

© К.А. Айтбаев, И.Т. Муркамилов, В.В. Фомин, Ж.А. Муркамилова, Ф.А. Юсупов, 2023  
УДК 616.61-092 : 616.155.34-08 : 612.216.2

doi: 10.36485/1561-6274-2023-27-4-22-33

EDN: RGNTEY

## НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЛОВУШКИ (НВЛ) ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПОЧЕК: РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ И ВОЗМОЖНОСТИ НВЛ-РЕГУЛИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ

*Кубаныч Авенрович Айтбаев<sup>1</sup>, Илхом Торобекович Муркамилов<sup>2</sup>,  
Виктор Викторович Фомин<sup>3</sup>, Жамила Абдилалимовна Муркамилова<sup>4</sup>,  
Фуркат Абдулахатович Юсупов<sup>5</sup>*

<sup>1</sup> Отдел патологической физиологии, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и медицины, Национальный центр кардиологии и терапии имени академика Мирсаида Миррахимова, г. Бишкек, Кыргызстан;

<sup>2</sup> кафедра факультетской терапии, Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева, г. Бишкек, Кыргызстан;

<sup>2,4</sup> кафедра терапии №2, Кыргызско-Российский славянский университет, г. Бишкек, Кыргызстан;

<sup>3</sup> кафедра факультетской терапии №1, Институт клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

<sup>5</sup> кафедра неврологии, нейрохирургии и психиатрии, Ошский государственный университет, г. Ош, Кыргызстан

<sup>1</sup> kaitbaev@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0003-4973-039X>

<sup>2</sup> murkamilov.i@mail.ru, <https://orcid.org/CID:0000-0001-8513-9279>

<sup>3</sup> fomin@mma.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2682-4417>

<sup>4</sup> murkamilovazh.t@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7653-0433>

<sup>5</sup> furcat\_y@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0632-6653>

### РЕФЕРАТ

Чрезмерные неконтролируемые воспалительные и иммунные реакции часто приводят к развитию острых и хронических форм повреждения различных органов, в том числе и почек. Нейтрофилы – это клетки врожденной иммунной системы, которые являются первыми клеточными эффекторами в защите хозяина от множества патогенов, включая бактерии, грибы и простейшие. Как наиболее многочисленные лейкоциты, присутствующие в крови человека, нейтрофилы рано мигрируют в очаги воспаления или повреждения тканей, где играют значительную роль в развитии воспаления, рекрутировании иммунных клеток, удалении патогенов и восстановлении тканей. Нейтрофилы, кроме того, продуцируют провоспалительные цитокины и высвобождают в процессе, названном нетоз, сетчатые структуры, состоящие из ДНК и гранулярных белков, известные как нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ). НВЛ потенциально токсичны, способствуют активации аутоиммунных процессов, повреждению эндотелия сосудов, следовательно повреждению клубочков и формированию фиброза почек. Данные многочисленных исследований показывают, что дисбаланс между продукцией и клиренсом НВЛ пагубно сказывается на функционировании почек. Следовательно, стратегии, направленные на модуляцию процессов, связанных с НВЛ, могут иметь благоприятное прогностическое значение. В обзоре обсуждается роль нетоза в патогенезе заболеваний почек, приведены ассоциированные с НВЛ механизмы повреждения тканей и терапевтические возможности НВЛ-регулирующей терапии.

**Ключевые слова:** острое повреждение почек, аутоиммунитет, васкулит, нейтрофилы, нетоз, нейтрофильные внеклеточные ловушки, хроническая болезнь почек

**Для цитирования:** Айтбаев К.А., Муркамилов И.Т., Фомин В.В., Муркамилова Ж.А., Юсупов Ф.А. Нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) при заболеваниях почек: роль в патогенезе и возможности НВЛ-регулирующей терапии. *Нефрология* 2023;27(4):22-33. doi: 10.36485/1561-6274-2023-27-4-22-33. EDN: RGNTEY

## NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS (NETs) IN KIDNEY DISEASE: ROLE IN PATHOGENESIS AND POSSIBILITIES OF NET REGULATORY THERAPY

*Kubanych A. Aitbaev<sup>1</sup>, Ilkhom T. Murkamilov<sup>2</sup>, Viktor V. Fomin<sup>3</sup>,  
Zhamila A. Murkamilova<sup>4</sup>, Furkat A. Yusupov<sup>5</sup>*

<sup>1</sup> Department of Pathological Physiology, Research Institute of Molecular Biology and Medicine, National Center of Cardiology and Therapy named after Academician Mirsaid Mirrahimov, Bishkek, Kyrgyzstan;

<sup>2</sup> Department of Faculty Therapy, Kyrgyz State Medical Academy named after I.K. Akhunbayev, Bishkek, Kyrgyzstan;

<sup>2,4</sup> Department of Therapy № 2, Kyrgyz-Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyzstan;

<sup>3</sup> Department of Faculty Therapy №1, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

<sup>5</sup> Department of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry, Osh State University, Osh, Kyrgyzstan

<sup>1</sup> kaitbaev@yahoo.com, <https://orcid.org/0000-0003-4973-039X><sup>2</sup> murkamilov.i@mail.ru, <https://orcid.org/CID:0000-0001-8513-9279><sup>3</sup> fomin@mma.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2682-4417><sup>4</sup> murkamilovazh.t@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7653-0433><sup>5</sup> furcat\_y@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0632-6653>

## ABSTRACT

Excessive uncontrolled inflammatory and immune reactions often lead to the development of acute and chronic forms of damage to various organs, including the kidneys. Neutrophils are the cells of the innate immune system, which are the first cellular effectors in protecting the host from a variety of pathogens, including bacteria, fungi and protozoa. As the most numerous leukocytes present in human blood, neutrophils migrate early to the foci of inflammation or tissue damage, where they play a significant role in the development of inflammation, recruitment of immune cells, removal of pathogens and tissue repair. Neutrophils also produce pro-inflammatory cytokines and release, in a process called netosis, a network of DNA and granular proteins known as neutrophil extracellular traps (NETs). NETs are potentially toxic, contribute to glomerular damage, activate autoimmune processes, cause vascular damage, and promote renal fibrosis. Numerous studies show that an imbalance between NET production and clearance is detrimental to kidney function. Therefore, strategies aimed at modulating the processes associated with NET may have a favorable prognostic effect. The review discusses the role of the netosis in the pathogenesis of kidney diseases, describes the mechanisms of tissue damage associated with NET, and the therapeutic potential of NET regulatory therapy.

**Keywords:** acute kidney injury, autoimmunity, vasculitis, neutrophils, netosis, neutrophil extracellular traps, chronic kidney disease

**For citation:** Aitbaev K.A., Murkamilov I.T., Fomin V.V., Murkamilova Zh.A., Yusupov F.A. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in Kidney Disease: Role in Pathogenesis and Possibilities of NET Regulatory Therapy. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2023;27(4):22-33. (In Russ.) doi: 10.36485/1561-6274-2023-27-4-22-33. EDN: RGNTY

## ВВЕДЕНИЕ

Заболевания почек и иммунная система неразрывно связаны между собой. Почки часто являются мишенью для иммунных реакций, которые способствуют развитию острого повреждения и острой/хронической болезни почек [1, 2]. Иммунопатологические механизмы, участвующие в развитии заболеваний почек, разнообразны и включают рекрутирование иммунных клеток, продукцию аутоантител, образование иммунных комплексов, нарушение регуляции медиаторов воспаления и иммунодефицит [1, 3]. Кроме того, активация процессов восстановления тканей после иммуноопосредованного повреждения может привести к развитию фиброза и, в конечном итоге, почечной недостаточности [4]. Результаты фундаментальных и клинических исследований подчеркивают важность таких клеток врожденного иммунитета, как нейтрофилы, в патогенезе и прогрессировании почечных заболеваний.

