

Роль нейтрофилов в патогенезе болезни Бехчета

Нурбаева К.С.^{1,2}, Лисицына Т.А.¹, Ли́ла А.М.^{1,2}, Решетняк Т.М.^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой», Москва;

²кафедра ревматологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

¹Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 34А; ²Россия, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Болезнь Бехчета (ББ) – системный васкулит неизвестной этиологии, характеризующийся поражением сосудов любого типа и калибра, проявляющийся рецидивами язвенного процесса в ротовой полости и на гениталиях, поражением глаз, суставов, желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы и других органов. Патогенез заболевания сложен. Отмечается вклад как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа. Особенностью ББ является гиперактивация нейтрофилов и нейтрофильная инфильтрация пораженных тканей.

В обзоре представлены данные исследований, связанных с оценкой основных функций нейтрофилов при данном заболевании.

Ключевые слова: болезнь Бехчета; нейтрофилы; нейтрофильные внеклеточные ловушки.

Контакты: Камилла Сериковна Нурбаева; camila9@mail.ru

Для ссылки: Нурбаева КС, Лисицына ТА, Ли́ла АМ, Решетняк ТМ. Роль нейтрофилов в патогенезе болезни Бехчета. Современная ревматология. 2022;16(4):74–79. DOI: 10.14412/1996-7012-2022-4-74-79

The role of neutrophils in the pathogenesis of Behcet's disease

Nurbaeva K.S.^{1,2}, Lisitsyna T.A.¹, Lila A.M.^{1,2}, Reshetnyak T.M.^{1,2}

¹V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow; ²Department of Rheumatology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow

¹34A, Kashirskoe shosse, Moscow 115522, Russia; ²2/1, Barrikadnaya street, building 1, Moscow 125993, Russia

Behcet's disease (BD) is a systemic vasculitis of unknown etiology, characterized by damage of vessels of any type and caliber, manifested by recurrent ulcerative process in the oral cavity and genital organs, eye damage, joints, gastrointestinal tract, central nervous system and other organs involvement. The pathogenesis of the disease is complex. The contribution of both innate and adaptive immune responses is noted. A feature of BD is hyperactivation of neutrophils and neutrophilic infiltration of affected tissues.

The review presents data from studies related to the assessment of the main functions of neutrophils in this disease.

Keywords: Behcet's disease; neutrophils; neutrophil extracellular traps.

Contact: Kamila Serikovna Nurbaeva; camila9@mail.ru

For reference: Nurbaeva KS, Lisitsyna TA, Lila AM, Reshetnyak T.M. The role of neutrophils in the pathogenesis of Behcet's disease. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2022;16(4):74–79. DOI: 10.14412/1996-7012-2022-4-74-79

Болезнь Бехчета (ББ) – системный васкулит неизвестной этиологии, характеризующийся поражением сосудов любого типа и калибра, проявляющийся рецидивами язвенного процесса в ротовой полости и на гениталиях, поражением глаз, суставов, желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), центральной нервной системы (ЦНС) и других органов [1]. Заболевание имеет мультифакторную природу. О генетической предрасположенности к развитию ББ свидетельствуют семейная агрегация, специфическая географическая распространенность, частое носительство генов HLA-B51, HLA-A26 и полиморфизм ряда других генов [2]. К факторам внешней среды, провоцирующим развитие ББ, в первую очередь относят инфекционные агенты (стрептококки, вирус простого герпеса, золотистый стафилококк, микобактерии туберкулеза), а также нарушение естественной микробиоты кишечника [3].

Механизм развития ББ недостаточно изучен. Известно, что у генетически предрасположенных лиц под действием внешних факторов развивается дисбаланс иммунорегуля-

торных механизмов. Избыточная активация нейтрофилов – клеток врожденного иммунитета – играет ведущую роль в развитии ББ [4]. Считается, что периваскулярная инфильтрация нейтрофилами *vasa vasorum* пораженных тканей является основной причиной возникновения клинических проявлений заболевания – от афтозного стоматита до поражения ЦНС [5]. Однако имеющиеся данные об изменении функций нейтрофилов при данной патологии противоречивы. В обзоре представлены результаты исследований, связанных с оценкой основных функций нейтрофилов при ББ.

Нейтрофилы и их функции

Нейтрофилы – полиморфноядерные клетки, которые составляют большую часть циркулирующих в крови лейкоцитов. Ежедневно в костном мозге из миелоидных клеток-предшественников продуцируется около 10^{11} нейтрофилов. При отсутствии воспаления в кровь поступает не более 1–2% нейтрофилов. Ранее считалось, что продолжительность жизни нейтрофилов – не более нескольких часов. Однако

позже было показано, что при воспалении нейтрофилы могут циркулировать в крови более 5 дней, а в тканях – до нескольких недель. Это открытие позволило пересмотреть роль нейтрофилов не только как клеток первой линии защиты от патогенов в острой фазе воспаления, но и как непосредственных участников развития и поддержания хронического воспаления [6]. Активация нейтрофилов – это процесс их морфологических и функциональных изменений под действием внешних факторов [7]. Основные функции активированных нейтрофилов – способность к миграции, хемотаксису, фагоцитозу, дыхательному взрыву, дегрануляции и высвобождению нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) [6]. При ББ отмечается изменение практически всех функций нейтрофила.

