

НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ГРАНУЛОЦИТЫ: УЧАСТИЕ В ГОМЕОСТАТИЧЕСКИХ И РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССАХ. ЧАСТЬ I

И.И. Долгушин, Е.А. Мезенцева

ФГБОУ Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Челябинск, Россия

Резюме. После выхода из костного мозга (КМ) в кровообращение зрелые нейтрофильные гранулоциты в отсутствие воспаления претерпевают ряд фенотипических и физиологических изменений, в комплексе названных «старением», конститутивно получая праймирующие сигналы от комменсальной микробиоты и приобретая большую функциональную готовность в случае активации при травматизации тканей или инвазии патогенов. Физиологическое старение нейтрофилов в крови и последующее их возвращение в КМ генерирует сигналы, модулирующие размер и функции гомеопатической ниши. Циркадная физиологическая инфильтрация КМ нейтрофилами содействует поддержанию базового уровня внекостномозговых гомеопатических клеток-предшественников, обладающих функциями регенерации и иммунного наблюдения. Помимо КМ, нейтрофилы активно проникают и в другие здоровые ткани, вероятно, оказывая действие на их базальную физиологию. На примере легочной ткани показано, что нейтрофилы могут «управлять» работой ряда генов, регулирующих клеточный рост, миграцию, пролиферацию, дифференцировку клеток и канцерогенез. Нейтрофильные гранулоциты принимают участие в деструкции эндометриальных тканей во время фазы десквамации, в последующей их репарации и физиологическом ангиогенезе в пролиферативной фазе менструального цикла; участвуют в процессе разрыва стенки преовуляторного фолликула яичников и выхода ооцита; способствуют деградации и рассасыванию желтого тела при ненаступлении беременности; играют важную физиологическую роль в ремоделировании сосудов беременной матки и формировании материнской иммунной толерантности по отношению к полуаллогенному плоду. При инфекции и/или повреждении слизистой оболочки кишечника активно мигрирующие на поверхность кишечного эпителия нейтрофилы стимулируют реституцию эпителия и восстановление его барьерной функции. Рекрутированные в ротовую полость нейтрофилы регулируют количественный и качественный состав микробных сообществ оральных биопленок, отвечают за обеспечение здоровья пародонтальных структур. Являясь основным участником и регулятором заживления кожных ран на ранней стадии, стадии воспаления, нейтрофилы не только уничтожают возможных патогенов, но также участвуют в очищении раны от клеточного дебриса, генерируют цитокины, ферменты, ростовые факторы, влияющие на дальнейшие этапы процесса репарации. И апоптоз, и нетоз, являясь механизмами гибели нейтрофилов, вносят огромный вклад в процесс заживления ран. Однако дисрегуляция и нарушение баланса как апоптоза, так и нетоза могут приводить к негативным последствиям с формированием хронических, длительно незаживающих ран.

Ключевые слова: нейтрофильные гранулоциты, жизненный цикл, гомеостаз, репарация, кожа, легкие, ротовая полость, кишечник, женский репродуктивный тракт.

Адрес для переписки:

Мезенцева Елена Анатольевна
454092, Россия, г. Челябинск, ул. Воровского, 64,
ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.
Тел.: 8 902 892-28-43.
E-mail: alena_mez_75@mail.ru

Contacts:

Elena A. Mezentseva
454092, Russian Federation, Chelyabinsk, Vorovskogo str., 64,
South-Ural State Medical University.
Phone: +7 902 892-28-43.
E-mail: alena_mez_75@mail.ru

Библиографическое описание:

Долгушин И.И., Мезенцева Е.А. Нейтрофильные гранулоциты: участие в гомеостатических и репаративных процессах. Часть I // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 4. С. 609–624. doi: 10.15789/2220-7619-NGP-1257

Citation:

Dolgushin I.I., Mezentseva E.A. Neutrophil granulocytes: participation in homeostatic and reparative processes. Part I // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 4, pp. 609–624. doi: 10.15789/2220-7619-NGP-1257

NEUTROPHIL GRANULOCYTES: PARTICIPATION IN HOMEOSTATIC AND REPARATIVE PROCESSES. PART I

Dolgushin I.I., Mezentseva E.A.

South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Abstract. After exiting from the bone marrow (BM) into the circulation, mature neutrophil granulocytes undergo a set of sequential phenotypic and physiological changes collectively called “aging” in the absence of inflammation, by constitutively sensing prime signals from commensal microbiota and acquiring higher functional alertness in case of activation upon tissue damage or pathogen invasion. Physiological aging of blood neutrophils and their subsequent return to the BM result in signals modulating size and function of the hematopoietic niche. Circadian physiological infiltration of BM by neutrophils contributes to maintaining baseline level of circulating hematopoietic progenitor cells capable of regeneration and immune surveillance. Apart from the BM, neutrophils actively enter other healthy tissues, probably exerting some effects on their baseline physiologic state. Using lung tissue, it has been shown that neutrophils can “govern” action of gene set regulating cell growth, migration, proliferation, differentiation, and carcinogenesis. Neutrophils participate in destruction of endometrial tissues during desquamation phase as well as subsequent repair and physiological angiogenesis during proliferative phase of the menstrual cycle; promote wall rupture of the preovulatory ovarian follicle and oocyte exit; contribute to degradation and resorption of the corpus luteum in pregnancy failure; play an important physiological role in vascular remodeling in pregnant uterus and developing maternal immune tolerance to semi-allogeneic fetus. Neutrophils actively migrating to the surface of intestinal epithelium during local infection and/or damage stimulate epithelial restitution and recovery of its barrier function. On the other hand, neutrophils recruited into the oral cavity regulate quantitative and qualitative composition of microbial communities in oral biofilms, and ensure healthy state of periodontal structures. Being a major player and regulator in healing of skin wounds at early stage, inflammation, neutrophils not only destroy potential pathogens, but also participate in cleansing wounds from cell debris, produce cytokines, enzymes, and growth factors affecting further stages in repair process. Both apoptosis and NETosis underlying neutrophil death greatly contribute to wound healing. However, dysregulation and imbalance in both apoptosis and NETosis may lead to unfavorable consequences as well as developing chronic non-healing wounds.

Key words: *neutrophilic granulocytes, life cycle, homeostasis, repair, skin, lungs, oral cavity, intestines, female reproductive tract.*

Начиная с XIX века нейтрофильные гранулоциты рассматривались и изучались прежде всего в контексте борьбы с инфекцией и инициации острого воспаления. При этом нейтрофилы классически считались однородной популяцией терминально дифференцированных короткоживущих клеток с ограниченным набором высококонсервативных функций. Однако исследования конца XX — начала XXI в. заметно расширили наше понимание биологии этих лейкоцитов. Пересмотрена модель их жизненного цикла [85]. На сегодняшний день не вызывает сомнений, что нейтрофилы являются гетерогенной совокупностью пластичных клеток с разнообразными функциями и фенотипическими характеристиками [3, 4, 5, 25, 43, 45, 52, 63, 64, 85, 89, 95, 98, 103, 109, 115].

Интересные статистические данные приведены группой бразильских ученых в обзорной статье 2015 г., посвященной нейтрофилам [89]. По данным авторов, за 10 лет (с 2004 по 2014 г.) опубликовано 8003 статьи, трактующие деятельность нейтрофилов как «плохих парней» с провоспалительной и повреждающей активностью, участвующих в патогенезе аутоиммунных и опухолевых заболеваний, и только 3060 статей, описывающих нейтрофилы как

«хороших парней», способствующих защите постоянства внутренней среды организма и резолюции воспаления (поиск статей осуществлялся в базе данных Medline PubMed) [89]. При этом поиск по ключевым словам «гомеостаз и нейтрофилы» за период с 2004 по 2014 г. обнаружил на 60% больше опубликованных статей, чем до 2003 г., что свидетельствует о лучшем понимании физиологической, регулирующей роли нейтрофилов, появившемся в последние годы [89].