Нейтрофилы являются первыми клеточными эффекторами, которые привлекаются к участкам инфекции и повреждения тканей, где играют значительную роль в развитии воспаления, рекрутировании иммунных клеток, удалении патогенов и восстановлении тканей. Нейтрофилы выполняют свои функции посредством четырех основных механизмов, таких как фагоцитоз, дегрануляция, продукция цитокинов и образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) [5]. Успешная защита хозяина требует эффективной активации нейтрофилов, которая в случае неинфекционно-

го воспаления запускается сигналами опасности, известными как молекулярные паттерны, связанные с повреждением (DAMP, damage-associated molecular patterns). Врожденная иммунная система распознает DAMP после их высвобождения из поврежденных клеток или из-за химических и протеолитических модификаций, вторичных по отношению к повреждению ткани. В почках инфильтрация нейтрофилов и DAMPs, выделяемых некротическими почечными клетками, усиливает внутрипочечное воспаление и повреждение тканей [6]. DAMPs также усиливают повреждение канальцев, стимулируя рецепторы нейтрофилов и способствуя, тем самым, активации фермента пептидил аргинин деиминазы 4 (PAD4, peptidyl arginine deiminase), деконденсации хроматина и образованию НВЛ [7]. В свою очередь, НВЛ являются источником аутоантигенов, которые индуцируют выработку антинейтрофильных цитоплазматических антител (ANCA, anti-neutrophil cytoplasmic antibodies) [8]. В этом обзоре будут суммированы текущие знания относительно НВЛ-ассоциированных механизмов повреждения тканей при возникновении и прогрессировании заболеваний почек.

### Нейтрофильные внеклеточные ловушки

НВЛ представляют собой сетчатые внеклеточные структуры, состоящие из ДНК, гистонов и белков, происходящих из внутриклеточных полиморфно-ядерных гранул нейтрофилов [5]. Эти структуры локально концентрируют иммунные эффекторы и помогают сдерживать рас-

пространение патогенов. Вот некоторые из этих молекулярных эффекторов, вносящих вклад в микробицидный потенциал NET: эластаза нейтрофилов (NE, neutrophil elastase), миелопероксидаза (MPO, myeloperoxidase), катепсин G, лактоферрин, пентаксин 3, желатиназа, протеиназа 3 (PR3, proteinase 3) и пептидогликан-связывающие белки [9]. NE и катепсин G могут также обрабатывать интерлейкин-1 и интерлейкин-36, тем самым подчеркивая роль НВЛ в активации цитокинов и воспалении [10].

Существенными последовательными изменениями, предшествующими высвобождению НВЛ во внеклеточное пространство, являются: разрушение ядерной мембраны, деконденсация цитоплазматического хроматина и разрыв плазматической мембраны [5]. В этом сценарии НВЛ возникают из умирающих нейтрофилов посредством нетоза – механизма гибели клеток, который отличается от апоптоза и некроза [11]. При суицидном нетозе гибель клеток является следствием высвобождения НВЛ. Однако другой путь, известный как витальный нетоз, может приводить к образованию НВЛ, сохраняя при этом жизнеспособность клеток [12]. Тип нетоза, которому подвергаются нейтрофилы, во многом зависит от молекулярной природы стимулов [13]. Недавний протеомный анализ показал, что стимуляция нейтрофилов форбол 12-миристатином 13-ацетатом (PMA, phorbol 12-myristate 13-acetate), ионофором кальция A23187 или липополисахаридом *Escherichia coli* индуцирует образование НВЛ с различным белковым составом и посттрансляционными модификациями, особенности которых, вероятно, отражают их биологическую функцию [14].

Суицидный нетоз основан на внутриклеточном увеличении количества активных форм кислорода (АФК), что приводит к ядерной транслокации NE, где он частично разрушает гистоны и запускает процесс деконденсации хроматина [11, 15]. МРО взаимодействует с NE, вызывая массивную релаксацию хроматина [15]. Протеолиз с помощью NE – не единственная модификация гистонов, участвующая в образовании НВЛ. Гиперцитруллинирование гистонов с помощью PAD4 также опосредует дестабилизацию нуклеосом и деконденсацию хроматина. Нейтрофилы экспрессируют высокие уровни PAD4, фермента, связанного с гиперцитруллинированными гистонами H3 и H4, присутствующими как в деконденсированном хроматине, так и в НВЛ [16]. Такие провоспалительные цитокины, как интерлейкин-1 бета, фактор некроза опухоли-альфа и интерлейкин-8, являются мощными активаторами продукции АФК

в нейтрофилах и индуцируют образование НВЛ [17]. Мобилизация кальция и изоформы протеинкиназы C (PKC, protein kinase C) также являются важными регуляторами нетоза. В согласованном порядке PKCα ингибирует дезаминирование гистонов, тогда как PKCζ (PKC-zeta) приводит к активации PAD4 и цитруллинированию гистонов [18]. Кроме того, АФК активируют митоген-активированную протеинкиназу p38 и нижестоящую p38-регулируемую / активированную киназу (PRAK, p38-regulated/activated kinase) для стимулирования образования НВЛ в ответ на PMA [19]. PRAK также является сенсором окислительного стресса и, наряду с p38, регулирует баланс между нетозом и апоптозом нейтрофилов.

Витальный нетоз, напротив, не включает повреждение плазматической мембраны или клеточный лизис, поскольку высвобождение НВЛ происходит через отпочковывающиеся ядерные пузырьки, заполненные ДНК [12]. Нейтрофилы, которые претерпевают витальный нетоз, становятся безъядерными, но сохраняют целостность плазматической мембраны, подвижность и способность выполнять фагоцитоз [20]. Частичными триггерами витального нетоза являются активация толл-подобных рецепторов (TLR, toll-like receptors) и компонента C3 комплемента [21]. В отличие от суицидного нетоза этот путь более быстрый и в основном не зависит от оксидантов [22].

Аутофагия, консервативный катаболический процесс, предотвращающий повреждение клеток при стрессе и цитотоксическом воздействии, также регулирует образование НВЛ [23]. Однако есть противоречивые результаты среди исследований, оценивающих влияние ингибиторов и активаторов аутофагии на образование НВЛ [23–25].

Несмотря на текущие достижения, сигнальные механизмы, которые контролируют образование НВЛ, остаются в основном не охарактеризованными. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы понять различные молекулярные пути, регулирующие нетоз, и их значение для опосредованных нейтрофилами биологических функций в норме и при патологии.

### **Внеклеточные ловушки нейтрофилов при заболеваниях почек**

#### **Острое повреждение почек**

Острое повреждение почек (ОПП) характеризуется быстрым снижением скорости клубочковой фильтрации вследствие снижения почечного кровотока, воспаления или нефротоксичности [26]. Патологические проявления ОПП часто включают поврежденные каналы, дисфункциональ-

ную почечную сосудистую сеть, чрезмерное воспаление и инфильтрацию иммунных клеток [27]. Хотя нейтрофилы являются хорошо известными элементами провоспалительных реакций, точные механизмы, посредством которых нейтрофилы вносят вклад в развитие ОПП, все еще остаются спорными. Тем не менее, в более поздних исследованиях получены данные о роли в патогенезе ОПП высвобождения НВЛ, которое возникает в результате ишемического–реперфузионного повреждения и гемолитико-уремического синдрома (ГУС) [27–30].

Ишемическое ОПП повышает уровень циркулирующих и локализованных НВЛ и гистонов, а также экспрессию PAD4 в пораженных почках [7, 23]. W.M. Raup-Konsavage и соавт. продемонстрировали, что клетки, экспрессирующие PAD4, в основном представляют собой нейтрофилы, которые агрегируются в перитубулярных капиллярах, интерстициальном пространстве и почечных канальцах после ишемического реперфузионного повреждения [28]. НВЛ вызывают гибель эпителиальных клеток канальцев, способствуют свертыванию крови в перитубулярных капиллярах через взаимодействие тромбоцитов и нейтрофилов, инициируя, тем самым, развитие процесса нетоза в других нейтрофилах [7, 29]. Все эти события поддерживают гипоксию и усиливают повреждение тканей. Интересно, что ингибирование PAD4 с использованием фармакологических или генетических подходов предупреждало развитие ОПП на животных моделях из-за уменьшения воспаления и образования НВЛ. Между тем, деградация NET под действием ДНКазы I или антигистонов IgG также снижает повреждение почек, что свидетельствует о важности образования НВЛ в патогенезе ишемического ОПП [7, 28]. Показано также, что некроз канальцев и формирование НВЛ, высвобождая в циркуляцию гистоны и цитокины, усиливают дисфункцию удаленных органов и общую картину тяжелого ОПП [7].

