, протекающим со стимуляцией интегринов и рецепторов, связанных с G-белками, которые находятся на нейтрофилах [10].

Травматические повреждения лёгких

Они могут привести к ОПЛ и ОРДС. К данной группе этиологических факторов относится тупая травма лёгких, проникающее ранение, термический или химический ожог, острое повреждение почек [3, 4].

В результате воздействия выше указанных этиологических факторов происходит нарушение барьерной функции лёгочных микрососудистых эндотелиальных клеток. Вследствие этого лёгкие становятся местом, в котором накапливаются в избыточном количестве незрелые нейтрофилы с нарушенными эффекторными функциями, которые становятся источником NETs [4]. Для объяснения данного феномена была представлена гипотеза, согласно которой mtDAMPs (N-формилированные пептиды) десенсибилизируют нейтрофилы к дальнейшей стимуляции, что снижает их способность высвобождать NETs [4].

Диагностика NETs-опосредованных эффектов

В настоящее время в исследованиях, посвящённых ОПЛ и ОРДС, установлено, что NETs напрямую коррелируют с тяжестью течения патологического процесса и летальностью [3]. NETs обнаруживаются в жидкости бронхоальвеолярного лаважа и в плазме больных ОРДС [3].

Прижизненная микроскопия лёгких позволила установить, что NETs быстро накапливаются в альвеолярных и сосудистых пространствах лёгких после контакта с патогенным агентом, что приводит к изменению проницаемости в лёгких [11].

Выявление структур NETs возможно с помощью иммуноферментного анализа, проточной цитометрии и флуоресцентного иммуноокрашивания. Применение данных методик позволяет выявить такие компоненты NETs, как двухцепочечную ДНК, миелопероксидазу и другие структуры [12].

Важной стороной является выявление предикторов неблагоприятного исхода при течении любого критического состояния. Не стали исключением попытки найти маркёры образования NETs.

В литературе можно найти ссылки на результаты нескольких исследований *in vitro* и на животных моделях, в которых колонизация цитруллинированного гистона 3 (citH3+) и миелопероксидазы показала эффективность для верификации NETs. Однако внедрение данной методики в клиническую практику имеет ограничения из-за высокой стоимости и технических сложностей [12].

В настоящее время продолжаются попытки использовать маркёры NETs в качестве предиктора неблагоприятного исхода. В рандомизированном клиническом исследовании, представленном *X. Qiao et al.* (2022), было установлено, что внеклеточная ДНК в плазме и синдекан-1, используемые как маркёры NETs, полезны в качестве предиктора 28-суточной летальности у септических больных с ОРДС [13]. В исследовании, проведённом *Q. Yang et al.* (2024), была выявлена взаимосвязь между активаций и адгезией

нейтрофилов и потребностью в ИВЛ и длительностью пребывания в ОРИТ [12].

Терапевтические перспективы по снижению негативного влияния NETs на органы и ткани

Терапия ОПЛ и ОРДС, направленная на разрушение сформированных или ингибирование образования NETs, в настоящее время представлена несколькими исследовательскими работами, часть из которых находится в стадии клинических испытаний [3].

Одним из компонентов, который способен разрушать NETs, является ДНКаза I. Эффект ДНКазы I связан с разрушением ДНК в NETs. Исследования, проведённые с использованием животной модели TRALI, ОРДС и ВАПЛ, продемонстрировали, что ДНКаза I предотвращает накопление NETs, уменьшает повреждение лёгких и увеличивает выживаемость [3]. Эффекты ДНКазы I в том числе распространяются на провоспалительные цитокины – такие, как ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-6 [3].

Ингибиторы PAD4 (CC-амидин, GSK484), селективные ингибиторы (стрептомицин) обладают способностью ингибировать PAD4, гистон H3, что приводит к снижению неотоза [3].

Ингибиторы PACD2/PAD4YW356 снижают активность PAD, благодаря чему достигается уменьшение повреждения лёгких [3].

Поскольку нейтрализация эластазы играет ведущую роль в формировании NETs, то возможность её ингибирования открывает широкие перспективы в лечении и снижении тяжести ОПЛ и ОРДС. В настоящее время в группу ингибиторов эластазы входят селективный ингибитор GW311616A и опосредованный наночастицами низкомолекулярный ингибитор Sivelestat [3]. Необратимый ингибитор эластазы альфа-1-антитрипсин на животной модели ОПЛ показал способность улучшать прогноз [3].

Ингибиторы сигнальных путей предназначены для снижения активности образования NETs. Точкой приложения ингибиторов сигнальных путей (p38MAPK, гипогликемический агент метформина, антитела против PD-L1) является блокировка неотоза, ингибирование пути mTOR и PI3K/Akt/mTOR [3].

Пандемия COVID-19 внесла коррективы в лечение ОРДС. Одним из препаратов, который был применён у больных ОРДС, ассоциированным с вирусом SARS-Cov2, была дорназа-α. Эффект дорназы-α был описан у 5 больных с ОРДС, находившихся на ИВЛ. Аэрозольное введение дорназы-α в сочетании с сальбутамолом позволило снизить FiO_2 и улучшить состояние больных [3].

Любое применение лекарственного препарата должно быть подкреплено рандомизированными исследованиями.

X. Qiao et al. (2022) провели исследование CITRIS-ALL, в котором установили, что высокие дозы витамина С снижают ctDNA и повышают уровень синдексина 1 у больных ОРДС, вызванным сепсисом [13].

В другом открытом рандомизированном исследовании фазы 2 (*PANAMO*, 2022) изучалось влияние вилобелимана на выживаемость, биомаркеры воспаления и коагуляцию у больных с COVID-19. В исследовании было обнаружено, что данный препарат снижал показатели маркёров NETs и ИЛ-8 [14].

Заключение

В настоящее время NETs и неотоз играют важную роль в развитии ОПЛ и ОРДС. Проведённые исследования показали, что NETs могут выступать в качестве предиктора неблагоприятного исхода заболевания.

Участие NETs в патогенезе ОПЛ и ОРДС связано со способностью нейтрофилов проникать и накапливаться в лёгких, что приводит к неотозу. NETs вызывают разрушение барьера эндотелиальных клеток лёгких с последующей активацией тромбоцитов, что приводит к тромбообразованию. Образование NETs в сочетании с выбросом их содержимого замыкает порочный круг, усиливая повреждение окружающих тканей. Иммунный баланс ещё больше нарушается в результате взаимодействия NETs с провоспалительными цитокинами.

Необходимо отметить, что в настоящее время расширяется доказательная база по числу критических состояний, в развитии которых принимают активное участие NETs. Это вносит существенные коррективы как в понимание патогенеза критического состояния, так и в стратегию лечения.

Исследования, проведённые в последнее время, указывают на необходимость разработки новых терапевтических средств, которые были бы способны повлиять на процесс формирования NETs. Полученные в будущем данные могут лечь в основу стратегии лечения, дополнив имеющиеся в арсенале методы терапии ОПЛ и ОРДС.

Литература