Миграция и хемотаксис нейтрофилов при ББ. В ответ на воспалительные стимулы происходит быстрая миграция нейтрофилов из кровеносного русла в очаг воспаления, которая включает несколько этапов: установление слабой связи с эндотелиоцитами, «качание», или «скольжение», по поверхности эндотелия сосудов, прочное прикрепление к эндотелию и проникновение в ткани через межэндотелиальные щели [8].

Адгезия нейтрофила – ключевой этап миграции. Имеющиеся данные об этой способности нейтрофилов при ББ противоречивы. Так, S. Sahin и соавт. [9] показали, что сыворотка больных ББ индуцировала увеличение поверхностной экспрессии CD11a и CD18 на нейтрофилах здоровых доноров, а также молекул межклеточной адгезии 1-го типа (ICAM1). Было отмечено, что в крови пациентов с ББ уровень CD11a-позитивных нейтрофилов выше, а их прикрепление к эндотелию сосудов после предварительной обработки провоспалительными агентами значительно сильнее, чем у здоровых лиц. G. Triolo и соавт. [10] было установлено, что сыворотка больных ББ при наличии активных клинических проявлений, или антиэндотелиальных антител, или высокого уровня миелопероксидазы (МПО) значимо больше стимулирует экспрессию E-селектина – гликопротеина, относящегося к классу молекул клеточной адгезии, – на эндотелиальных клетках *in vitro* по сравнению с контролем. При этом другие исследователи [11] не выявили значимых различий между адгезивной способностью нейтрофилов у пациентов с ББ и здоровых доноров.

Данные о способности нейтрофилов к спонтанной и стимулированной миграции при ББ также различаются. В работе J.D. Sobel и соавт. [12] было обнаружено, что у пациентов с ББ, в отличие от контроля, имелось снижение спонтанной миграции изолированных полиморфноядерных лейкоцитов. Однако при добавлении к лейкоцитам больных липополисахарида (ЛПС) их хемотаксис значимо увеличивался. Схожая картина наблюдалась при добавлении сыворотки крови больных к лейкоцитам здоровых доноров в отсутствие внешнего хемоаттрактанта. Полученные результаты позволили заключить, что в сыворотке больных ББ имеются хемотаксические факторы. В свою очередь, F.S. Neves и соавт. [13] продемонстрировали, что при стимуляции липотейхоевой кислотой хемотаксис изолированных нейтрофилов здоровых добровольцев и больных ББ статистически значимо не различался. В то же время, как и в предыдущей работе, предварительная инкубация нейтрофилов больных и здоровых доноров с плазмой пациентов с ББ приводила к статистически значимому усилению хемотаксиса по сравнению с добавлением плазмы лиц контрольной группы. Сти-

мулированная миграция нейтрофилов после предварительной инкубации также была более выражена при ББ. Влияние воспалительной активности заболевания на миграцию нейтрофилов отметили A. Carletto и соавт. [11], которые показали, что *in vivo* у пациентов с клинически активной ББ нейтрофилы обладали повышенной склонностью к миграции по сравнению с таковой у здоровых доноров или пациентов без активных проявлений заболевания. При достижении ремиссии ББ миграция нейтрофилов снижалась и не отличалась от показателей здоровых лиц.

Фагоцитоз при ББ. Фагоцитоз – процесс поглощения и уничтожения патогена фагоцитами. Только в одном исследовании продемонстрировано, что у пациентов с ББ отмечается более низкая фагоцитарная активность нейтрофилов по сравнению со здоровыми лицами контрольной группы [14]. Во всех остальных работах было показано, что фагоцитарная активность нейтрофилов у больных ББ и здоровых лиц не различалась. Активность заболевания также не влияла на выраженность фагоцитоза нейтрофилов [15–17].

Дыхательный взрыв при ББ. Бактерицидная активность – одна из важнейших функций нейтрофилов. Высвобождение активных форм кислорода (АФК) в процессе дыхательного взрыва является одним из факторов, определяющих их бактерицидность. Имеются противоречивые данные о продукции нейтрофилами АФК при ББ. Так, в исследовании J.D. Sobel и соавт. [12] отмечено, что в ответ на стимуляцию ЛПС лейкоциты больных в меньшей степени поглощают кислород и образуют АФК, чем лейкоциты группы контроля. В одной из последних работ, связанных с оценкой продукции АФК, было выявлено, что после стимуляции *E. coli* нейтрофилы пациентов с ББ продуцируют меньше АФК в отличие от нейтрофилов здоровых лиц (контроль) [14]. Похожие результаты были получены турецкими исследователями [15], которые показали, что в ответ на стимуляцию форбол-миристал-ацетатом (Phorbol myristate acetate, PMA) и N-формилметионил-лейцил-фенилаланином (N-formylmethionyl-leucyl-phenylalanine, FMLP) нейтрофилы больных ББ выделяют меньше АФК, как и нейтрофилы пациентов с сепсисом и некоторыми ревматическими заболеваниями. Авторы заключили, что преактивация нейтрофилов *in vivo* при ББ приводит к снижению их бактерицидной активности *in vitro*. У пациентов с тяжелыми проявлениями ББ (поражение глаз, ЦНС или крупных сосудов) дыхательный взрыв, стимулированный PMA, был значимо меньше, чем у пациентов со слизисто-кожными проявлениями, здоровых добровольцев и больных с другими воспалительными заболеваниями [16]. Эти данные позволили сделать вывод, что предварительная активация и «истощение» нейтрофилов на фоне воспаления, особенно выраженного при тяжелом течении ББ, является возможной причиной сниженного ответа нейтрофильных гранулоцитов на стимуляцию хемоаттрактантами.