При ГУС, сосудистом заболевании, вызванном Шига-токсином энтерогеморрагических бактерий, нейтрофилы опосредуют воспалительную реакцию, которая необходима для прогрессирования гемолитической анемии, тромбоцитопении и острой почечной недостаточности, характерной для этого заболевания. НВЛ способствуют развитию почечной недостаточности при ГУС, вызывая воспалительную реакцию и тромбоз в микрососудах. Кроме того, показано, что плазма пациентов с ГУС содержит повышенные уровни ДНК и нуклеосом, свободных от циркулирующих клеток, по сравнению со здоровыми субъектами [30].

Нейтрофилы у пациентов с ГУС также обладают большей способностью к спонтанному нетозу.

### **Волчаночный нефрит**

Нетоз – это патогенный признак системной красной волчанки (СКВ), часто связанный с активными периодами заболевания и выработкой аутоантител [31]. Примечательно, что дефектное удаление НВЛ в сыворотке крови у пациентов с СКВ коррелирует с признаками активного нефрита, такими как протеинурия, снижение уровня альбумина и клиренса креатинина [32]. Нейтрофилы пациентов с СКВ спонтанно генерируют НВЛ, которые являются более окисленными и иммуногенными, чем те, которые выделяются нейтрофилами у здоровых субъектов [33]. Более того, высокие уровни НВЛ в коже, почках и костном мозге усиливают их прямую роль в дисфункции органов, ассоциированных с СКВ [34]. Наличие НВЛ в биоптатах почек от пациентов с СКВ с нефритом дополнительно подтверждает их вклад в повреждение почек [35].

Мутации ДНКазы I присутствуют у некоторых пациентов с СКВ и могут частично объяснять персистенцию НВЛ в сыворотках у этих пациентов [36]. Апоптотический или некротический материал из НВЛ считается основным источником аутоантигенов, ответственных за развитие аутоиммунного состояния и усугубление повреждения тканей [37]. Аутоантитела способствуют персистенции НВЛ, блокируя их деградацию и увеличивая активацию комплемента, тогда как присутствие компонентов НВЛ и аутоантител, направленных против них, четко отражает активность СКВ [38]. Иммунные комплексы, связывающие матричную металлопротеиназу 2, компонент НВЛ, увеличивают высвобождение НВЛ и активность матричной металлопротеиназы 2 в сыворотке крови у пациентов с СКВ [39]. Точно также пептид LL37, обнаруженный в НВЛ, ассоциируется с иммунным ответом на внеклеточную ДНК у этих пациентов [40]. Цитруллинированный гистон H1 и аутоантитела против цитруллинированного H1, присутствующие у пациентов с СКВ, также коррелируют с активностью заболевания [41].

Кроме того, пациенты с СКВ обладают особой субпопуляцией нейтрофилов, известной как гранулоциты низкой плотности [42]. Гранулоциты низкой плотности склонны к высвобождению провоспалительных цитокинов и спонтанному образованию НВЛ. Эти клетки стимулируют выработку интерферона-альфа (IFN- $\alpha$ , interferon alpha), центрального фактора в развитии патогенеза СКВ, в плазматических дендритных клетках (pDC, plasmacytoid dendritic cells) [40]. ДНК и НВЛ-



ассоциированные белки, высвобождаемые гранулоцитами низкой плотности, активируют TLR9 в pDC, чтобы индуцировать продукцию IFN- $\alpha$  [40]. Более того, нейтрофилы при нетозе сами по себе продуцируют IFN- $\alpha$  в ответ на циркулирующий хроматин, белки LL37 и HMGB1 (high-mobility group protein B1) [43]. IFN- $\alpha$  цитотоксичен для эндотелиальных клеток, поскольку может нарушать дифференцировку эндотелия и ангиогенез [42]. Следовательно, IFN- $\alpha$ -опосредованные эффекты на зрелые эндотелиальные клетки и их предшественники вредны для почечной сосудистой сети во время обострений СКВ. Согласованная активность нейтрофилов и pDC усиливает иммунную дисрегуляцию, воспаление и повреждение тканей через IFN $\alpha$ . Помимо своего воздействия на pDC, компоненты НВЛ также активируют В-клетки и, в свою очередь, комплексы анти-ДНК могут дополнительно усиливать активность pDC и В-клеток, создавая пагубный аутоиммунный цикл [44].

Кроме того, избыточная продукция НВЛ нейтрофилами при СКВ связана с гипоксией, активацией белка стресс-ответа, индуцируемого повреждением ДНК, транскрипта 4 (DDIT4 / REDD1) и аутофагией [45]. НВЛ, высвобождаемые активными нейтрофилами пациентов с СКВ, богаты тканевым фактором и интерлейкином-17A, которые способствуют тромбозу, воспалению, повреждению тканей и фиброзу в органах-мишенях, включая почки. У пациентов с волчаночным нефритом, E. Frangou et al. наблюдали наличие НВЛ в клубочках и тубулоинтерстициальном компартменте в непосредственной близости от капсулы Боумана, которые состояли из тканевого фактора, что свидетельствует о возможной роли этих НВЛ в разрушении капсулы и формировании клубочковых «серпов» [45].

#### **Васкулит сосудов малого диаметра и ANCA-ассоциированный васкулит**

ANCA против МРО и протеиназы-3 являются диагностическими инструментами при васкулите мелких сосудов (SVV, small vessel vasculitis) – системном аутоиммунном заболевании. Оба аутоантигена являются компонентами НВЛ и участвуют во вредной цепи обратной связи, ответственной за усиление клеточной адгезии, активацию комплемента и продукцию НВЛ [46]. Образцы крови у пациентов с SVV имеют более высокие уровни МРО и ДНК, тогда как НВЛ связаны со значительными нейтрофильными инфильтратами в биоптатах у пациентов с активным заболеванием [47]. Кроме того, пациенты с активным SVV имеют высокие сывороточные уровни IFN- $\alpha$ , цитокина, связанного с pDC, активируемыми компонентами НВЛ [47].

Хотя исследования по определению продольной взаимосвязи НВЛ и SVV все еще продолжаются, очевидно, что пациенты с активным SVV имеют более высокие уровни циркулирующих НВЛ и повышенную склонность к гибели полиморфно-ядерных клеток по сравнению с пациентами в стадии ремиссии и здоровым контролем [48].

ANCA-ассоциированный васкулит (AAV, ANCA-associated vasculitis) относится к группе иммунных васкулитов, характеризующихся некротическим воспалением мелких сосудов и циркулирующих ANCA [49]. Хотя нейтрофилы от пациентов с AAV менее подвержены апоптозу, они, тем не менее, демонстрируют спонтанное образование НВЛ [50]. Как и при СКВ, при биопсии почек у пациентов с AAV имеются данные о НВЛ [47,51]. AAV включает три заболевания: гранулематоз с полиангиитом, микроскопический полиангиит (MPA, microscopic polyangiitis) и эозинофильный гранулематоз с полиангиитом [52]. MPA – это патология, связанная с ANCA, которая поражает мелкие сосуды, особенно в почечных клубочках [53]. Компоненты НВЛ, особенно МРО, действуют как аутоантитела, которые увеличивают количество циркулирующих ANCA и способствуют последующему развитию MPA [54]. Напротив, иммуноглобулины от пациентов с MPA индуцируют дополнительное высвобождение НВЛ, степень которого коррелирует со сродством ANCA к МРО. Кроме того, активность ДНКазы I ниже в сыворотке от пациентов с MPA, что нарушает адекватную деградацию НВЛ [55]. Высвобождение и персистенция НВЛ, которые присутствуют почти у 90% пациентов с MPA, также ответственны за повреждение почек [50]. Предположение о том, что образование НВЛ в нейтрофилах индуцируется в основном ANCA, не нашло подтверждения. Так, T. Kraaij et al. недавно продемонстрировали, что неконтролируемое образование НВЛ у пациентов с AAV не зависит от уровней ANCA в сыворотке [51]. Полученные результаты свидетельствуют также о том, что: 1) нетоз чаще встречается у пациентов, положительных по МРО-ANCA, а не по PR3-ANCA; 2) нейтрофилы и НВЛ могут играть разные роли в патогенезе гранулематоза с полиангиитом и MPA. Более того, чрезмерный нетоз у пациентов с AAV ассоциировался с активным клиническим заболеванием, а не с тяжелой инфекцией, что подчеркивает роль НВЛ в аутоиммунных заболеваниях [51].