В нашей предыдущей статье мы фокусировали внимание на результатах исследований последних лет, демонстрирующих регуляторное влияние нейтрофилов по отношению к другим клеткам иммунной системы и развитию иммунного ответа [2]. Целью настоящего обзора является рассмотрение современных данных, свидетельствующих в первую очередь о гомеостатической роли нейтрофильных гранулоцитов. Не преуменьшая возможности реализации гистопатологического потенциала нейтрофилов при различных заболеваниях, мы все же хотим сделать акцент на оценке их деятельности как «хороших парней», участвующих в поддержании физиологического состояния различных тканей и органов. В последнее время появляется все больше данных о том,

что нейтрофилы обеспечивают важные сигналы, способствующие разрешению воспаления, регенерации эпителия и восстановлению мукозального гомеостаза. При этом основными компонентами последнего являются клетки эпителия, покрытые слоем слизи, и комменсальная микробиота, участвующая в формировании колонизационной резистентности. Вызывают интерес механизмы взаимодействия нейтрофилов с представителями нормальной микрофлоры, эпителиоцитами слизистых оболочек и кожи, и то, каким образом нейтрофилы участвуют в поддержании мукозального гомеостаза и эпителиального барьера.

Модель жизненного цикла и старение нейтрофилов

Нейтрофилы составляют около 70% всех лейкоцитов человека, и около 10^{11} этих клеток производится каждый день в костном мозге (КМ) человека в условиях нормы [14, 95, 106]. Удержание зрелых нейтрофилов в КМ и их высвобождение в циркуляцию регулируется двумя мембранными хемокиновыми рецепторами: CXCR4 и CXCR2 соответственно [34, 87, 95]. Остеобласты и другие клетки стромы КМ продуцируют фактор стромальных клеток 1 (stromal-derived factor-1 — SDF-1), или хемокин CXCL12, взаимодействие которого с CXCR4-экспрессирующими нейтрофилами способствует их сохранению в КМ [27, 48, 95, 106, 114]. Мобилизации нейтрофилов в кровоток способствует, с одной стороны, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (granulocyte colony-stimulating factor — G-CSF) путем уменьшения экспрессии CXCL12 стромальными клетками КМ и снижения экспрессии CXCR4 на самих нейтрофилах; с другой стороны, экспрессия эндотелиальными клетками вне костного мозга лигандов для CXCR2: CXCL1, CXCL2, CXCL5, CXCL8 [33, 59, 95].

Принято считать, что срок жизни нейтрофилов в циркуляции составляет менее суток и может колебаться у здорового человека от 4 до 18 ч [18, 66, 87, 108, 114], а у мышей — в среднем 12 ч [24, 87]. Однако в 2010 г. группа голландских ученых опубликовала данные своих исследований, согласно которым продолжительность жизни нейтрофилов человека в крови в среднем может составлять 5,4 суток [90].

Судьба зрелых нейтрофилов в циркуляции может складываться по одному из двух сценариев. В случае развития воспаления, при инфекции или повреждении тканей, нейтрофилы мигрируют в очаг, где, выполнив свою работу,

подвергаются клиренсу в основном резидентными макрофагами и дендритными клетками в процессе фагоцитоза [20, 24, 95]. В отсутствие же воспаления, в условиях нормы, нейтрофилы по окончании срока жизни элиминируются преимущественно макрофагами селезенки, печени и КМ [24, 87]. При этом за время нахождения в сосудистом русле нейтрофилы претерпевают ряд изменений. Наблюдения за циркулирующими в крови нейтрофилами *in vivo* в течение суток показали, что у здоровых мышей примерно через 4–6 ч после выхода из КМ в кровоток нейтрофилы меняют свою морфологию и фенотип [24]. Этот фенотипический сдвиг с момента высвобождения нейтрофилов из КМ («свежие» нейтрофилы) до времени их ухода из кровообращения («старые» нейтрофилы) в отсутствие воспаления был назван «старением» [10, 103]. Нейтрофилы, недавно вышедшие из КМ, являются CD62L^{hi}CXCR4^{low} [24, 95]. По мере увеличения времени нахождения в циркуляции стареющие нейтрофилы демонстрируют снижение уровня экспрессии L-селектина (CD62L) и увеличение экспрессии CXCR4, приобретая фенотип CD62L^{low}CXCR4^{hi} [24, 95]. Реэкспрессия CXCR4, как полагают, побуждает стареющие нейтрофилы к возвращению, хоумингу, в КМ, где они подвергаются апоптозу и фагоцитируются стромальными макрофагами [14].

Анализ поверхностных антигенов показал, что у стареющих нейтрофилов в условиях нормы также наблюдаются значительно более высокие уровни экспрессии TLR4 и молекул, участвующих в межклеточных взаимодействиях, миграции и экстравазации клеток, включая интегрины LFA-1/CD11a, Mac-1/CD11b, VLA-4/CD49d и ICAM-1 [24, 95, 113, 125]. Это, с одной стороны, свидетельствует о том, что стареющие нейтрофилы демонстрируют повышенную готовность в любой момент выйти в ткани и реализовать там свои функции; с другой стороны, показывает, что нейтрофилы конститутивно получают праймирующие сигналы и становятся более активными по мере старения в кровообращении [125]. Источниками праймирующих сигналов для стареющих нейтрофилов, как было установлено, являются в первую очередь молекулярные структуры комменсальной микробиоты, реализующие свое действие через TLR- и Myd88-опосредованные сигнальные пути [125]. У мышей, пролеченных антибиотиками широкого спектра действия, были значительно уменьшены и процент, и абсолютное число стареющих нейтрофилов [125]. При этом их число восстанавливалось, когда животным вводили

внутрижелудочным зондом липополисахарид (ЛПС), лиганд TLR4, или пептидогликан, лиганд TLR2 [125]. Также количество общих и стареющих нейтрофилов было значительно снижено у стерильных (germ-free) мышей и частично восстанавливалось после фекальной трансплантации [125]. Вместе с изменениями поверхностной экспрессии ряда молекул в нейтрофилах при старении происходят и морфологические трансформации: уменьшение размеров клетки и количества гранул, гиперсегментация ядра [24, 95, 103].

При оценке эффекторного потенциала стареющих нейтрофилов *in vitro* было установлено, что их способность генерировать активные формы кислорода (reactive oxygen species — ROS) не отличается от таковой у нестарых нейтрофилов [113]. Также при стимуляции ЛПС не выявлено достоверных различий в продукции провоспалительных (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF α , IFN γ) и противовоспалительных (IL-4, IL-10, IFN α) цитокинов у стареющих и у недавно вышедших из костного мозга нейтрофилов [113]. Однако под влиянием воспалительных стимулов, включая ЛПС, липотейхоевые кислоты, белок HMGB-1 (мощный медиатор стерильной травмы), у стареющих нейтрофилов, в отличие от нестарых, повышается уровень поверхностной экспрессии β_2 -интегринов Mac-1/CD11b с высокоаффинной конформацией [113]. Кроме того, при активации у стареющих нейтрофилов выявляется значительно более высокий фагоцитарный потенциал [113], а также повышенная способность к высвобождению внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps — NETs) [125], чем у нестарых нейтрофилов. Интересно, что истощение кишечной микробиоты антибиотиками широкого спектра действия приводит к функциональным изменениям стареющих нейтрофилов, что проявляется в значительном снижении их адгезии и активации Mac-1, способности образовывать NETs [87, 125].

Таким образом, старение нейтрофилов в циркуляции и параллельное праймирование продуктами микробиоты делает их более «отзывчивыми» и в случае необходимости позволяет этим более «профессионально подкованным» клеткам быстро перейти в очаг инфекции или повреждения и осуществить там свои эффекторные функции, возможно, с более высоким «коэффициентом полезного действия» [87, 113, 125].

Интересные данные о суточных изменениях нейтрофилов периферической крови человека были недавно получены группой венгерских ученых [36, 37]. Показано, что в течение дня

у человека меняется пропорциональное соотношение стареющих и свежих нейтрофилов в циркуляции. В утренние часы, с максимумом в 7:50, доминируют свежие нейтрофилы, обладающие большей гранулярностью. В вечернее время, между 20:00 и 24:00 часами с максимумом примерно в 23:36, достигает пика общее количество нейтрофилов в циркуляции с превалированием доли состарившихся нейтрофилов, характеризующихся изменением сегментации ядра, увеличением экспрессии CXCR4. При этом параллельно с пиком экспрессии CXCR4 наблюдается повышение в плазме крови уровня CXCL12, секретируемого стромальными клетками КМ, что способствует хоумингу старых нейтрофилов и постепенному снижению общего количества нейтрофилов поздней ночью. В ранние утренние часы секреция CXCL12 редуцируется, что способствует выходу в кровотоки свежих нейтрофилов. Параллельно со старением нейтрофилов аналогичные суточные колебания с максимумом в ночное время демонстрируют уровни экспрессии Gp91phox, основного компонента NADPH-оксидазы нейтрофилов, необходимого для продукции супероксидного радикала. При этом нейтрофилы, выделенные в 1 час ночи, фагоцитируют значительно больше опсонизированных бактерий *S. aureus* и продуцируют значительно больше супероксида, чем клетки, выделенные в 1 час дня, что отражает более мощный защитный потенциал стареющих нейтрофилов человека [36, 37].