В то же время имеются работы, демонстрирующие повышенную способность нейтрофилов к образованию АФК при ББ. Так, японские исследователи [18] показали, что нейтрофилы пациентов с ББ, стимулированные FMLP, продуцируют большее количество супероксид-анион-радикала по сравнению с контролем. Интересно, что в ответ на стимуляцию FMLP у пациентов с ББ и здоровых носителей HLA-B51-антигена отмечалось повышенное образование АФК по сравнению с HLA-B51-негативными лицами. Стимуляция FMLP нейтрофилов HLA-B51-трансгенных мышей

также усиливала продукцию свободных радикалов по сравнению с HLA-B35-трансгенными мышами.

После стимуляции хемоаттрактантами нейтрофилы пациентов с ББ выделяют больше супероксид-анион-радикалов, чем нейтрофилы в контрольной группе [19]. При этом стимуляция нейтрофилов здоровых доноров сывороткой крови больных ББ также вызывала значимо большую продукцию супероксид-анион-радикалов по сравнению с сывороткой лиц контрольной группы. Было предположено, что в сыворотке больных ББ содержатся факторы, способствующие образованию АФК нейтрофилами. Стоит отметить, что наибольший уровень супероксид-анион-радикалов определялся при поражении ЦНС. У больных ББ, помимо повышенной выработки АФК нейтрофилами, наблюдается высокая активность фермента NADPH-оксидазы, катализирующего этот процесс. Кроме того, под действием АФК происходит карбонилирование фибриногена, что вызывает его устойчивость к плазмин-индуцированному лизису и, соответственно, к антикоагулянтной терапии [20]. Установлено, что при ББ нестимулированные и стимулированные РМА нейтрофилы продуцируют больше АФК, чем в контроле [21].

В свою очередь, в ряде работ значимых различий между стимулированной и свободной продукцией супероксид-анион-радикалов [11], а также выраженностью дыхательного взрыва до и после стимуляции РМА у пациентов с ББ и здоровых добровольцев не обнаружено. Однако при ББ нейтрофилы пациентов с тяжелыми органическими нарушениями характеризовались значительно большей выраженностью свободного и стимулированного дыхательного взрыва по сравнению с нейтрофилами больных со слизисто-кожными симптомами.

Дегрануляция нейтрофилов при ББ. Нейтрофилы являются зернистыми лейкоцитами, в цитоплазме которых присутствуют специфические гранулы – первичные (азурофильные), вторичные (специфические), третичные (желатиновые) – и секреторные везикулы. В первичных гранулах содержатся МПО, нейтрофильная эластаза, нейтрофильная сериновая протеаза, протеиназа 3, катепсин G, дефензины, кислая фосфатаза и коллагеназы; во вторичных гранулах – лизоцим, кальпротектин, лактоферрин, липокалин, кателицидин и матриксные металлопротеиназы (ММП); в третичных гранулах – ММП и лактоферрин; в секреторных везикулах – альбумин и рецепторы комплемента [22]. После активации нейтрофила происходит миграция гранул к фагосоме или клеточной мембране. Дегрануляция – процесс слияния и последующего выделения содержимого гранул в межклеточное пространство или фагосому. Высвобождающиеся компоненты гранул нейтрофилов обладают бактерицидной активностью, но также могут повреждать окружающие ткани [23]. При ББ изучалась способность нейтрофилов как к системной, так и к локальной дегрануляции.

О. Dege и соавт. [24] обнаружили, что уровень нейтрофильной эластазы был значимо выше у пациентов с ББ по сравнению со здоровыми донорами, а ее более высокий уровень ассоциировался с большей активностью заболевания. При этом прогностическим значением обладал уровень нейтрофильной эластазы 80 мг/л. Т. Novak и соавт. [25] показали, что в слюне больных ББ с активным афтозным стоматитом отмечались избыточное выделение нейтрофильной эластазы и снижение активности секреторного ингибитора протеиназы лейкоцитов (secretory leucocyte protease

inhibitor, SLPI). Комбинированная терапия колхицином и азатиоприном приводила к значительному снижению уровня нейтрофильной эластазы у этих пациентов.