#### **Механизмы повреждения тканей, ассоциированные с НВЛ**

Хотя образование НВЛ является естественной защитной реакцией врожденной иммунной систе-

мы, компоненты НВЛ не являются специфическими, и их действия могут косвенно способствовать повреждению тканей и аутоиммунитету. Следовательно, нарушение регуляции выработки или выведения НВЛ вредно для почек. Недавнее исследование показало, что НВЛ потенциально токсичны, и их присутствие в почках способствует повреждению клубочков [56]. Ферменты, разрушающие нейтрофилы, могут непосредственно вызывать апоптоз в эндотелиальных клетках и разрушать базальную мембрану, тогда как тубулоинтерстициальное повреждение снижает клубочковый кровоток, создавая, таким образом, среду для активации нетоза [7, 27, 29]. Эпителиальные канальцевые клетки высвобождают гистоны в ответ на гипоксию и повреждение почек, которые, в свою очередь, активируют нейтрофилы для высвобождения большего количества НВЛ и создают провоспалительный цикл, который продолжает вызывать повреждение эндотелиальных клеток [7, 56]. Косвенно НВЛ способствуют повреждению сосудов, активируя альтернативный путь комплемента, и вносят вклад в фиброз почек путём индукции эндотелиально-мезенхимальной трансформации (EndMT, endothelial to mesenchymal transformation) [56]. Ниже будут рассмотрены некоторые НВЛ-ассоциированные медиаторы повреждения тканей при заболеваниях почек.

#### **ДНК и гистоны**

Компоненты НВЛ цитотоксичны, усиливают воспаление и способствуют свертыванию крови. Внеклеточная ДНК из НВЛ является сильным активатором тромботических нарушений, поскольку она индуцирует агрегацию тромбоцитов, способствует коагуляции, ингибирует фибринолиз и нарушает стабильность ткани [57]. Митохондриальная ДНК, богатая CG, является более мощным провоспалительным стимулом, чем ядерная ДНК, хотя обе являются компонентами НВЛ [33, 58].

Гистоны – жизненно важные элементы НВЛ, обладающие бактерицидным свойством [59]. Внеклеточные гистоны активируют иммунные ответы посредством под-подобных рецепторных белков 3, TLR2 и TLR4 [60, 61]. Более того, внеклеточные гистоны цитотоксичны, вызывают дисфункцию эндотелия и способствуют органной недостаточности при сепсисе [62]. При ОПП гистоны, высвобождаемые поврежденными тканями, усугубляют почечную недостаточность, а в условиях *in vitro* внеклеточные гистоны убивают почечные эндотелиальные и канальцевые эпителиальные клетки [61]. Поразительно, что внеклеточные гистоны увеличивают продукцию АФК и привлекают нейтрофилы, создавая своеобразную петлю в

пользу продукции НВЛ [60]. Помимо эндотелиального, почечного и нейтрофильного действий, гистоны вызывают развитие тромбоза, способствуя образованию тромбина, агрегации тромбоцитов, активности протромбиназы и экспрессии Р-селектина, фосфатидилсерина и фактора V [63].

#### **Нейтрофильная эластаза**

Недавнее исследование E. Pieterse et al. чётко продемонстрировало связь между NE, увеличением сосудистой проницаемости и профибротическими процессами при воспалительных состояниях, связанных с НВЛ [56]. Чрезмерный нетоз превышал фагоцитарную способность эндотелиальных клеток и приводил к протеолизу VE-кадгерина, потере межклеточных соединений, повышению сосудистой проницаемости и индукции EndMT посредством передачи сигналов  $\beta$ -катенина. Следует отметить, что EndMT играет важную роль в развитии и прогрессировании повреждения почек за счет изменений формы клеток, полярности, подвижности и выработки коллагена, которые вносят вклад в интерстициальный фиброз [64]. Присутствие в клубочках НВЛ и компонентов НВЛ, таких как NE и цитруллинированный гистон H3, ассоциируется не только с EndMT, но и со степенью протеинурии [56]. Целостность эндотелиальных межклеточных контактов в основном опосредуется VE-кадгерином и является предпосылкой для поддержания рестриктивного эндотелиального барьера [65]. В заключение необходимо отметить, что НВЛ играют роль также в развитии отека и протеинурии, увеличивая проницаемость сосудов за счет NE-опосредованной потери VE-кадгерина.

#### **Аутоантитела**

Изменения основных свойств аутоантител до начала почечных заболеваний являются обычным событием, хотя почки также могут стать уязвимыми к отложению и связыванию аутоантител. Как описано в предыдущих разделах, компоненты НВЛ, такие как гистоны, дцДНК и гранулярные белки нейтрофилов, действуют как повсеместно присутствующие аутоантигены при множестве почечных заболеваний. Более того, все описанные аутоантигены для ANCA являются компонентами НВЛ [66]. Эти полученные из нейтрофилов молекулы необходимо высвободить во внеклеточную среду, чтобы антитела распознали их как антигены. Когда эффекторные механизмы аутоантител не могут должным образом устранять НВЛ-ассоциированные антигены, происходят воспалительное повреждение ткани и новый выброс внутриклеточных антигенов. Этот динамический процесс создает деструктивный цикл, в

котором каждая вспышка болезни вызывает выработку новых аутоантител и повреждение тканей [67]. Активация В-клеток и миелоидных клеток с помощью TLR и Fc-рецепторов иммуноглобулинов, экспрессируемых на всех гемопоэтических клетках, дополнительно усиливает патогенный воспалительный ответ и способствует его сохранению [68]. НВЛ также усиливают антигенные ответы, опосредованные Т-клетками, и активируют В-клетки, чтобы индуцировать выработку иммуноглобулинов и антител [34].

Хотя аутоантитела вызывают повреждение клеток и активацию иммунной системы, используя различные механизмы, образование иммунных комплексов является важным компонентом патологии, вызванной аутоантителами. Иммунные комплексы, молекулы, образующиеся в результате связывания антител с растворимым антигеном, активируют эффекторные клетки через рецепторы Fc и вызывают фагоцитоз, эндоцитоз опсонизированных IgG частиц, высвобождение медиаторов воспаления и цитотоксичность [69]. Циркулирующие уровни иммунных комплексов, содержащих ДНК и антитела класса IgG против дцДНК, являются нефритогенными [70]. Присутствие заряженных остатков в областях CDR тяжелой цепи аутоантитела, особенно CDR3, а также изотип и подкласс антитела определяют риск клинического нефрита [71]. Иммуобилизованные иммунные комплексы также способствуют высвобождению НВЛ посредством активации FcγRIIIb и макрофагального антигена 1 с последующим фосфорилированием p38 и протеинкиназ 1 и 2, регулируемых внеклеточными сигналами [72]. Как и в случае с другими стимулами, этот эффект требует продукции АФК НАДФН-оксидазой и активности МРО.

Опосредованное аутоантителами повреждение ткани также зависит от активации каскада комплемента через классический путь, который зависит от антител, связанных с мишенью, C1q, и активации C3-конвертазы (C2bC4b) [73]. Система комплемента приводит к формированию комплекса мембранной атаки в плазматической мембране клеток-мишеней посредством серии каскадных реакций серин-протеазы и последовательного расщепления белков комплемента [74]. Комплекс мембранной атаки способствует лизису клеток, создавая поры, которые позволяют небольшим молекулам и метаболитам свободно диффундировать. Хотя активация комплемента и формирование комплекса мембранной атаки направлены на уничтожение патогенов, они также могут влиять на клетки и ткани хозяина, если система комплемента не контролируется.

### Система комплемента

Доказательства, подтверждающие актуальность системы комплемента для нетоза, получены от мышиных нейтрофилов с дефицитом рецепторов C3 и C3a, которые не способны образовывать НВЛ [21]. Более того, опсонизация, опосредованная белком комплемента, инициированная классическими или альтернативными путями, жизненно важна для высвобождения НВЛ; следовательно, способность патогенов вызывать нетоз обратно пропорциональна их способности обходить активацию и опсонизацию комплемента [72]. Кроме C3, анафилатоксин C5a также усиливает высвобождение НВЛ за счет рекрутирования и последующего прайминга нейтрофилов за счет активации TLR и рецепторов комплемента [72].