Абсолютное количество нейтрофилов в крови у мышей также подвержено циркадным колебаниям [24]. При проведении исследований мышей содержат в условиях свет-темнового режима: 12 часов свет/12 часов темнота, при этом ZT0 — включение света, ZT12 — выключение света, то есть между ZT0 и ZT12 — светлая фаза суток, соответствующая периоду покоя животных, а между ZT12 и ZT0 — темная фаза суток, характеризующаяся активностью животных. Период активного выхода нейтрофилов из костного мозга и, соответственно, увеличения их числа в циркуляции наблюдается между ZT17 и ZT5, а время клиренса и, соответственно, падения количества в крови — между ZT5 и ZT13 [24]. При этом число стареющих нейтрофилов CD62L^{low}CXCR4^{hi} в кровообращении демонстрирует аналогичную суточную динамику с акрофазой (то есть максимальным значением) в ZT5 и последующим постепенным снижением, а значит, элиминацией, в период между ZT5 и ZT17 [24]. Возвращение в КМ физиологически стареющих CD62L^{low}CXCR4^{hi} нейтрофилов в конце

периода покоя животных и их уничтожение костномозговыми макрофагами генерирует сигналы, модулирующие размер и функции гемопоэтической ниши [24]. Гемопоэтическая ниша — это многокомпонентное сообщество, в которое входят стромальные клетки, необходимые для поддержания костномозгового гемопоэза, удержания и мобилизации гемопоэтических клеток-предшественников (ГКП) [24, 77, 85]. Циркадная физиологическая инфильтрация КМ нейтрофилами оказывает тормозящее влияние на количество и активность стромальных клеток, что содействует ритмичному выходу ГКП в кровотоки [24, 85]. Полученные результаты раскрывают процесс, синхронизирующий иммунные и кроветворные ритмы [24]. Отвечая на вопрос, каковым же может быть физиологическое значение модуляции гемопоэтической ниши за счет клиренса нейтрофилов, авторы дают следующее объяснение. Нейтрофилы обладают выраженной способностью к миграции и чрезвычайно чувствительны к изменениям среды, например к травме или инфекции. При этом реакция на повреждение продлевает срок их жизни и приводит к потере тропизма к КМ. Таким образом, циркулирующие нейтрофилы могут функционировать как своеобразные «датчики» состояния организма: нормальная миграция состарившихся и готовых к смерти нейтрофилов в КМ показывает, что «ничего тревожного» в организме не произошло. Даже в этих условиях, при отсутствии травмы или инфекции, потребность поддерживать базовый уровень внекостномозговых ГКП, обладающих функциями регенерации или иммунного наблюдения, может быть удовлетворена за счет нейтрофил-клиренс-индуцированной мобилизации их из КМ [24].

Интересные данные о роли нейтрофилов в тканях в стационарных (steady-state) условиях, то есть в отсутствие воспалительных стимулов, были опубликованы международной группой ученых в 2018 г. [23]. При исследовании здоровых мышей, содержащихся в условиях, свободных от специфических патогенов (specific pathogen-free), авторы установили, что LубG-нейтрофилы обнаруживаются в большинстве анализируемых тканей: в КМ, селезенке, легких, печени, кишечнике, белой жировой ткани (БЖТ), коже, скелетных мышцах, периферических лимфатических узлах, почках и сердце. При этом не удалось найти нейтрофилы только в яичниках, яичках и мозге, что согласуется с иммунопривилегированным статусом этих органов [23]. Авторы отметили, что в то время как трафик нейтрофилов

в здоровые ткани имел регулярный характер, степень нейтрофильной инфильтрации БЖТ, мышц и кишечника была на несколько порядков ниже, чем таких органов, как КМ, селезенка и легкие. Использование многофотонной микроскопии и микроскопии плоскостного освещения (light-sheet microscopy) позволило установить, что в большинстве органов распределение нейтрофилов было, по-видимому, случайным. Только в толстой кишке и в селезенке были обнаружены области предпочтительной концентрации нейтрофилов. В селезенке нейтрофилы преимущественно локализовались в краевой (маргинальной) зоне и красной пульпе. В слизистой оболочке кишечника нейтрофилы распределялись не равномерно, а группировались в отдельных участках, обогащенных В-лимфоцитами, которые напоминали изолированные лимфоидные фолликулы, и локализовались на периферии этих фолликулов, проксимальнее макрофагов [23]. Дополнительный анализ изображений показал, что в КМ, селезенке и кишечнике нейтрофилы преимущественно располагались в паренхиме ткани, то есть вне кровеносных сосудов, а в печени и легких, то есть в сильно васкуляризованных тканях, — преимущественно в сосудах [23].

Инфильтрация нейтрофилами большинства тканей имела суточные колебания, увеличиваясь в период активности животных, за исключением кишечника, печени и БЖТ, в которых число нейтрофилов не показывало ритмических осцилляций. Полученные данные свидетельствуют о том, что нейтрофилы активно проникают в здоровые ткани в количестве и с динамикой, специфичной для каждой ткани [23].

Исследуя потенциальные функции нейтрофилов в условиях здоровья, авторы установили, что нейтрофильная инфильтрация тканей регулирует гемопоэтическую активность КМ [23]. При этом ключевым сайтом, играющим наиболее значимую роль в этом процессе, авторы определили толстый кишечник, предположив, что именно его тканевые макрофаги могут быть активными посредниками КМ-регулирующего действия нейтрофилов [23]. Механизм, лежащий в основе данного посреднического участия макрофагов, установлен в более ранних работах [105, 114]. В норме нейтрофилы, мигрирующие в периферические ткани, после того как подвергаются апоптозу, фагоцитируются тканевыми макрофагами, что вызывает у последних подавление секреции IL-23 и, как следствие, снижает продукцию IL-17 и G-CSF, что в итоге сдерживает

гранулопоз в костном мозге [105, 114]. Однако авторы определили, что нейтрофилы, инфильтрируя разные ткани, оказывают различное макрофаг-опосредованное влияние на ниши КМ: проникая во внекостномозговые ткани, они регулируют общую активность КМ, а значит, абсолютное количество циркулирующих ГКП, тогда как, попав в сам КМ, они влияют на суточный ритм миграции ГКП [23], что соотносится с ранее полученными данными [24] и о чем говорилось выше.

Установив, что вслед за КМ и селезенкой наиболее «заселенным» нейтрофилами органом здоровых животных являются легкие и что их нейтрофильная инфильтрация характеризуется циркадными ритмами, авторы провели транскриптомный анализ легочных тканей в разное время суток (утром ZT4 и вечером ZT16) у животных двух групп: контрольных мышей и мышей, которым предварительно вводили анти-Ly6G-антитела для истощения нейтрофилов [23]. Эксперимент по истощению нейтрофилов показал, что среди всех генов, проявляющих циркадную экспрессию в легких, значимая часть (26,7%) находилась «под управлением» нейтрофилов. В данную когорту входили гены, регулирующие клеточный рост, миграцию, пролиферацию, дифференцировку клеток, канцерогенез [23]. В настоящее время точно неизвестны механизмы, посредством которых нейтрофилы влияют на циркадную экспрессию генов в легких. Возможно, они могут изменять клеточный состав ткани, облегчая инфильтрацию других клеток, или высвобождать растворимые медиаторы, модулирующие транскрипцию в легочных клетках [23].

Делая итоговые выводы, авторы отметили, что, несмотря на то, что динамика, значение и судьба нейтрофилов в здоровых тканях остаются во многом неизученными, нейтрофилы могут выполнять важные гомеостатические функции после своей жизни в кровообращении, и нейтрофильная инфильтрация оказывает влияние на базальную физиологию тканей [23]. Нейтрофилы являются глобальными регуляторами гемопозитических ниш, действуя как локально в КМ, так и удаленно через инфильтрацию периферических тканей [23]. Полученные результаты демонстрируют первый пример транскрипционного программирования ткани инфильтрирующими ее нейтрофилами и имеют важные последствия для понимания влияния миелоидных клеток на неиммунную физиологию [23]. Циркадная динамика нейтрофильной инфильтрации различных тканей, возможно, может отражать способность нейтрофилов влиять на суточную

синхронизацию множества физиологических процессов в разных тканях, что требует дальнейшего изучения [23].