Было выявлено, что при ББ уровень МПО в плазме крови существенно выше, чем у здоровых лиц [26]. Помимо этого, нейтрофилы больных с высокой активностью заболевания высвобождали большее количество МПО *in vitro*, чем нейтрофилы пациентов без клинических проявлений или здоровых добровольцев. Добавление фактора некроза опухоли α (ФНО α) к нейтрофилам пациентов с ББ не усиливало продукцию МПО, в отличие от нейтрофилов здоровых лиц, у которых наблюдалось статистически значимое повышение ее уровня. Авторы предположили, что нейтрофилы больных были предварительно активированы *in vivo* и дальнейшая стимуляция не приводила к высвобождению МПО [26]. Получены данные, подтверждающие, что активность фермента МПО в плазме крови статистически значимо выше при ББ, чем в контроле [27].

Выявлено, что в слюне пациентов с ББ, особенно при тяжелом течении заболевания, уровень α -дефензинов 1–3 (человеческие нейтрофильные пептиды 1–3) – маркеров активации нейтрофилов – был значимо выше по сравнению с таковым у здоровых лиц [28]. Концентрация α -дефензинов коррелировала с уровнем кателицидина (LL-37) в слюне. Помимо слюны, высокий уровень α -дефензинов 1–3 обнаружен в сыворотке крови пациентов с ББ, и он также коррелировал с активностью и тяжестью заболевания [29].

Кателицидин (LL-37) – антимикробный пептид, который содержится в том числе во вторичных гранулах нейтрофилов. По данным M.Z. Sakir и соавт. [30], различий в уровне сывороточного кателицидина у больных ББ и здоровых доноров не выявлено, также не отмечено взаимосвязи с СОЭ, содержанием СРБ и активностью заболевания по индексу BDCAF (Behçet's Disease Current Activity Form). Результаты работы G. Mumcu и соавт. [28] показали, что уровень LL-37 в слюне пациентов с ББ и в контроле был сопоставим. При этом уровень данного пептида ассоциировался с тяжестью ББ и уровнем α -дефензинов в слюне и числом афт в ротовой полости.

Кальпротектин – один из маркеров активации нейтрофилов и системного воспаления. Кальпротектин способствует синтезу провоспалительных цитокинов, участвует в повреждении эндотелия и повышает его тромбогенный потенциал [31]. Повышение уровня сывороточного кальпротектина у больных ББ по сравнению с таковым у здоровых добровольцев отмечено в ряде работ [32–35]. В исследованиях P. Oktayoglu и соавт. [32] и А. Omma и соавт. [33] не выявлено связи между содержанием сывороточного кальпротектина, острофазовыми показателями воспаления и активностью заболевания по BDCAF. Также не установлено различий между концентрацией сывороточного кальпротектина у больных ББ с активной кишечной симптоматикой и у пациентов, находящихся в состоянии ремиссии, но при этом уровень сывороточного кальпротектина коррелировал с количеством язв кишечника [34]. Согласно данным А. Karadag и Н. Dogan [35], содержание кальпротектина 212,3 пг/мл обладало прогностическим значением для диагностики ББ.

Повышение уровня кальпротектина отмечено в слюне пациентов с ББ [28], однако это характерно и для больных с идиопатическим хроническим рецидивирующим афтозным стоматитом [36].

Фекальный кальпротектин, высвобождающийся из нейтрофилов в процессе их дегрануляции, является маркером кишечного воспаления. В. Özseker и соавт. [37] показали, что у пациентов с ББ, независимо от вовлеченности кишечника, определяется более высокий уровень фекального кальпротектина, чем у здоровых доноров, который положительно коррелирует с показателями СРБ и СОЭ. В группе пациентов с поражением кишечника концентрация кальпротектина была значимо выше. Пороговое значение фекального кальпротектина 49,5 мг/г с чувствительностью 83,3% и специфичностью 69% указывало на воспаление кишечника при ББ. Сходные результаты были получены С. Simsek и соавт. [38], которые установили, что при ББ уровень фекального кальпротектина был в 6 раз выше, чем в контроле (здоровые лица), и значимо выше в случае поражения кишечника, но, в отличие от предыдущей работы, взаимосвязи уровня фекального кальпротектина с показателями ВДСАФ, СОЭ и СРБ не выявлено.

Также было продемонстрировано, что более высокая концентрация фекального кальпротектина ассоциировалась с наличием типичных для ББ язв по сравнению с пациентами с атипичным язвенным процессом. Отмечена положительная связь между концентрацией фекального кальпротектина и индексом активности кишечного воспаления при ББ (Disease Activity index for Intestinal Behcet's Disease, DAIBD) и уровнем СРБ [34, 39].

ММР9 и ММР2 являются одними из компонентов гранул нейтрофилов и ключевыми ферментами в деградации внеклеточного матрикса и базальной мембраны. Кроме того, ММР9 участвует в развитии гиперплазии интимы и неоглиогенезе. Известна роль ММР9 в формировании аневризм при ББ [40]. ММР9 и ММР2 были исследованы у пациентов с ББ, в том числе при наличии сосудистых нарушений [40–42]. По сравнению со здоровыми лицами (контроль) при ББ отмечалось повышение уровня ММР9, но не ММР2 [41]. Уровень ММР9 прямо коррелировал с активностью заболевания, а показатели ММР9 и ММР2 были значимо выше у пациентов с наличием аневризм по сравнению с больными со слизисто-кожными проявлениями или поражением глаз, а также с периферическими сосудистыми нарушениями, вовлечением ЦНС и высокой активностью ББ. В свою очередь, Y. Aksoy и соавт. [42] не обнаружили различий в экспрессии ММР9 и ее уровней между пациентами с ББ, в том числе с сосудистыми проявлениями, и группой сравнения, включавшей больных с аневризмой аорты без ББ. Известно также, что содержимое гранул нейтрофилов принимает участие в формировании НВЛ [43].