Нетоз, активация комплемента и коагуляция относятся к треугольному взаимосвязанному пути [73]. Активация TLR4 в тромбоцитах способствует адгезии клеток к нейтрофилам, что усиливает внутрисосудистую продукцию НВЛ и способствует тромбовоспалительным поражениям и повреждению тканей [17]. Активированные тромбоциты индуцируют высвобождение НВЛ, представляя HMGB1 рецепторам полиморфно-ядерных клеток [20]. Помимо своей связи с тромбоцитами, НВЛ также привлекают эритроциты, способствуют отложению тромбина и служат в качестве каркаса при формировании тромба [57].

### Терапевтические вмешательства

Как уже упоминалось в предыдущих разделах, нетоз играет важную роль в патогенезе и прогрессировании различных воспалительных заболеваний почек [7–9]. Следовательно, стратегии, нацеленные на НВЛ-ассоциированные механизмы повреждения тканей, могут быть полезными для уменьшения тяжести почечных заболеваний. Поскольку состав НВЛ и механизмы их высвобождения, по-видимому, зависят от уникальности патогенеза каждого заболевания, терапевтические вмешательства следует также подбирать индивидуально для каждого типа заболевания.

Терапевтический потенциал новых селективных ингибиторов PAD4, фермента, критически важного для цитруллинирования белков и образования НВЛ, в настоящее время исследуется на доклинических моделях рака почек и аутоиммунных заболеваний. Ожидается, что эффективность нескольких таких молекул скоро будет проверена в клинических испытаниях фазы I / II [27, 28, 75]. Хотя были охарактеризованы несколько ингибиторов PAD, большинство из них оказались недостаточно эффективными [76]. Необратимые соединения галогенацетамида, включая



F- и C1-амидин, были активны против PAD4 как *in vitro*, так и *in vivo* [77]. Селективные ингибиторы PAD4 подтверждают ключевую роль PAD4 в цитруллинировании гистонов, формировании НВЛ и продукции ANCA [78]. Более того, введение ингибиторов PAD4, таких как 2-хлорамидин, YW3-56 и GSK484, перед ишемией–реперфузией или на животных моделях рака почек значительно снижало повреждение почек, некроз, застойные явления и системное воспаление [27, 28, 75]. Кроме того, использование ингибиторов PAD C1-амидина и BB-C1-амидина у мышей, склонных к волчанке, модулирует образование НВЛ, снижает экспрессию IFN-регулируемых генов и защищает от волчаночного повреждения сосудистые сети, почки и кожу [79]. Несмотря на текущие достижения, разработка более мощных, эффективных и безопасных ингибиторов PAD4 остается критически важной задачей для переноса экспериментальных данных от животных моделей в клинику.

Помимо ингибиторов PAD4, эффекты ингибитора тромбоцитов клопидогреля и ингибитора NE сивелестата также изучались *in vitro* и *in vivo* [29]. Ингибирование тромбоцитов клопидогрелем снижало образование НВЛ и повреждение почек после ишемии–реперфузии у мышей, в то время как сивелестат снижал протеинурию, уровень креатинина и повреждение клубочков на крысиной модели нефрита [29]. Ингибиторы выработки оксида азота и окислительного стресса также оказались эффективными в снижении высвобождения НВЛ, что свидетельствует о возможности их использования для уменьшения НВЛ-ассоциированного повреждения почек *in vivo* [80].

На нарушение регуляции продукции IFN влияют высвобождение НВЛ и последующая активация pDC [40]. Клинические испытания, нацеленные на нетоз и IFN-зависимые пути, были проведены у пациентов с СКВ. Ронтализумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG, которое нейтрализует IFN- $\alpha$ . Пациенты с волчанкой лечились ритонализумабом в рамках исследования первой фазы, в ходе которого было определено, что антитело безопасно и может снижать экспрессию регулируемых IFN генов; аналогичные результаты были получены и в другом исследовании по оценке моноклонального антитела против IFN- $\alpha$  сифалумимаба [81]. Взятые вместе, эти результаты предполагают, что модуляция IFN-зависимых ответов является многообещающей стратегией для контроля аутоиммунно-опосредованного повреждения почек. В нейтрофилах, выделенных от пациентов с СКВ, витамин D снижал образова-

ние НВЛ и апоптоз эндотелиальных клеток [82]. Более того, низкие уровни 25(OH)D в сыворотке крови у пациентов с СКВ были ассоциированы с протеинурией и белком, связывающим витамин D в моче [83]. К сожалению, устранение дефицита витамина D у небольших групп пациентов с СКВ не оказывало значительного влияния на иммунные маркеры или активность заболевания [84].

Деградация, а не образование НВЛ, оказалась вовлеченной в патогенез СКВ и волчаночного нефрита [32]. В экспериментальной модели СКВ лечение ДНКазой I и дексаметазоном уменьшало протеинурию и сывороточный креатинин, а также улучшало показатели гистопатологии почек [85]. Интересно, что сыворотки у пациентов с СКВ содержали ингибиторы ДНКазы I или повышенные титры НВЛ-связывающих антител, т. е. те механизмы, которые защищают НВЛ от дегградации ДНКазой I [32, 86]. Эти данные свидетельствуют о том, что более низкая активность ДНКазы I в патологических почках подавляет удаление остатков ДНК, тогда как обработка ДНКазой I защищает почки от ишемии, вызванной ОПП [87]. Введение ДНКазы I на животных моделях ишемии–реперфузии улучшало гистологические характеристики почечного повреждения, функцию почек, снижало гипоксию и активировало регенерацию [87]. Терапевтические агенты, которые нацелены на дегградацию НВЛ, такие как ДНКазы I, должны быть дополнительно изучены с тем, чтобы уменьшить повреждения тканей, связанных с НВЛ, при волчаночном нефрите и ОПП.

Кроме того, внутривенная терапия человеческим сулфо-иммуноглобулином (ВВИГ-С), приготовленным из  $\gamma$ -глобулинов крови здоровых доноров, снижала образование НВЛ *in vitro* и *in vivo*, титры ANCA-МРО и развитие AAV на модели крыс [88]. Хотя терапия ВВИГ ранее использовалась для успешного лечения аутоиммунных заболеваний, агаммаглобулинемии и тяжелых инфекций у людей, всё же необходимы дальнейшие проспективные клинические испытания, чтобы продемонстрировать эффективность терапии ВВИГ у пациентов с AAV [88].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Область исследований, посвящённых нетозу, выросла в геометрической прогрессии с 2004 года, когда V. Brinkmann et al. описали НВЛ как внеклеточные волокна, состоящие из хроматина и белковых гранул, высвобождаемых нейтрофилами и способных связывать бактерии. С тех пор нетоз широко изучается *in vitro*, на животных моделях и при заболеваниях человека. Хотя выводы, сделан-



ные этими исследованиями, столь же разнообразны, как и сами исследования, теперь очевидно одно, что нетоз – это больше, чем простой механизм защиты хозяина. Нетоз вызывает патофизиологические состояния, связанные со стерильным воспалением и аутоиммунитетом, а также ответствен за воздействие на почки, которое способствует развитию острых и хронических форм почечного повреждения. НВЛ-ассоциированные механизмы играют роль в патогенезе ОПП, ГУС, волчаночного нефрита, SVV и AAV, хотя динамика формирования и клиренса НВЛ еще полностью не изучена. Нейтрофилы и нетоз также можно модулировать при менее изученных патологических состояниях, таких как хроническая болезнь почек и трансплантация почки. Следовательно, срочно необходимы исследования, посвященные влиянию диализа, трансплантации, иммуносупрессии и высоких титров донор-специфических антител на биологию нейтрофилов и их способность вызывать НВЛ-опосредованное повреждение ткани.