Нейтрофилы легких

Пример органа, «населенного» нейтрофилами, — это легкое. В отличие от большинства тканей в легких большое количество нейтрофилов обнаружено в стационарном, то есть в отсутствие воспаления, состоянии у мышей и нечеловекообразных приматов [23, 29, 85]. Легкое имеет уникальную структуру, состоящую из трех функционально различных компартментов: альвеолярного, интерстициального и сосудистого [88]. Хотя у мышей в стационарном состоянии в легком был обнаружен пул тканевых экстравазкулярных резидентных нейтрофилов [62, 123], большинство легочных нейтрофилов входят в клеточный состав сосудистого компартмента [12, 23, 88, 123].

С помощью интравитальной микроскопии было установлено, что у мышей в здоровом легком нейтрофилы локализируются преимущественно в капиллярах (в сосудах с диаметром менее 10 мкм) и демонстрируют три поведенческих фенотипа: подвергшиеся непрочному прикреплению (*tethering*), ползающие (*crawling*) на короткие расстояния вдоль сосудистой стенки и прочно адгезированные (*firm adhesion*) [123].

У человека средний диаметр легочного капиллярного сегмента ~7,5 мкм, что меньше среднего диаметра нейтрофила, составляющего ~8 мкм [69]. Поэтому нейтрофилы должны деформироваться, чтобы пройти через легочную капиллярную сеть [69]. Изучение фиксированной легочной ткани человека с использованием сканирующей электронной микроскопии [32], а также исследования *in vivo* легких собак с помощью видеомикроскопии [46] и мышей с помощью интравитальной микроскопии с высоким разрешением [15, 72] выявили, что нейтрофилы, которые имеют сферическую форму в легочных артериолах, становятся эллипсоидными внутри капилляров легких [69]. Подобная морфологическая деформация не происходит мгновенно, поэтому нейтрофилы на некоторое время останавливаются у входа в капилляр [31, 32, 69]. Время остановки и последующего прохождения нейтрофила по легочной капиллярной сети зависит от давления, которое определяется отношением диаметра капилляра к диаметру нейтрофила и кортикальным натяжением (напряжением) нейтрофила, обусловленного наличием слоя актинового цитоскелета, известного как

«кора», под плазматической мембраной [39, 40, 69]. При этом более жесткие клетки тратят больше времени, чтобы войти в капиллярный сегмент [44, 69]. Некоторые капилляры в легком могут временно закупориваться за счет медленного прохождения нейтрофилов, что может занять более 5 минут [53, 69]. Однако взаимосвязанная архитектура легочной капиллярной сети обеспечивает достаточное количество альтернативных путей транзита эритроцитов вокруг тех капиллярных сегментов, которые временно «перекрыты» нейтрофилами [31, 69]. Паузы, которые делают нейтрофилы при входе в капилляры легких, приводят к увеличению времени транзита нейтрофилов и к, по меньшей мере, 50-кратно более высокой концентрации этих клеток в легочной циркуляции, чем в системной, с формированием так называемого маргинального пула [1, 31, 32, 69, 96] наряду с печенью и селезенкой [25]. Удержанию нейтрофилов в легких способствует не только их пассивное «застывание» в капиллярах [85]. Легочные нейтрофилы демонстрируют относительно высокую экспрессию хемокинового рецептора CXCR4, который облегчает их маргинацию путем связывания с лигандом CXCL12 (SDF-1), экспрессируемым легочным капиллярным эндотелием [29, 69, 85]. Интересно, что стареющие нейтрофилы, как было показано выше, экспрессируют больше CXCR4, поэтому, возможно, именно они преимущественно мигрируют в легкие [10, 95].

Нейтрофилы, присутствующие в легочном сосудистом пространстве, могут быть высвобождены в системную циркуляцию после лечения антагонистами CXCR4 или адреналином [29, 85] или могут инфильтрировать интерстиций и выходить в альвеолярные воздушные пространства во время воспаления и инфекции легких [62, 85].

На модели сепсиса у мышей, вызванного *E. coli*, было установлено, что более 50% бактерий секвестрируются в сосудистой сети легких, адгезируясь к стенке сосудов, в течение нескольких минут [123]. При этом ни у людей, ни у мышей в легких, в отличие от печени или селезенки, нет резидентных внутрисосудистых макрофагов, которые бы могли осуществить защиту от этих патогенов [123]. Данную функцию выполняют внутрисосудистые CD11b⁺ нейтрофилы легких, которые демонстрируют значительное усиление «ползания» (crawling) и фагоцитируют приносимых кровью бактерий [123].

В 2017 г. международной группой ученых были опубликованы интересные данные о гомеостатической функции нейтрофилов [116].

Было показано, что нейтрофилы играют важную роль в восстановлении ткани после стерильной термической травмы печени у мышей, осуществляя «демонтаж» поврежденных микрососудов и «прокладывая путь» для образования новых [116]. Выполнив свою задачу, нейтрофилы не погибают в очаге стерильного воспаления, а возвращаются обратно в циркуляцию и мигрируют в легкие, прочно адгезируясь к эндотелию их микрососудов [25, 116]. В легочных сосудах происходит деактивация или перепрограммирование этих нейтрофилов с повышением экспрессии CXCR4 и последующим хоумингом в КМ, где они подвергаются апоптозу [25, 116]. В более ранних исследованиях британскими учеными было установлено, что в легочной сосудистой сети здорового человека обратимо задерживаются преимущественно праймированные нейтрофилы, которые подвергаются депраймированию и только после этого возвращаются в системную циркуляцию [107]. В итоге сосуды легких здорового человека защищают организм от возможного проявления гистотоксического потенциала праймированных и активированных нейтрофилов [107].

Таким образом, нейтрофилы в легких, как представляется, являются «стратегическим запасом», чтобы либо при необходимости снабжать кровообращение, либо реагировать на повреждение, легочную или генерализованную инфекцию [85, 123]. Кроме того, возможно, что для «отработавших» в других локализациях нейтрофилов легкие — это «перевалочный пункт», где происходит деактивация и подготовка к смерти.

Нейтрофилы кожи

Кожа является самым крупным органом в организме человека и служит барьером, защищающим внутреннюю среду от физических и химических воздействий, проникновения микроорганизмов и чрезмерной потери воды [75]. При этом она играет роль не только механической преграды, но и содержит широкий спектр молекулярных и клеточных факторов, формирующих иммунную систему кожи [9, 19, 75]. Последняя включает в себя два компартмента: эпидермальный и дермальный [8, 84]. В неповрежденной коже нейтрофилы встречаются в небольшом количестве в дермальном компартменте. Однако при травматизации и возникновении кожных ран нейтрофилы вносят существенный вклад в процесс репарации и восстановления целостности кожного покрова [61].

В норме процесс заживления начинается с момента повреждения тканей [121]. При этом заживление кожных ран у человека — это многостадийный процесс, включающий следующие этапы: гемостаз (первые минуты — часы), воспаление (1–3 сутки), пролиферация (4–21 сутки) и ремоделирование (21–365 суток) [38, 68, 93]. Воспалительная фаза является ключевой как при физиологическом, так и при патологическом течении процесса заживления и характеризуется быстрым притоком нейтрофилов с последующей иммиграцией моноцитов, дифференцирующихся в макрофаги [13]. После травмы нейтрофилы первыми рекрутируются в сайт повреждения, привлекаемые провоспалительными цитокинами и хемокинами (TNF α , IL-8), ростовыми факторами (PDGF, TGF- β 1), метаболитами арахидоновой кислоты (лейкотриены, простагландины), анафилотоксинами (C3a, C5a), связанными с повреждением молекулярными паттернами (DAMPs), и становятся доминирующей популяцией клеточного содержимого раны в первые 24–48 часов. Их роль заключается в уничтожении возможных патогенов, а также в очищении раны от клеточного дебриса и эритроцитов за счет генерации свободных радикалов, NETs и секреции протеаз [38, 61, 91, 93, 115, 118, 126, 128]. При этом установлено, что нейтрофилы, прибывающие в очаг повреждения, кроме многочисленных антимикробных субстанций, способны генерировать цитокины и ростовые факторы, влияющие на дальнейшие этапы процесса заживления [60]. У мигрировавших в рану нейтрофилов по сравнению с циркулирующими клетками происходит изменение экспрессии ряда генов нескольких функциональных категорий. Во-первых, усиливается транскрипция антиапоптотических генов в сочетании с угнетением активности проапоптотических. Во-вторых, меняется уровень транскрипции генов ряда сигнальных молекул и их рецепторов. Так, активируется экспрессия генов, отвечающих за синтез хемокинов и цитокинов, привлекающих в очаг и активирующих макрофаги, Т-лимфоциты, гранулоциты и модулирующих воспалительный ответ: MCP-1, MIP-1, IL-8, IL-1 β , TNF α . Усиливается транскрипция факторов, способствующих ангиогенезу (VEGF, IL-8, GRO- γ , MCP-1), пролиферации кератиноцитов и фибробластов (IL-8, IL-1 β , MCP-1), адгезии кератиноцитов к дермальному слою (LAMB3), индукции экспрессии антимикробных пептидов в кератиноцитах (IL-1 β , TNF α), ремоделированию ткани за счет разрушения фибриновых сгуст-