НВЛ при ББ. Интерес к изучению роли нейтрофилов при ББ возобновился после открытия НВЛ (neutrophil extracellular traps, NETs). Нетоз – процесс, при котором активированными нейтрофилами во внеклеточном пространстве формируются сетеподобные структуры, состоящие из конденсированного хроматина, цитруллинированных гистонов и гранулярных белков – нейтрофильной эластазы, МПО, кальпротектина и др. НВЛ участвуют в избыточном воспалении и тромбообразовании [44]. S.F. Perazzio и соавт. [45] первыми показали, что при ББ изолированные нейтрофилы больше склонны к спонтанному нетозу, чем нейтрофилы здоровых лиц. Спонтанный нетоз не ассоциировался с активностью заболевания, а стимулированный РМА значимо не различался у пациентов с ББ и здоровых добровольцев.

В свою очередь, плазма пациентов с активным заболеванием больше стимулировала нейтрофилы к высвобождению НВЛ, чем плазма здоровых доноров или больных, находящихся в ремиссии.

Похожие результаты были получены и в других работах [46]. Также было показано, что у пациентов с ББ экспрессия гена, кодирующего фермент пептидиларгининдеаминазу 4 (Peptidylarginine deiminase 4, PAD4), который конвертирует положительно заряженный аргинин гистонов в нейтрально заряженный цитруллин, изменяя тем самым общий заряд молекул и способствуя диссоциации гистонов и ДНК, значимо выше, чем у здоровых добровольцев. Высвобождение НВЛ нейтрофилами ингибировалось дексаметазоном, колхицином, N-ацетилцистеином (ингибитор продукции АФК) и специфическим ингибитором PAD4 – хлорамидином. При стимуляции нейтрофилов здоровых лиц сывороткой крови больных ББ значительно увеличивались высвобождение НВЛ и экспрессия PAD4. НВЛ индуцировали повреждение и апоптоз эндотелиальных клеток. При гистологическом исследовании биоптатов кожи, подкожной клетчатки, слизистых оболочек и сосудов пациентов с ББ отмечалось повышенное содержание нейтрофильной эластазы и цитруллинированного гистона H3. Особенно выраженная инфильтрация нейтрофилами, меченными эластазой и цитруллинированным гистоном, обнаруживалась в очагах сосудистого воспаления.

Уровень маркеров нетоза – свободно циркулирующей ДНК (сцДНК) и комплекса МПО-ДНК – значительно повышен у пациентов с ББ по сравнению со здоровым контролем [47]. Была выявлена разница между выраженностью нетоза у больных с высокой активностью заболевания и без таковой. Например, уровень сцДНК и комплекса МПО-ДНК у пациентов с активной ББ был значительно выше, чем у пациентов в состоянии ремиссии. Интересными представляются данные о высоком уровне маркеров нетоза у больных с сосудистыми проявлениями по сравнению с пациентами без тромбозов или окклюзии сосудов. При гистологическом исследовании аорты у пациентов с ББ и псевдоаневризмой НВЛ обнаруживались в участках нейтрофильной инфильтрации и васкулита.

Нейтрофилы низкой плотности (low density neutrophils, LDN) – субпопуляция нейтрофилов, которые обладают повышенной способностью к спонтанному нетозу и синтезу провоспалительных цитокинов по сравнению с нейтрофилами нормальной плотности. J. Chen и соавт. [48] показали, что у пациентов с активной ББ (ВДСАФ ≥ 2) выявляется более высокий уровень LDN по сравнению с больными, у которых достигнута ремиссия, и здоровыми лицами контрольной группы. Помимо этого, уровень LDN был значимо выше у пациентов с сосудистыми нарушениями по сравнению с больными без периферической сосудистой патологии.

Повышенный уровень LDN и усиленный нетоз при ББ отметили M. Muga и соавт. [14]. Они показали, что спонтанное и стимулированное РМА высвобождение маркера нетоза – сцДНК – нейтрофилами было выше при ББ, как и высокие уровни LDN и более низкие уровни нейтрофилов нормальной плотности по сравнению со здоровыми лицами. Спонтанное и стимулированное РМА и *E. coli* высвобождение сцДНК как LDN, так и нейтрофилами нормальной плотности у больных ББ было значительно выше, чем у здоровых лиц. Однако фагоцитарная активность LDN и синтез ими АФК

были низкими, что также характерно и для других воспалительных заболеваний.