Образование НВЛ является важной терапевтической мишенью для лечения множества заболеваний человека, включая нефропатию. Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе нетоза и его взаимосвязи с апоптозом, также поможет в разработке индивидуальных терапевтических стратегий при одновременном снижении риска неблагоприятных побочных эффектов. Важным аспектом, который также необходимо учитывать, является перекрестное взаимодействие нейтрофилов и НВЛ с другими типами клеток, такими как тромбоциты и эндотелиальные клетки, и то, как это взаимодействие модулирует биологические результаты у здорового и больного человека.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ REFERENCES

1. Tecklenborg J, Clayton D, Siebert S, Coley SM. The role of the immune system in kidney disease. *Clin Exp Immunol* 2018;192:142–150. <https://doi.org/10.1111/cei.13119>
2. Kato S, Chmielewski M, Honda H et al. Aspects of immune dysfunction in end-stage renal disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:1526–1533. <https://doi.org/10.2215/CJN.00950208>
3. Mastroianni-Kirsztajn G, Hornig N, Schlumberger W. Autoantibodies in renal diseases—Clinical significance and recent developments in serological detection. *Front Immunol* 2015;6:221. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00221>
4. Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. Inflammatory processes in renal fibrosis. *Nat Rev Nephrol* 2014;10:493–503. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2014.114>
5. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004;303:1532–1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
6. Mula SR, Linkermann A, Anders HJ. Necroinflammation in Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* 2016;27:27–39. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015040405>
7. Nakazawa D, Kumar SV, Marschner J et al. Histones

and Neutrophil Extracellular Traps Enhance Tubular Necrosis and Remote Organ Injury in Ischemic AKI. *J Am Soc Nephrol* 2017;28:1753–1768. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016080925>

8. Schönemarker U, Csernok E, Gross WL. Pathogenesis of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: Challenges and solutions 2014. *Nephrol Dial Transplant* 2015;30:i46–i52. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfu398>
9. Delgado-Rizo V, Martínez-Guzmán MA, Iñiguez-Gutiérrez L et al. Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview. *Front Immunol* 2017;8:81. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00081>
10. Clancy DM, Henry CM, Sullivan GP, Martin SJ. Neutrophil extracellular traps can serve as platforms for processing and activation of IL-1 family cytokines. *FEBS J* 2017;284:1712–1725. <https://doi.org/10.1111/febs.14075>
11. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C et al. Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2007;176:231–241. <https://doi.org/10.1083/jcb.200606027>
12. Yipp BG, Kubes P. NETosis: How vital is it? *Blood* 2013;122:2784–2794. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-457671>
13. Jorgensen I, Rayamajhi M, Miao EA. Programmed cell death as a defence against infection. *Nat Rev Immunol* 2017;17:151–164. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.147>
14. Petretto A, Bruschi M, Pratesi F et al. Neutrophil extracellular traps (NET) induced by different stimuli: A comparative proteomic analysis. *PLoS ONE* 2019;14:e0218946. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218946>
15. Leshner M, Wang S, Lewis C et al. PAD4 mediated histone hypercitullination induces heterochromatin decondensation and chromatin unfolding to form neutrophil extracellular trap-like structures. *Front Immunol* 2012;3:307. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00307>
16. Wang Y, Li M, Stadler S et al. Histone hypercitullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *J Cell Biol* 2009;184:205–213. <https://doi.org/10.1083/jcb.200806072>
17. Keshari RS, Jyoti A, Dubey M et al. Cytokines induced neutrophil extracellular traps formation: Implication for the inflammatory disease condition. *PLoS ONE* 2012;7:e48111. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048111>
18. Neeli I, Radic M. Opposition between PKC isoforms regulates histone deimination and neutrophil extracellular chromatin release. *Front Immunol* 2013;4:38. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00038>
19. Wang Y, Wang Y, Wu J et al. PRAK Is Required for the Formation of Neutrophil Extracellular Traps. *Front Immunol* 2019;4:1252. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01252>
20. Clark SR, Ma AC, Tavener SA et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med* 2007;13:463–469. <https://doi.org/10.1038/nm1565>
21. Yipp BG, Petri B, Salina D et al. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo. *Nat Med* 2012;18:1386–1393. <https://doi.org/10.1038/nm.2847>
22. Pilczek FH, Salina D, Poon KK et al. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol* 2010;185:7413–7425. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000675>
23. Itakura A, McCarty OJ. Pivotal role for the mTOR pathway in the formation of neutrophil extracellular traps via regulation of autophagy. *Am J Physiol-Cell Physiol* 2013;305:C348–C354. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00108.2013>
24. Park SY, Shrestha S, Youn YJ et al. Autophagy Primes Neutrophils for Neutrophil Extracellular Trap Formation during Sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2017;196:577–589. <https://doi.org/10.1164/rccm.201603-0596OC>
25. McInturf AM, Cody MJ, Elliott EA et al. Mammalian target of rapamycin regulates neutrophil extracellular trap formation via induction of hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Blood* 2012;120:3118–3125. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-01-405993>
26. Sawhney S, Fraser SD. Epidemiology of AKI: Utilizing Large Databases to Determine the Burden of AKI. *Adv Chronic Kidney Dis* 2017;24:194–204. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2017.05.001>