ков и деградации внеклеточного матрикса (uPA или PLAU) [16, 17, 38, 47, 76, 80, 93, 94, 104, 110]. Одновременно в раневых нейтрофилах подавляется экспрессия рецепторов IL-8R α , IL8-R β , G-CSFR и TLR 1 и TLR 6, которые опосредуют хемотаксис и клеточную активацию, что свидетельствует о снижении чувствительности к хемотаксическим и иммунорегуляторным медиаторам после того, как нейтрофилы мигрировали в пораженные участки кожи и были активированы [110].

Стадия пролиферации при заживлении ран начинается с ангиогенеза и фиброгенеза, способствующих формированию грануляционной ткани. При этом происходит процесс дифференцировки фибробластов в миофибробласты, обладающие высокой сократительной способностью, что помогает «затягиванию» раневого дефекта [49, 126]. Ведущим фактором, опосредующим активацию дифференцировки миофибробластов, является TGF- β [79, 119, 126]. Доминирующей популяцией клеток, являющихся источником TGF- β и способствующих ангиогенезу и фиброгенезу во время стадии пролиферации, традиционно считаются макрофаги. Однако группой американских ученых было установлено, что нейтрофилы, мигрирующие в область кожной раны уже в первые часы и подвергшиеся активации, также способны стимулировать ангиогенез и дифференцировку фибробластов в миофибробласты за счет выделения в процессе дегрануляции пируваткиназы M2 (PKM2), фермента, участвующего в последних этапах гликолиза и превращающего фосфоэнолпируват (ФЭП) в пируват, перенося одну фосфатную группу с ФЭП на АДФ и генерируя АТФ [126, 127]. Предварительное внутрибрюшинное введение моноклональных анти-PKM2-антител мышам за сутки до нанесения кожной раны приводило к замедлению скорости закрытия кожного дефекта. Последующее иммуногистохимическое исследование биоптатов тканей из ран с использованием анти-CD31-антител выявило, что нарушение заживления при введении анти-PKM2-антител связано с угнетением ангиогенеза, проявляющимся в значительном снижении плотности и длины капилляров [126, 127]. CD31, или PECAM-1, — член семейства молекул адгезии поверхностных гликопротеинов, вовлеченный в межклеточные взаимодействия, процессы эмбриогенеза и развития тканей; является маркером ангиогенеза, в том числе и при опухолевом росте [6]. В более ранних публикациях этой же группой исследователей было отмечено, что внеклеточная PKM2 способствует ангиогенезу злокачествен-

ственных опухолей [71]. При этом, как в случае ангиогенеза при заживлении ран, так и при опухолевом ангиогенезе, внеклеточная РКМ-2 взаимодействует с $\alpha v \beta 3$ интегринами эндотелиальных клеток, усиливая их пролиферацию, миграцию и адгезию к внеклеточному матриксу [126]. Выделившаяся из активированных раневых нейтрофилов РКМ-2 способствует дифференцировке дермальных фибробластов человека в миофибробласты через активацию поверхностных $\alpha v \beta 3$ интегринов TGF- β -независимым путем [126]. Таким образом, авторы выявили важную связь между инфильтрацией/активацией нейтрофилов в раннюю воспалительную фазу и последующей стадией пролиферации в процессе заживления кожных ран [126, 127]. В моделях на мышах было показано, что нейтрофилы, мигрирующие в область раны, являются также источником карбоангидразы IV [11]. Данный фермент катализирует реакцию CO_2 и воды с образованием бикарбонат-ионов HCO_3^- и протонов H^+ , что ведет к закислению среды в раневом микроокружении. Снижение pH приводит, с одной стороны, к повышению выживаемости самих нейтрофилов; с другой стороны, способствует миграции кератиноцитов и эпителизации раны, начиная уже с первых часов после повреждения [11].

Важными факторами для физиологического процесса заживления ран являются ROS и оксигенация тканей. При этом установлено, что свободно радикальные окислители (например, H_2O_2) являются не только деструктивными агентами, но в низких концентрациях могут выполнять функцию мессенджеров в передаче внутриклеточных сигналов и процессах, регулирующих экспрессию генов [92, 97, 99, 100, 101]. На стадии воспаления, в первые двое суток после повреждения, основными «поставщиками» ROS в ране являются нейтрофилы, а затем макрофаги, в которых активируется NADPH-оксидаза-зависимый механизм респираторного взрыва. Около 98% O_2 , потребляемого нейтрофилами в месте повреждения, используется для респираторного взрыва [100]. И хотя продуцируемый фагоцитами на ранних стадиях пероксид водорода оказывает преимущественно антимикробное действие, как было показано на моделях мышей, он вносит свой вклад в индукцию экспрессии VEGF и, как следствие, обладает ангиогенным эффектом и способствует последующим стадиям заживления кожного дефекта [97]. Доказательством участия генерируемого NADPH-оксидазным комплексом нейтрофилов пероксида водорода в заживлении ран является нарушение про-

цессов регенерации у пациентов с хронической гранулематозной болезнью, первичным иммунодефицитным состоянием, связанным с мутациями в гене *p47phox*, необходимом для работы NADPH-оксидазы [35, 65, 97].

Важно, что нейтрофилы, являясь основным участником и регулятором заживления ран на ранней стадии, стадии воспаления, одновременно проявляют и противовоспалительные свойства, в том числе подавляя и собственную активность, способствуя переходу к следующим стадиям пролиферации и ремоделирования [38, 118]. Так, у раневых нейтрофилов усиливается мембранная экспрессия рецепторов к TGF- $\beta 1$ [110], который секретируется активированными макрофагами и обладает ингибирующим действием по отношению к нейтрофилам, стимулируя при этом дифференцировку миофибробластов. Можно предположить, что как только хемокины нейтрофилов привлекли достаточное количество макрофагов в очаг повреждения, последние начинают снижать активность нейтрофилов посредством влияния TGF- $\beta 1$ и, таким образом, на 2–4 сутки «захватывать лидирующие позиции» и инициировать следующий этап заживления ран [61, 110]. Кроме того, нейтрофилы, подвергшиеся апоптозу после выполнения своих функций в ране, фагоцитируются макрофагами, то есть подвергаются эффероцитозу. Данный процесс способствует трансформации макрофагов с провоспалительным фенотипом M-1 в противовоспалительные клетки M-2. M2-макрофаги продуцируют TGF- $\beta 1$, IL-10, IL-1RA, что ведет к резолуции воспаления, а также стимулируют ангиогенез, пролиферацию миофибробластов, синтез компонентов внеклеточного матрикса и коллагена [38, 42, 61, 102, 115, 117, 121].

Интересные данные о механизмах резолуции воспаления были получены в модели острого зимозан-индуцированного перитонита у мышей [73]. При исследовании перитонеальной жидкости было установлено, что число нейтрофилов достигает максимума через 6 часов, а затем в течение 18 часов, то есть к концу первых суток, снижается на 50%, продолжая и дальше падать. Число же макрофагов увеличивается и достигает пика к 24 часам, сохраняясь на высоком уровне в течение 48 часов. В сроки, совпадавшие с максимумом нейтрофилов и макрофагов, то есть через 6 и 24 часа соответственно, в перитонеальном экссудате также выявлялись пиковые концентрации эритропоэтина (EPO), HIF-1 α и ROS. Кроме того, с помощью проточной цитофлуориметрии было установлено, что рецепторы к EPO

(EPOR) экспрессируются макрофагами, но не нейтрофилами. При этом у мышей с отсутствием EPOR на макрофагах (EPOR-дефицитных мышей) достоверно снижается уровень противовоспалительного цитокина TGF- β , увеличиваются концентрации провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF α , MCP-1, IFN γ) и повышается число апоптотных нейтрофилов в экссудате по сравнению с контрольными животными, экспрессирующими EPOR, в аналогичные временные интервалы, что приводит к пролонгации стадии воспаления. Из полученных данных авторами были сделаны следующие выводы. В период активного воспаления доминирующей популяцией клеток являются нейтрофилы, которые активно потребляют кислород, генерируя в большом количестве ROS и способствуя тем самым формированию локальной гипоксии, что ведет к активации NIF посредством стабилизации субъединицы NIF-1 α . В свою очередь NIF-1 α усиливает экспрессию генов, кодирующих синтез эритропоэтина, следствием чего является повышение концентрации последнего. EPO взаимодействует с EPOR на макрофагах, включая ряд сигнальных путей и стимулируя клиренс апоптотных нейтрофилов, результатом чего является своевременная резолуция воспаления [13, 73]. Поскольку в области кожных ран также развивается тканевая гипоксия [100], можно предположить, что механизм резолуции воспаления, предложенный в модели зимозан-индуцированного перитонита, срабатывает и в процессе заживления дефектов кожи.