В исследовании L. Li и соавт. [21] было установлено, что при ББ нейтрофилы высвобождали больше НВЛ и двуспиральной ДНК (дсДНК, маркер нетоза) по сравнению с контролем. Уровень дсДНК положительно коррелировал с содержанием СРБ. Нестимулированные и стимулированные РМА-нейтрофилы пациентов продуцировали значительно больше дсДНК, чем нейтрофилы здоровых лиц. О провоспалительной активности НВЛ при ББ свидетельствует активация синтеза провоспалительных цитокинов и интерферона γ макрофагами, что способствует дифференцировке наивных Т-клеток в Т-хелперы 1-го типа. Изучение белкового состава НВЛ при ББ показало, что они содержат большое количество гистона H4, сывороточный

уровень которого значительно повышен у таких больных. Нейтрализация гистона H4 подавляла НВЛ-индуцированный синтез интерлейкина 8 макрофагами, но не ФНО α .

З а к л ю ч е н и е

Нейтрофильные гранулоциты являются одними из ключевых клеток в развитии ББ. Имеющиеся противоречивые данные об изменении функции нейтрофилов можно объяснить различиями в методологии проводимых исследований, изучаемой популяции (разные этническая принадлежность, клинические проявления, тяжесть заболевания и др.), подходах к определению активности ББ. Роль гиперактивации нейтрофильного звена в патогенезе заболевания несомненна, но она требует дальнейшего изучения.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Лисицына ТА, Алекберова ЗС, Голоева РГ, Давыдова ГА. Болезнь Бехчета: клинические проявления, современные принципы диагностики и терапии. Научно-практическая ревматология. 2019;57(5):553-63. [Lisitsyna TA, Alekberova ZS, Goloeva RG, Davydova GA. Behcet's disease: clinical manifestations, modern principles of diagnosis and therapy. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2019;57(5):553-63. (In Russ.)].
- Gül A. Pathogenesis of Behcet's disease: autoinflammatory features and beyond. *Semin Immunopathol*. 2015 Jul;37(4):413-8. doi: 10.1007/s00281-015-0502-8. Epub 2015 Jun 12.
- Perazzio SF, Andrade LEC, de Souza AWS. Understanding Behcet's Disease in the Context of Innate Immunity Activation. *Front Immunol*. 2020 Oct 20;11:586558. doi: 10.3389/fimmu.2020.586558. eCollection 2020.
- Cho S, Kim J, Cho SB, et al. Immunopathogenic characterization of cutaneous inflammation in Behcet's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014 Jan;28(1):51-7. doi: 10.1111/jdv.12054. Epub 2012 Dec 6.
- Neves FS, Spiller F. Possible mechanisms of neutrophil activation in Behcet's disease. *Int Immunopharmacol*. 2013 Dec;17(4):1206-10. doi: 10.1016/j.intimp.2013.07.017. Epub 2013 Aug 23.
- Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:181-218. doi: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023. Epub 2013 Sep 16.
- Vogt KL, Summers C, Chilvers ER, Condliffe AM. Priming and de-priming of neutrophil responses in vitro and in vivo. *Eur J Clin Invest*. 2018 Nov;48 Suppl 2:e12967. doi: 10.1111/eci.12967. Epub 2018 Jul 5.
- Никитина МЮ, Пономарева АА, Дамьянова АГ и др. Жизнеспособность, ультраструктура и миграционная активность нейтрофилов после фагоцитоза синтетических микрокапсул. Цитология. 2020;(2):129-40. [Nikitina MYu, Ponomareva AA, Daminova AG, et al. Viability, ultrastructure and migration activity of neutrophils after phagocytosis of synthetic microcapsules. *Tsitologiya*. 2020;(2):129-40. (In Russ.)].
- Sahin S, Akoglu T, Direskeneli H, et al. Neutrophil adhesion to endothelial cells and factors affecting adhesion in patients with Behcet's disease. *Ann Rheum Dis*. 1996 Feb;55(2):128-33. doi: 10.1136/ard.55.2.128.