27. Ham A, Rabadi M, Kim M et al. Peptidyl arginine deiminase-4 activation exacerbates kidney ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Ren Physiol* 2014;307:F1052–F1062. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00243.2014>
28. Raup-Konsavage WM, Wang Y, Wang WW et al. Neutrophil peptidyl arginine deiminase-4 has a pivotal role in ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury. *Kidney Int* 2018;93:365–374. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.08.014>
29. Jansen MP, Emal D, Teske GJ et al. Release of extracellular DNA influences renal ischemia reperfusion injury by platelet activation and formation of neutrophil extracellular traps. *Kidney Int* 2017;91:352–364. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.08.006>
30. Ramos MV, Mejias MP, Sabbione F et al. Induction of Neutrophil Extracellular Traps in Shiga Toxin-Associated Hemolytic Uremic Syndrome. *J Innate Immun* 2016;8:400–411. <https://doi.org/10.1159/000445770>
31. Mistry P, Kaplan MJ. Cell death in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Clin Immunol* 2017;185:59–73. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2016.08.010>
32. Hakkim A, Füllrohr BG, Amann K et al. Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:9813–9818. <https://doi.org/10.1073/pnas.0909927107>
33. Lood C, Blanco LP, Purmalek MM et al. Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease. *Nat Med* 2016;22:146–153. <https://doi.org/10.1038/nm.4027>
34. Bonaventura A, Liberale L, Carbone F et al. The Pathophysiological Role of Neutrophil Extracellular Traps in Inflammatory Diseases. *Thromb Haemost* 2018;118:6–27. <https://doi.org/10.1160/TH17-09-0630>
35. Villanueva E, Yalavarthi S, Berthier CC et al. Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2011;187:538–552. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1100450>
36. Yasutomo K, Horiuchi T, Kagami S et al. Mutation of DNASE1 in people with systemic lupus erythematosus. *Nat Genet* 2001;28:313–314. <https://doi.org/10.1038/91070>
37. Guo R, Tu Y, Xie S et al. A Role for Receptor-Interacting Protein Kinase-1 in Neutrophil Extracellular Trap Formation in Patients with Systemic Lupus Erythematosus: A Preliminary Study. *Cell Physiol Biochem* 2018;45:2317–2328. <https://doi.org/10.1159/000488179>
38. Barnado A, Crofford LJ, Oates JC. At the Bedside: Neutrophil extracellular traps (NETs) as targets for biomarkers and therapies in autoimmune diseases. *J Leukoc Biol* 2016;99:265–278. <https://doi.org/10.1189/jlb.5BT0615-234R>
39. Carmona-Rivera C, Zhao W, Yalavarthi S, Kaplan MJ. Neutrophil extracellular traps induce endothelial dysfunction in systemic lupus erythematosus through the activation of matrix metalloproteinase-2. *Ann Rheum Dis* 2015;74:1417–1424. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204837>
40. Lande R, Ganguly D, Facchinetti V et al. Neutrophils activate plasmacytoid dendritic cells by releasing self-DNA-peptide complexes in systemic lupus erythematosus. *Sci Transl Med* 2011;3:73ra19. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001180>
41. Schett G, Smole J, Zimmermann C et al. The autoimmune response to chromatin antigens in systemic lupus erythematosus: Autoantibodies against histone H1 are a highly specific marker for SLE associated with increased disease activity. *Lupus* 2002;11:704–715. <https://doi.org/10.1191/0961203302lu247oa>
42. Denny MF, Yalavarthi S, Zhao W et al. A distinct subset of proinflammatory neutrophils isolated from patients with systemic lupus erythematosus induces vascular damage and synthesizes type I IFNs. *J Immunol* 2010;184:3284–3297. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0902199>
43. Lindau D, Mussard J, Rabsteyn A et al. TLR9 independent interferon  $\alpha$  production by neutrophils on NETosis in response to circulating chromatin, a key lupus autoantigen. *Annals of the rheumatic diseases* 2014;73:12:2199–2207. <http://dx.doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-203041>
44. Simon D, Simon HU, Yousefi S. Extracellular DNA traps in allergic, infectious, and autoimmune diseases. *Allergy* 2013;68:409–416. <https://doi.org/10.1111/all.12111>
45. Frangou E, Chrysanthopoulou A, Mitsios A et al. REDD1/autophagy pathway promotes thromboinflammation and fibrosis in human systemic lupus erythematosus (SLE) through NETs decorated with tissue factor (TF) and interleukin-17A (IL-17A). *Ann Rheum Dis* 2019;78:238–248. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-213181>
46. Xiao H, Schreiber A, Heeringa P et al. Alternative complement pathway in the pathogenesis of disease mediated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Am J Pathol* 2007;170:52–64. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2007.060573>
47. Kessenbrock K, Krumbholz M, Schönermarck U et al. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat Med* 2009;15:623–625. <https://doi.org/10.1038/nm.1959>
48. Söderberg D, Kurz T, Motamedi A et al. Increased levels of neutrophil extracellular trap remnants in the circulation of patients with small vessel vasculitis, but an inverse correlation to anti-neutrophil cytoplasmic antibodies during remission. *Rheumatology (Oxford)* 2015;54:2085–2094. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kev217>
49. Kallenberg CG. Pathogenesis of ANCA-associated vasculitides. *Ann Rheum Dis* 2011;70(Suppl. 1):i59–i63. <https://doi.org/10.1136/ard.2010.138024>
50. Söderberg D, Segelmark M. Neutrophil Extracellular Traps in ANCA-Associated Vasculitis. *Front Immunol* 2016;7:256. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00256>
51. Kraaij T, Kamerling SWA, van Dam LS et al. Excessive neutrophil extracellular trap formation in ANCA-associated vasculitis is independent of ANCA. *Kidney Int* 2018;94:139–149. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.01.013>
52. O'Sullivan KM, Lo CY, Summers SA et al. Renal participation of myeloperoxidase in antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated glomerulonephritis. *Kidney Int* 2015;88:1030–1046. <https://doi.org/10.1038/ki.2015.202>
53. Gadola SD, Gross WL. Vasculitis in 2011: The renaissance of granulomatous inflammation in AAV. *Nat Rev Rheumatol* 2012;8:74–76. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2011.218>
54. Yoshida M, Yamada M, Sudo Y et al. Myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic antibody affinity is associated with the formation of neutrophil extracellular traps in the kidney and vasculitis activity in myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated microscopic polyangiitis. *Nephrology (Carlton)* 2016;21:624–629. <https://doi.org/10.1111/nep.12736>
55. Nakazawa D, Shida H, Tomaru U et al. Enhanced formation and disordered regulation of NETs in myeloperoxidase-ANCA-associated microscopic polyangiitis. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:990–997. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013060606>
56. Pieterse E, Rother N, Garsen M et al. Neutrophil Extracellular Traps Drive Endothelial-to-Mesenchymal Transition. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 2017;37:1371–1379. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.309002>
57. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:15880–15885. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>
58. Kumar SV, Kulkarni OP, Mulay SR et al. Neutrophil extracellular trap-related extracellular histones cause vascular necrosis in severe GN. *J Am Soc Nephrol* 2015;26:2399–2413. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014070673>
59. Hasler P, Giaglis S, Hahn S. Neutrophil extracellular traps in health and disease. *Swiss Med Wkly* 2016;146:w14352. <https://doi.org/10.4414/sm.w.2016.14352>
60. Allam R, Darisipudi MN, Tschopp J, Anders HJ. Histones trigger sterile inflammation by activating the NLRP3 inflammasome. *Eur J Immunol* 2013;43:3336–3342. <https://doi.org/10.1002/eji.201243224>
61. Allam R, Scherbaum CR, Darisipudi MN et al. Histones from dying renal cells aggravate kidney injury via TLR2 and TLR4. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1375–1388. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011111077>
62. Xu J, Zhang X, Pelayo R et al. Extracellular histones are

major mediators of death in sepsis. *Nat Med* 2009;15:1318–1321. <https://doi.org/10.1038/nm.2053>

63. Semeraro F, Ammollo CT, Morrissey JH et al. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: Involvement of platelet TLR2 and TLR4. *Blood* 2011;118:1952–1961. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-03-343061>

64. Cruz-Solbes AS, Youker K. Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT) and Endothelial to Mesenchymal Transition (EndMT): Role and Implications in Kidney Fibrosis. *Results Probl Cell Differ* 2017;60:345–372. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-51436-9\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-51436-9_13)

65. Dejana E, Orsenigo F, Lampugnani MG. The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability. *J Cell Sci* 2008;121:2115–2122. <https://doi.org/10.1242/jcs.017897>

66. Khandpur R, Carmona-Rivera C, Vivekanandan-Giri A et al. NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med* 2013;5:178ra140. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005580>

67. Suurmond J, Diamond B. Autoantibodies in systemic autoimmune diseases: Specificity and pathogenicity. *J Clin Invest* 2015;125:2194–2202. <https://doi.org/10.1172/JCI78084>

68. Sokolove J, Zhao X, Chandra PE, Robinson WH. Immune complexes containing citrullinated fibrinogen costimulate macrophages via Toll-like receptor 4 and Fcγ receptor. *Arthritis Rheum* 2011;63:53–62. <https://doi.org/10.1002/art.30081>

69. Raghavan M, Bjorkman PJ. Fc receptors and their interactions with immunoglobulins. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1996;12:181–220. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.12.1.181>

70. Lefkowitz JB, Gilkeson GS. Nephritogenic autoantibodies in lupus: Current concepts and continuing controversies. *Arthritis Rheum* 1996;39:894–903. <https://doi.org/10.1002/art.1780390605>

71. Bijl M, Dijkstra Bloem HM, Oost WW et al. IgG subclass distribution of autoantibodies differs between renal and extrarenal relapses in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41:62–67. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/41.1.62>

72. Behnen M, Leszczyc C, Möller S et al. Immobilized immune complexes induce neutrophil extracellular trap release by human neutrophil granulocytes via FcγRIIIB and Mac-1. *J Immunol* 2014;193:1954–1965. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1400478>

73. de Bont CM, Boelens WC, Pruijn GJM. NETosis, complement, and coagulation: A triangular relationship. *Cell Mol Immunol* 2019;16:19–27. <https://doi.org/10.1038/s41423-018-0024-0>

74. Morgan BP. The membrane attack complex as an inflammatory trigger. *Immunobiology* 2016;221:747–751. doi: 10.1016/j.imbio.2015.04.006

75. Cedervall J, Dragomir A, Saupe F et al. Pharmacological targeting of peptidylarginine deiminase 4 prevents cancer-associated kidney injury in mice. *Oncoimmunology* 2017;6:e1320009. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2017.1320009>

76. Aliko A, Kamińska M, Falkowski K et al. Discovery of Novel Potential Reversible Peptidyl Arginine Deiminase Inhibitor. *Int J Mol Sci* 2019;20:2174. <https://doi.org/10.3390/ijms20092174>

77. Luo Y, Knuckley B, Lee YH et al. A fluoroacetamidine-based inactivator of protein arginine deiminase 4: Design, synthesis, and in vitro and in vivo evaluation. *J Am Chem Soc* 2006;128:1092–1093. <https://doi.org/10.1021/ja0576233>

78. Lewis HD, Liddle J, Coote JE et al. Inhibition of PAD4 activity is sufficient to disrupt mouse and human NET formation. *Nat Chem Biol* 2015;11:189–191. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1735>

79. Knight JS, Subramanian V, O'Dell AA et al. Peptidylarginine deiminase inhibition disrupts NET formation and protects against kidney, skin and vascular disease in lupus-prone MRL/lpr mice. *Ann Rheum Dis* 2015;74:2199–2206. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2014-205365>