Значимость нейтрофилов в процессе заживления ран подтверждается тем, что у пациентов с нейтропенией или с дефектами миграции и функционирования нейтрофилов, например, при хронической гранулематозной болезни, увеличивается риск инфицирования и ухудшается процесс регенерации [70, 83, 118]. Однако нельзя не отметить, что в последние годы появился ряд публикаций, отмечающих важную роль нейтрофилов в патогенезе хронических незаживающих/трудно заживающих ран [30, 38, 68, 76, 81, 118, 122]. К хроническим традиционно относят следующие категории ран: трофические язвы вследствие венозной недостаточности (венозные трофические язвы), пролежни, диабетические язвы, артериальные (ишемические) трофические язвы [82, 128]. Ключевым событием при формировании хронических ран является нарушение своевременного перехода стадии воспаления, основным участником которой являются нейтрофилы, в стадию пролиферации. Чрезмерная инфильтрация нейтрофилами и их гиперактивация

в ране приводит к выраженной продукции ROS, провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF α), повышенной секреции матриксных металлопротеиназ (MMP-2, MMP-8, MMP-9), сериновых протеаз (катепсина G, эластазы, протеиназы 3) и к инаktivации протеазных ингибиторов (α 1-антитрипсина). Последствиями этого являются повреждение мембран клеток, внеклеточного матрикса, деградация важных ростовых факторов PDGF-BB, TGF- β 1, HGF и, как итог, нарушение дальнейших этапов заживления и формирование «замкнутого круга» воспаления [38, 67, 68, 76, 82, 91, 118, 128]. Одной из причин персистенции воспаления при хронических незаживающих ранах может быть дисрегуляция апоптоза нейтрофилов [68, 91]. Так, установлено, что в биоптатах кожных ран мышей и пациентов с диабетом наблюдается значительное повышение числа апоптотных каспаза-3-позитивных нейтрофилов [26, 58]. Это связано, с одной стороны, вызванным конечными продуктами гликирования усилением апоптоза нейтрофилов; с другой стороны, ослаблением фагоцитарной активности раневых макрофагов и, как следствие, нарушением эффероцитоза и клиренса апоптотных нейтрофилов [22, 58].

В 2016 г. были опубликованы результаты исследований итальянских ученых, которые впервые с помощью протеомного анализа установили, что в хронических незаживающих ранах пациентов с синдромом диабетической стопы (СДС) наблюдается значительное (более чем в 2 раза) увеличение концентрации ядерных (гистоны) и гранулярных (эластаза, протеиназа 3, желатиназа) компонентов NETs по сравнению с содержимым нормально заживающих ран [41]. Интересно, что у пациентов с длительно незаживающими раневыми дефектами стоп выявилось повышение количества компонентов NETs (олиго- и мононуклеосомы, эластаза, желатиназа, протеиназа 3) и в системной циркуляции, а нейтрофилы, выделенные из периферической крови, демонстрировали праймированность к спонтанному нетозу [41]. Этой же группой ученых в моделях на мышах со стрептозотоцин-индуцированным диабетом с помощью проточной цитофлуориметрии и конфокальной интравитальной микроскопии было обнаружено, что в кожных ранах в первые трое суток наблюдается значительное увеличение числа Gr-1⁺ нейтрофилов по сравнению с интактной кожей и более 10% этих клеток подвергается нетозу. При этом в раневых экстрактах данных животных значительно повышается активность PAD4 — фермента, стимуляция которого за-

пускает нетоз, вызывая цитруллинацию гистонов и деконденсацию хроматина. При этом заживление ран у диабет-индуцированных животных протекает медленнее, чем у мышей без диабета, а применение ингибитора PAD4, хлор-амидина, приводит к нормализации процесса регенерации у больных животных [41].

Поскольку образование NETs является одним из механизмов борьбы с микроорганизмами, вызывая их иммобилизацию, уничтожение и препятствуя диссеминации инфекции [21, 28, 74, 124], усиление нетоза в хронических трудно заживающих ранах отчасти можно объяснить повышенным формированием полимикробных биопленок в таких ранах [55, 56, 120]. Биопленка — это трехмерная структура, образующаяся в результате агрегации микробов, заключенных в экзополимерный матрикс, состоящий из полисахаридов, липидов, нуклеиновых кислот и белков [50, 54, 56, 86, 111]. Одним из регуляторных механизмов, играющих значительную роль в координации формирования биопленки для многих видов микроорганизмов, является межклеточная передача сигналов, или quorum sensing (QS). Микробы секретируют широкий спектр низ-

комолекулярных сигнальных молекул (аутоиндукторов), которые вызывают или подавляют экспрессию QS-контролируемых генов через взаимодействие с рецепторными белками [7, 54, 86]. При этом некоторые малые QS-молекулы являются мощными хемоаттрактантами для нейтрофилов и вызывают их активацию, которая проявляется в виде дегрануляции и образования сетей [50, 51, 57, 78, 112].

Таким образом, и апоптоз, и нетоз, являясь механизмами гибели нейтрофилов, вносят огромный вклад в процесс заживления ран. Своевременный и адекватно регулируемый апоптоз нейтрофилов в зоне повреждения является одним из ключевых факторов завершения стадии воспаления, способствуя дальнейшему заживлению. Контролируемый нетоз важен для адекватной борьбы с микроорганизмами, которые весьма часто присутствуют в кожных ранах, что также способствует физиологическому течению процесса регенерации и восстановлению тканей. Однако дисрегуляция и нарушение баланса как апоптоза, так и нетоза могут приводить к негативным последствиям с формированием хронических длительно незаживающих ран.

Список литературы/References

1. Долгушин И.И., Бухарин О.В. Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург: УрО РАН, 2001. 288 с. [Dolgushin I.I., Bukharin O.V. Neutrophils and homeostasis. *Ekaterinburg: The Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 2001. 288 p. (In Russ.)*]
2. Долгушин И.И., Мезенцева Е.А., Савочкина А.Ю., Кузнецова Е.К. Нейтрофил как «многофункциональное устройство» иммунной системы // Инфекция и иммунитет. 2019. Т. 9, № 1. С. 9–38. [Dolgushin I.I., Mezentseva E.A., Savochkina A.Yu., Kuznetsova E.K. Neutrophil as a multifunctional relay in immune system. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity = 2019, vol. 9, no. 1, pp. 9–38. doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-9-38 (In Russ.)*]
3. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглевский А.А. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле // Иммунология. 2015. Т. 36, № 4. С. 257–265. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Evglevsky A.A. Neutrophilic granulocytes: a new look at “old players” on the immunological field. *Immunologiya = Immunology, 2015, vol. 36, no. 4, pp. 257–265. (In Russ.)*]
4. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 1 // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7, № 3. С. 219–230. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Evglevsky A.A., Nguyen T.D.L. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 1. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2017, vol. 7, no. 3, pp. 219–230. doi: 10.15789/2220-7619-2017-3-219-230 (In Russ.)*]
5. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евглевский А.А., Нгуен Т.З.Л. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2 // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8, № 1. С. 7–18. [Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Evglevsky A.A., Nguyen T.D.L. The new look at neutrophilic granulocytes: rethinking old dogmas. Part 2. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2018, vol. 8, no. 1, pp. 7–18. doi: 10.15789/2220-7619-2018-1-7-18 (In Russ.)*]
6. Нефедова Н.А., Харлова О.А., Данилова Н.В., Мальков П.Г., Гайфуллин Н.М. Маркеры ангиогенеза при опухолевом росте // Архив патологии. 2016. Т. 78, № 2. С. 55–63. [Nefedova N.A., Kharlova O.A., Danilova N.V., Malkov P.G., Gaifullin N.M. Markers of angiogenesis in tumor growth. *Arkhiv patologii = Archive of Pathology, 2016, vol. 78, no. 2, pp. 55–63. doi: 10.17116/patol201678255-62 (In Russ.)*]
7. Хмель И.А., Белик А.С., Зайцева Ю.В., Данилова Н.Н. Quorum sensing и коммуникация бактерий // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2008. № 1. С. 28–35. [Khmel I.A., Belik A.S., Zaitseva U.V., Danilova N.N. Quorum sensing and communication in bacteria. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16: Biologiya = Moscow University Biological Sciences Bulletin, 2008, vol. 63, iss. 1, pp. 25–31. doi: 10.1007/s11966-008-1005-9 (In Russ.)*]
8. Цепколенко А.В. Иммунная система и регенеративный потенциал кожи // Дерматология та венерология. 2017. № 3 (77). С. 27–37. [Tsepkoenko G.V. Immune system and regenerative skin potential. *Dermatologiya ta venerologiya = Dermatology and Venereology, 2017, iss. 3 (77), pp. 27–37. (In Russ.)*]