- Triolo G, Accardo-Palumbo A, Triolo G, et al. Enhancement of endothelial cell E-selectin expression by sera from patients with active Behcet's disease: moderate correlation with anti-endothelial cell antibodies and serum myeloperoxidase levels. *Clin Immunol*. 1999 Jun;91(3):330-7. doi: 10.1006/clim.1999.4687.
- Carletto A, Pacor ML, Biasi D, et al. Changes of neutrophil migration without modification of in vitro metabolism and adhesion in Behcet's disease. *J Rheumatol*. 1997 Jul;24(7):1332-6.
- Sobel JD, Haim S, Obedeau N, et al. Polymorphonuclear leucocyte function in Behcet's disease. *J Clin Pathol*. 1977 Mar;30(3):250-3. doi: 10.1136/jcp.30.3.250.
- Neves FS, Carrasco S, Goldenstein-Schainberg C, et al. Neutrophil hyperchemotaxis in Behcet's disease: a possible role for monocytes orchestrating bacterial-induced innate immune responses. *Clin Rheumatol*. 2009 Dec;28(12):1403-10. doi: 10.1007/s10067-009-1261-5. Epub 2009 Aug 25.
- Murad M, Low L, Davidson M, et al. Low density neutrophils are increased in patients with Behcet's disease but do not explain differences in neutrophil function. *J Inflamm (Lond)*. 2022 Mar 31;19(1):5. doi: 10.1186/s12950-022-00302-1.
- Eksioglu-Demiralp E, Direskeneli H, Kibaroglu A, et al. Neutrophil activation in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. Sep-Oct 2001;19(5 Suppl 24):S19-24.
- Atalay G, Eksioglu-Demiralp E, Akoglu T, Direskeneli H. The effects of nitric oxide donors and inhibitors on neutrophil functions in Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. Jul-Aug 2002;20(4 Suppl 26):S17-20.
- Perazzio SF, Soeiro-Pereira PV, de Souza AW, et al. Behcet's disease heterogeneity: cytokine production and oxidative burst of phagocytes are altered in patients with severe manifestations. *Clin Exp Rheumatol*. Nov-Dec 2015;33(6 Suppl 94):S85-95. Epub 2015 Sep 22.
- Takeo M, Kariyone A, Yamashita N, et al. Excessive function of peripheral blood neutrophils from patients with Behcet's disease and from HLA-B51 transgenic mice. *Arthritis Rheum*. 1995 Mar;38(3):426-33. doi: 10.1002/art.1780380321.
- Yoshida T, Tanaka M, Sotomatsu A, et al. Serum of Behcet's disease enhances superoxide production of normal neutrophils. *Free Radic Res*. 1998 Jan;28(1):39-44. doi: 10.3109/10715769809097874.
- Becatti M, Emmi G, Silvestri E, et al. Neutrophil Activation Promotes Fibrinogen Oxidation and Thrombus Formation in Behcet Disease. *Circulation*. 2016 Jan 19;133(3):302-11. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017738. Epub 2015 Nov 19.
- Li L, Yu X, Liu J, et al. Neutrophil Extracellular Traps Promote Aberrant Macrophage Activation in Behcet's Disease. *Front Immunol*. 2021 Feb 5;11:590622. doi: 10.3389/fimmu.2020.590622. eCollection 2020.
- Sheshachalam A, Srivastava N, Mitchell T, et al. Granule protein processing and regulated secretion in neutrophils. *Front Immunol*. 2014 Sep 19;5:448. doi: 10.3389/fimmu.2014.00448. eCollection 2014.
- Gierlikowska B, Stachura A, Gierlikowski W, Demkow U. Phagocytosis, Degranulation and Extracellular Traps Release by Neutrophils-The Current Knowledge, Pharmacological Modulation and Future Prospects. *Front Pharmacol*. 2021 May 4;12:666732. doi: 10.3389/fphar.2021.666732. eCollection 2021.
- Deger O, Orem A, Akyol N, et al. Polymorphonuclear leukocyte elastase levels in patients with Behcet's disease. *Clin Chim Acta*. 1995 May 15;236(2):129-34. doi: 10.1016/0009-8981(95)06033-a.
- Novak T, Fortune F, Bergmeier L, et al.