80. Patel S, Kumar S, Jyoti A et al. Nitric oxide donors release extracellular traps from human neutrophils by augmenting free

radical generation. *Nitric Oxide* 2010;22:226–234. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2010.01.001>

81. McBride JM, Jiang J, Abbas AR et al. Safety and pharmacodynamics of rontalizumab in patients with systemic lupus erythematosus: Results of a phase I, placebo-controlled, double-blind, dose-escalation study. *Arthritis Rheum* 2012;64:3666–3676. <https://doi.org/10.1002/art.34632>

82. Wahono CS, Rusmini H, Soelistyoningsih D et al. Effects of 1,25(OH)2D3 in immune response regulation of systemic lupus erythematosus (SLE) patient with hypovitamin D. *Int J Clin Exp Med* 2014;15:22–31

83. Robinson AB, Thierry-Palmer M, Gibson KL, Rabinovich CE. Disease activity, proteinuria, and vitamin D status in children with systemic lupus erythematosus and juvenile dermatomyositis. *J Pediatr* 2012;160:297–302. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2011.08.011>

84. Karimzadeh H, Shirzadi M, Karimifar M. The effect of Vitamin D supplementation in disease activity of systemic lupus erythematosus patients with Vitamin D deficiency: A randomized clinical trial. *J Res Med Sci* 2017;22:4. <https://doi.org/10.4103/1735-1995.199089>

85. Macanovic M, Sinicropi D, Shak S et al. The treatment of systemic lupus erythematosus (SLE) in NZB/W F1 hybrid mice; studies with recombinant murine DNase and with dexamethasone. *Clin Exp Immunol* 1996;106:243–252. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.1996.d01-839.x>

86. Yeh TM, Chang HC, Liang CC et al. Deoxyribonuclease-inhibitory antibodies in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Sci* 2003;10:544–551. <https://doi.org/10.1007/BF02256116>

87. Peer V, Abu Hamad R, Berman S, Efrati S. Renoprotective Effects of DNase-I Treatment in a Rat Model of Ischemia/Reperfusion-Induced Acute Kidney Injury. *Am J Nephrol* 2016;43:195–205. <https://doi.org/10.1159/000445546>

88. Uozumi R, Iguchi R, Masuda S et al. Pharmaceutical immunoglobulins reduce neutrophil extracellular trap formation and ameliorate the development of MPO-ANCA-associated vasculitis. *Mod Rheumatol* 2019. <https://doi.org/10.1080/14397595.2019.1602292>

#### Сведения об авторах:

Проф. Айтбаев Кубаныч Авеннович, д-р мед. наук Кыргызстан, 720040, г. Бишкек, ул. Т. Молдо, д. 3. Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и медицины при Национальном центре кардиологии и терапии имени академика Мирсаида Миррахимова, руководитель отдела патологической физиологии. Член правления Общества специалистов по хронической болезни почек Кыргызстана, Тел.: (312) 66-25-13; E-mail: kaitbaev@yahoo.com. ORCID:0000-0003-4973-039X

Доц. Муркамилов Илхом Торобекович, канд. мед. наук Кыргызстан, 720020, г. Бишкек, ул. Ахунбаева, д. 92, исполняющий обязанности доцента кафедры факультетской терапии Кыргызской государственной медицинской академии имени И.К. Ахунбаева; старший преподаватель кафедры терапии №2 медицинского факультета Кыргызско-Российского славянского университета. Председатель правления Общества специалистов по хронической болезни почек Кыргызстана. Тел.: (312) 62-09-91; E-mail: murkamilov.i@mail.ru. ORCID:0000-0001-8513-9279

Чл.-кор. РАН Фомин Виктор Викторович, д-р мед. наук Россия, 119146, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, зав. каф. факультетской терапии №1 Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, проректор по клинической работе и дополнительному профессиональному образованию, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет). Тел.: 8 (499) 248-62-22. E-mail:fomin@mma.ru. ORCID:0000-0002-2682-4417



Муркамилова Жамила Абдилалимовна, заочный аспирант Кыргызстан, 720000, г. Бишкек, ул. Киевская, д. 44, кафедра терапии №2 медицинского факультета ГОУ ВПО «Кыргызско-Российский славянский университет». Тел.: (+996) 552435009. E-mail: murkamilovazh.t@mail.ru. ORCID: 0000-0002-7653-0433

Проф. Фуркат Абдулахатович Юсупов, д-р мед. наук Кыргызстан, 714000, г. Ош, ул. Ленина, д. 331, зав. каф. неврологии, нейрохирургии и психиатрии медицинского факультета Ошского государственного университета. Член правления Общества специалистов по хронической болезни почек Кыргызстана, главный невролог Южного региона Кыргызстана. Тел.: (+996) 557202071. E-mail: furcat\_y@mail.ru. ORCID: 0000-0003-0632-6653

#### About the authors:

Prof. Kubanych A. Aitbaev, MD, PhD, DMedSci. Kyrgyzstan, 720040, Bishkek, T. Moldo, Street, 3. Research Institute of Molecular Biology and Medicine at the National Center for Cardiology and Therapy named after academician Mirsaid Mirrakhimov, Head of the Department of Pathological Physiology. Member of the Board of the Society of Chronic Kidney Disease Specialists of Kyrgyzstan. Phone: (312) 66-25-13; E-mail: kaitbaev@yahoo.com. ORCID:0000-0003-4973-039X

Associate professor Ilkhom T. Murkamilov, MD, PhD, Kyrgyzstan, 720020, Bishkek, Akhunbaev Street, 92, acting associate professor of the Department of faculty therapy of Kyrgyz State Medical Academy named after I.K. Akhunbaev, Senior lecturer of Kyrgyz-Russian Slavic University. Chairman of the board of Chronic Kidney Disease specialists Society of Kyrgyzstan. Phone: (312) 62-09-91; E-mail: murkamilov.i@mail.ru. ORCID:0000-0001-8513-9279

Corresponding member of the Russian Academy of Sciences Viktor V. Fomin, MD, PhD, DMedSci, Russia, 119146, Moscow, 6 Bolshaya Pirogovskaya, Street 6. Head of the Department of Faculty Therapy No.1 of the Sklifosovsky Institute, Vice-rector in clinical work and continuous pro-

fessional education, I.M. Sechenov First Moscow State medical University (Sechenov University). Phone: +7 (499) 248-62-22. E-mail: fomin@mma.ru. ORCID:0000-0002-2682-4417

Graduate student Zhamila A. Murkamilova, Kyrgyzstan, 720000, Bishkek, Kiev, Street, 44. Department of Therapy No. 2 of the Medical Faculty, SEI HPE Kyrgyz-Russian Slavic University. Phone: (+996) 552435009. murkamilovazh.t@mail.ru. ORCID:0000-0002-7653-0433

Prof. Furkat A. Yusupov, MD, PhD, DMedSci. Kyrgyzstan, 714000, Osh, Lenin Street, 331. Head of the Department of neurology, neurosurgery and psychiatry of medicinal faculty of Osh State University. Board member of Chronic Kidney Disease specialists Society of Kyrgyzstan, Chief neurologist of Southern region of Kyrgyzstan. Phone: (+996) 557202071. E-mail: furcat\_y@mail.ru. ORCID:0000-0003-0632-6653

**Вклад авторов:** все авторы сделали одинаковый вклад в подготовку публикации. Айтбаев К.А. – редактирование; Муркамилов И.Т. – интерпретация и критический анализ результатов, формулировка выводов; Фомин В.В. – разработка концепции и дизайна; Муркамилова Ж.А. – сбор и анализ литературных данных; Юсупов Ф. А. – сбор и анализ литературных данных  
**Contribution of the authors:** Aitbaev K.A. – Editing; Murkamilov I.T. – interpretation and critical analysis of the results, formulation of conclusions; Fomin V.V. – concept and design development; Murkamilova Zh.A. – collection and analysis of literature data; Yusupov F.A. – collection and analysis of literature data.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**  
**The authors declare that there is no conflict of interest.**

Статья поступила в редакцию 09.08.2021;  
одобрена после рецензирования 01.12.2021;  
принята к публикации 20.10.2023.  
The article was submitted 09.08.2021;  
approved after reviewing 01.12.2021;  
accepted for publication 20.10.2023.