9. Abdallah F., Mijouin L., Pichon C. Skin immune landscape: inside and outside the organism. *Mediators Inflamm.*, 2017, vol. 2017, Article ID 5095293, 17 pages. doi: 10.1155/2017/5095293
10. Adrover J.M., Nicolás-Ávila J.A., Hidalgo A. Aging: a temporal dimension for neutrophils. *Trends Immunol.*, 2016, vol. 37, iss. 5, pp. 334–345. doi: 10.1016/j.it.2016.03.005
11. Barker H., Aaltonen M., Pan P., Vähätupa M., Kaipainen P., May U., Prince S., Uusitalo-Järvinen H., Waheed A., Pastoreková S., Sly W.S., Parkkila S., Järvinen T.A. Role of carbonic anhydrases in skin wound healing. *Exp. Mol. Med.*, 2017, vol. 49, iss. 5: e334. doi: 10.1038/emm.2017.60
12. Barletta K.E., Cagnina R.E., Wallace K.L., Ramos S.I., Mehrad B., Linden J. Leukocyte compartments in the mouse lung: distinguishing between marginated, interstitial, and alveolar cells in response to injury. *J. Immunol. Methods*, 2012, vol. 375, iss. 1–2, pp. 100–110. doi: 10.1016/j.jim.2011.09.013
13. Bekeschus S., Lackmann J.W., Gümbel D., Napp M., Schmidt A., Wende K. A neutrophil proteomic signature in surgical trauma wounds. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, vol. 19, iss. 3: 761. doi: 10.3390/ijms19030761
14. Bekkering S., Torensma R. Another look at the life of a neutrophil. *World J. Hematol.*, 2013, vol. 2, iss. 2, pp. 44–58. doi: 10.5315/wjh.v2.i2.44
15. Bennowitz M.F., Watkins S.C., Sundd P. Quantitative intravital two-photon excitation microscopy reveals absence of pulmonary vaso-occlusion in unchallenged Sickle Cell Disease mice. *Intravital*, 2014, vol. 3, iss. 2: e29748. doi: 10.4161/intv.29748
16. Bernardini G., Ribatti D., Spinetti G., Morbidelli L., Ziche M., Santoni A., Capogrossi M.C., Napolitano M. Analysis of the role of chemokines in angiogenesis. *J. Immunol. Methods*, 2003, vol. 273, iss. 1–2, pp. 83–101. doi: 10.1016/S0022-1759(02)00420-9
17. Blasi F., Carmeliet P. uPAR: a versatile signalling orchestrator. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2002, vol. 3, pp. 932–943. doi: 10.1038/nrm977
18. Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. *Immunity*, 2010, vol. 33, iss. 5, pp. 657–670. doi: 10.1016/j.immuni.2010.11.011
19. Bos J.D., Kapsenberg M.L. The skin immune system its cellular constituents and their interactions. *Immunol. Today*, 1986, vol. 7, iss. 7–8, pp. 235–240. doi: 10.1016/0167-5699(86)90111-8
20. Bratton D.L., Henson P.M. Neutrophil clearance: when the party is over, clean-up begins. *Trends Immunol.*, 2011, vol. 32, iss. 8, pp. 350–357. doi: 10.1016/j.it.2011.04.009
21. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 2004, vol. 303, iss. 5663, pp. 1532–1535. doi: 10.1126/science.1092385
22. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 2001, vol. 414, iss. 6865, pp. 813–820. doi: 10.1038/414813a
23. Casanova-Acebes M., Nicolás-Ávila J.A., Li J.L., García-Silva S., Balachander A., Rubio-Ponce A., Weiss L.A., Adrover J.M., Burrows K., A-González N., Ballesteros I., Devi S., Quintana J.A., Crainiciuc G., Leiva M., Gunzer M., Weber C., Nagasawa T., Soehnlein O., Merad M., Mortha A., Ng L.G., Peinado H., Hidalgo A. Neutrophils instruct homeostatic and pathological states in naive tissue. *J. Exp. Med.*, 2018, vol. 215, no. 11, pp. 2778–2795. doi: 10.1084/jem.20181468
24. Casanova-Acebes M., Pitaval C., Weiss L.A., Nombela-Arrieta C., Chèvre R., A-González N., Kunisaki Y., Zhang D., van Rooijen N., Silberstein L.E., Weber C., Nagasawa T., Frenette P.S., Castrillo A., Hidalgo A. Rhythmic modulation of the hematopoietic niche through neutrophil clearance. *Cell*, 2013, vol. 153, iss. 5, pp. 1025–1035. doi: 10.1016/j.cell.2013.04.040
25. Christoffersson G., Phillipson M. The neutrophil: one cell on many missions or many cells with different agendas? *Cell Tissue Res.*, 2018, vol. 371, iss. 3, pp. 415–423. doi: 10.1007/s00441-017-2780-z
26. Darby I.A., Bisucci T., Hewitson T.D., MacLellan D.G. Apoptosis is increased in a model of diabetes-impaired wound healing in genetically diabetic mice. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 1997, vol. 29, iss. 1, pp. 191–200. doi: 10.1016/S1357-2725(96)00131-8
27. De Filippo K., Rankin S.M. CXCR4, the master regulator of neutrophil trafficking in homeostasis and disease. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2018, vol. 48, iss. 52, special iss.: Neutrophils: e12949. doi: 10.1111/eci.12949
28. Delgado-Rizo V., Martínez-Guzmán M.A., Iñiguez-Gutierrez L., García-Orozco A., Alvarado-Navarro A., Fafutis-Morris M. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: an overview. *Front. Immunol.*, 2017, vol. 8: 81. doi: 10.3389/fimmu.2017.00081
29. Devi S., Wang Y., Chew W.K., Lima R., A-González N., Mattar C.N., Chong S.Z., Schlitzer A., Bakocevic N., Chew S., Keeble J.L., Goh C.C., Li J.L., Evrard M., Malleret B., Larbi A., Renia L., Haniffa M., Tan S.M., Chan J.K., Balabanian K., Nagasawa T., Bachelier F., Hidalgo A., Ginhoux F., Kubers P., Ng L.G. Neutrophil mobilization via plerixafor-mediated CXCR4 inhibition arises from lung demargination and blockade of neutrophil homing to the bone marrow. *J. Exp. Med.*, 2013, vol. 210, no. 11, pp. 2321–2336. doi: 10.1084/jem.20130056
30. Diegelmann R.F. Excessive neutrophils characterize chronic pressure ulcers. *Wound Repair Regen.*, 2003, vol. 11, iss. 6, pp. 490–495. doi: 10.1046/j.1524-475X.2003.11617.x
31. Doerschuk C.M. Mechanisms of leukocyte sequestration in inflamed lungs. *Microcirculation*, 2001, vol. 8, iss. 2, pp. 71–88. doi: 10.1111/j.1549-8719.2001.tb00159.x
32. Doerschuk C.M., Beyers N., Coxson H.O., Wiggs B., Hogg J.C. Comparison of neutrophil and capillary diameters and their relation to neutrophil sequestration in the lung. *J. Appl. Physiol.*, 1993, vol. 74, iss. 6, pp. 3040–3045. doi: 10.1152/jappl.1993.74.6.3040
33. Eash K.J., Means J.M., White D.W., Link D.C. CXCR4 is a key regulator of neutrophil release from the bone marrow under basal and stress granulopoiesis conditions. *Blood*, 2009, vol. 113, iss. 19, pp. 4711–4719. doi: 10.1182/blood-2008-09-177287
34. Eash K.J., Greenbaum A.M., Gopalan P.K., Link D.C. CXCR2 and CXCR4 antagonistically regulate neutrophil trafficking from murine bone marrow. *J. Clin. Invest.*, 2010, vol. 120, iss. 7, pp. 2423–2431. doi: 10.1172/JCI41649
35. Eckert J.W., Abramson S.L., Starke J., Brandt M.L. The surgical implications of chronic granulomatous disease. *Am. J. Surg.*, 1995, vol. 169, iss. 3, pp. 320–323. doi: 10.1016/S0002-9610(99)80167-6
36. Ella K., Csépanyi-Kömi R., Káldi K. Circadian regulation of human peripheral neutrophils. *Brain Behav. Immun.*, 2016, vol. 57, pp. 209–221. doi: 10.1016/j.bbi.2016.04.016