- Neutrophil elastase and endogenous inhibitors in Behcet's disease saliva. *Clin Exp Immunol.* 2020 Oct;202(1):93-105. doi: 10.1111/cei.13483. Epub 2020 Jul 29.
26. Accardo-Palumbo A, Triolo G, Carbone MC, et al. Polymorphonuclear leukocyte myeloperoxidase levels in patients with Behcet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* Jul-Aug 2000;18(4):495-8.
27. Köse K, Dogan P, Ascioğlu M, et al. Oxidative stress and antioxidant defenses in plasma of patients with Behcet's disease. *Tohoku J Exp Med.* 1995 Aug;176(4):239-48. doi: 10.1620/tjem.176.239.
28. Mumcu G, Cimilli H, Karacaylı U, et al. Salivary levels of antimicrobial peptides Hnp 1-3, LI-37 and S100 in Behcet's disease. *Arch Oral Biol.* 2012 Jun;57(6):642-6. doi: 10.1016/j.archoralbio.2011.11.003. Epub 2011 Dec 5.
29. Shaat RM, Meadawy S, Rizk EM, et al. The significance of α -defensins 1-3 in Behcet's disease: A case-control study among Egyptian patients. *Egypt Rheumatol Rehabil.* 2020;47:1-8. doi: 10.1186/s43166-020-00026-1
30. Cakir MZ, Oktayoglu P, Mete N, et al. AB0576 Serum cathelicidin (ll 37) levels in patients with Behcet's disease and its association with disease activity. *Annals of the Rheumatic Diseases.* 2019;78:1749
31. Bayrakci N, Ozkan G, Kara SP, et al. Serum Calprotectin Level as an Inflammatory Marker in Newly Diagnosed Hypertensive Patients. *Int J Hypertens.* 2022 Jan 21;2022:6912502. doi: 10.1155/2022/6912502. eCollection 2022.
32. Oktayoglu P, Mete N, Caglayan M, et al. Elevated serum levels of calprotectin (MRP8/MRP14) in patients with Behcet's disease and its association with disease activity and quality of life. *Scand J Clin Lab Invest.* 2015 Apr;75(2):106-12. doi: 10.3109/00365513.2014.984319. Epub 2014 Dec 4.
33. Omma A, Sandikci SC, Colak S, et al. Serum calprotectin and ischemia modified albumin levels as markers of disease activity in Behcet's disease. *Postepy Dermatol Alergol.* 2018 Dec;35(6):609-13. doi: 10.5114/pdia.2017.71269. Epub 2018 Nov 13.
34. Esatoglu SN, Hatemi I, Ozguler Y, et al. Faecal but not serum calprotectin levels look promising in predicting active disease in Behcet's syndrome patients with gastrointestinal involvement. *Clin Exp Rheumatol.* Nov-Dec 2018;36(6 Suppl 115):90-6. Epub 2018 Dec 13.
35. Karadag A, Dogan H. Serum Calprotectin and Iron Metabolism Biomarker Levels in Behcet's Disease. *Turkish Journal of Osteoporosis.* 2021;27:140-4. doi: 10.4274/tod.galenos.2021.45403
36. Koray M, Atalay B, Akgul S, et al. Relationship between salivary calprotectin levels and recurrent aphthous stomatitis: A preliminary study. *Niger J Clin Pract.* 2018;21(3):271-5. doi: 10.4103/njcp.njcp_23_17.
37. Özseker B, Sahin C, Özseker HS, et al. The Role of Fecal Calprotectin in Evaluating Intestinal Involvement of Behcet's Disease. *Dis Markers.* 2016;2016:5423043. doi: 10.1155/2016/5423043. Epub 2016 Aug 24.
38. Simsek C, Armagan B, Benazir H, et al. Fecal S100A12 as a Biomarker in Behcet's Disease. *Acibadem Universitesi Saglik Bilimleri Dergisi.* 2021;12(3):616-24. doi: 10.31067/acusaglik.928333
39. Kim DH, Park Y, Kim B, et al. Fecal calprotectin as a non-invasive biomarker for intestinal involvement of Behcet's disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2017 Mar;32(3):595-601. doi: 10.1111/jgh.13530.
40. Pay S, Abbasov T, Erdem H, et al. Serum MMP-2 and MMP-9 in patients with Behcet's disease: do their higher levels correlate to vasculo-Behcet's disease associated with aneurysm formation? *Clin Exp Rheumatol.* Jul-Aug 2007;25(4 Suppl 45):S70-5.
41. Fayed A, Ganeb S. Pathogenetic Role of Matrix Metalloproteinase-2 and Matrix metalloproteinase-9 in Behcet's Disease. *Life Sci J.* 2012;9(3):706-12.
42. Aksoy Y, Ercan A, Dalmizrak O, et al. The determination of matrix metalloproteinase 9 activity and gene expression levels in Behcet's disease patients with aneurysmal complications. *Clin Rheumatol.* 2011 Apr;30(4):515-9. doi: 10.1007/s10067-010-1559-3. Epub 2010 Sep 15.
43. Castanheira FVS, Kubes P. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation. *Blood.* 2019 May 16;133(20):2178-85. doi: 10.1182/blood-2018-11-844530. Epub 2019 Mar 21.
44. Michailidou D, Mustelin T, Lood C. Role of Neutrophils in Systemic Vasculitides. *Front Immunol.* 2020 Dec 17;11:619705. doi: 10.3389/fimmu.2020.619705. eCollection 2020.
45. Perazzo SF, Soeiro-Pereira PV, Dos Santos VC, et al. Soluble CD40L is associated with increased oxidative burst and neutrophil extracellular trap release in Behcet's disease. *Arthritis Res Ther.* 2017 Oct 19;19(1):235. doi: 10.1186/s13075-017-1443-5.
46. Safi R, Kallas R, Bardawil T, et al. Neutrophils contribute to vasculitis by increased release of neutrophil extracellular traps in Behcet's disease. *J Dermatol Sci.* 2018 Nov;92(2):143-50. doi: 10.1016/j.jdermsci.2018.08.010. Epub 2018 Aug 31.
47. Le Joncour A, Martos R, Loyau S, et al. Critical role of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with Behcet's disease. *Ann Rheum Dis.* 2019 Sep;78(9):1274-82. doi: 10.1136/annrheumdis-2018-214335. Epub 2019 May 30.
48. Chen J, Liu T, He J, Liu Y. Correspondence on 'Critical role of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with Behcet's disease'. *Ann Rheum Dis.* 2020 Dec 24;annrheumdis-2020-219472. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-219472. Online ahead of print.

Поступила/отрецензирована/принята к печати
Received/Reviewed/Accepted
18.05.2022/1.07.2022/5.07.2022

Заявление о конфликте интересов/Conflict of Interest Statement

Работа выполнена в рамках фундаментальной темы FURS-2022-003. Исследование не имело спонсорской поддержки. Конфликт интересов отсутствует. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

The investigation has been conducted within scientific topic FURS-2022-003. The investigation has not been sponsored. There are no conflicts of interest. The authors are solely responsible for submitting the final version of the manuscript for publication. All the authors have participated in developing the concept of the article and in writing the manuscript. All the authors have approved the final version of the manuscript.

Нурбаева К.С. <https://orcid.org/0000-0001-6685-7670>
Лисицына Т.А. <http://orcid.org/0000-0001-9437-406X>
Лиля А.М. <https://orcid.org/0000-0002-6068-3080>
Решетняк Т.М. <https://orcid.org/0000-0003-3552-2522>