37. Ella K., Mócsai A., Káldi K. Circadian regulation of neutrophils: control by a cell-autonomous clock or systemic factors? *Eur. J. Clin. Invest.*, 2018, vol. 48, iss. 52, special iss.: *Neutrophils: e12965*. doi: 10.1111/eci.12965
38. Ellis S., Lin E.J., Tartar D. Immunology of wound healing. *Curr. Dermatol. Rep.*, 2018, vol. 7, iss. 4, pp. 350–358. doi: 10.1007/s13671-018-0234-9
39. Evans E., Kukan B. Passive material behavior of granulocytes based on large deformation and recovery after deformation tests. *Blood*, 1984, vol. 64, iss. 5, pp. 1028–1035.
40. Evans E., Yeung A. Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipet aspiration. *Biophys. J.*, 1989, vol. 56, iss. 1, pp. 151–160. doi: 10.1016/S0006-3495(89)82660-8
41. Fadini G.P., Menegazzo L., Rigato M., Scattolini V., Poncina N., Bruttocao A., Ciciliot S., Mammano F., Ciubotaru C.D., Brocco E., Marescotti M.C., Cappellari R., Arrigoni G., Million R., Vigili de Kreutzenberg S., Albiero M., Avogaro A. NETosis delays diabetic wound healing in mice and humans. *Diabetes*, 2016, vol. 65, iss. 4, pp. 1061–1071. doi: 10.2337/db15-0863
42. Fadok V.A., Bratton D.L., Konowal A., Freed P.W., Westcott J.Y., Henson P.M. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF-beta, PGE2, and PAF. *J. Clin. Invest.*, 1998, vol. 101, iss. 4, pp. 890–898. doi: 10.1172/jci1112
43. Fraser J.A., Kemp S., Young L., Ross M., Prach M., Hutchison G.R., Malone E. Silver nanoparticles promote the emergence of heterogeneous human neutrophil sub-populations. *Sci. Rep.*, 2018, vol. 8: 7506. doi: 10.1038/s41598-018-25854-2
44. Gabriele S., Benoliel A.M., Bongrand P., Theodoly O. Microfluidic investigation reveals distinct roles for actin cytoskeleton and myosin II activity in capillary leukocyte trafficking. *Biophys. J.*, 2009, vol. 96, iss. 10, pp. 4308–4318. doi: 10.1016/j.bpj.2009.02.037
45. Garley M., Jabłońska E. Heterogeneity among neutrophils. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2018, vol. 66, iss. 1, pp. 21–30. doi: 10.1007/s00005-017-0476-4
46. Gebb S.A., Graham J.A., Hanger C.C., Godbey P.S., Capen R.L., Doerschuk C.M., Wagner W.W. Jr. Sites of leukocyte sequestration in the pulmonary microcirculation. *J. Appl. Physiol.*, 1995, vol. 79, iss. 2, pp. 493–497. doi: 10.1152/jappl.1995.79.2.493
47. Gillitzer R., Goebeler M. Chemokines in cutaneous wound healing. *J. Leukoc. Biol.*, 2001, vol. 69, iss. 4, pp. 513–521. doi: 10.1189/jlb.69.4.513
48. Hajishengallis E., Hajishengallis G. Neutrophil homeostasis and periodontal health in children and adults. *J. Dent. Res.*, 2014, vol. 93, iss. 3, pp. 231–237. doi: 10.1177/0022034513507956
49. Hinz B., Mastrangelo D., Iselin C.E., Chaponnier C., Gabbiani G. Mechanical tension controls granulation tissue contractile activity and myofibroblast differentiation. *Am. J. Pathol.*, 2001, vol. 159, iss. 3, pp. 1009–1020. doi: 10.1016/S0002-9440(10)61776-2
50. Hirschfeld J. Dynamic interactions of neutrophils and biofilms. *J. Oral Microbiol.*, 2014, vol. 6: 26102. doi: 10.3402/jom.v6.26102
51. Holm A., Vikstrom E. Quorum sensing communication between bacteria and human cells: signals, targets, and functions. *Front. Plant Sci.*, 2014, vol. 5, article 309. doi: 10.3389/fpls.2014.00309
52. Hong C.W. Current understanding in neutrophil differentiation and heterogeneity. *Immune Netw.*, 2017, vol. 17, iss. 5, pp. 298–306. doi: 10.4110/in.2017.17.5.298
53. Huang Y., Doerschuk C.M., Kamm R.D. Computational modeling of RBC and neutrophil transit through the pulmonary capillaries. *J. Appl. Physiol.*, 2001, vol. 90, iss. 2, pp. 545–564. doi: 10.1152/jappl.2001.90.2.545
54. Irie Y., Parsek M.R. Quorum sensing and microbial biofilms. *Cur. Top. Microbiol. Immunol.*, 2008, vol. 322, pp. 67–84. doi: 10.1007/978-3-540-75418-3_4
55. James G.A., Swogger E., Wolcott R., Pulcini Ed., Secor P., Sestrich J., Costerton J.W., Stewart P.S. Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen.*, 2008, vol. 16, iss. 1, pp. 37–44. doi: 10.1111/j.1524-475X.2007.00321.x
56. Johnson T.R., Gómez B.I., McIntyre M.K., Dubick M.A., Christy R.J., Nicholson S.E., Burmeister D.M. The cutaneous microbiome and wounds: new molecular targets to promote wound healing. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, vol. 19, iss. 9: 2699. doi: 10.3390/ijms19092699
57. Karlsson T., Musse F., Magnusson K.E., Vikstrom E. N-acylhomoserine lactones are potent neutrophil chemoattractants that act via calcium mobilization and actin remodeling. *J. Leukoc. Biol.*, 2012, vol. 91, iss. 1, pp. 15–26. doi: 10.1189/jlb.0111034
58. Khanna S., Biswas S., Shang Y., Collard E., Azad A., Kauh C., Bhasker V., Gordillo G.M., Sen C.K., Roy S. Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice. *PLoS One*, 2010, vol. 5, iss. 3: e9539. doi: 10.1371/journal.pone.0009539
59. Köhler A., De Filippo K., Hasenberg M., van den Brandt C., Nye E., Hosking M.P., Lane T.E., Männ L., Ransohoff R.M., Hauser A.E., Winter O., Schraven B., Geiger H., Hogg N., Gunzer M. G-CSF-mediated thrombopoietin release triggers neutrophil motility and mobilization from bone marrow via induction of CXCR2 ligands. *Blood*, 2011, vol. 117, iss. 16, pp. 4349–4357. doi: 10.1182/blood-2010-09-308387
60. Kolaczowska E., Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013, vol. 13, pp. 159–175. doi: 10.1038/nri3399
61. Kovtun A., Messerer D.A.C., Scharffetter-Kochanek K., Huber-Lang M., Ignatius A. Neutrophils in tissue trauma of the skin, bone, and lung: two sides of the same coin. *J. Immunol. Res.*, 2018, vol. 2018: 8173983. doi: 10.1155/2018/8173983
62. Kreisel D., Nava R.G., Li W., Zinselmeyer B.H., Wang B., Lai J., Pless R., Gelman A.E., Krupnick A.S., Miller M.J. In vivo two-photon imaging reveals monocyte-dependent neutrophil extravasation during pulmonary inflammation. *PNAS*, 2010, vol. 107, no. 42, pp. 18073–18078. doi: 10.1073/pnas.1008737107
63. Kruger P., Saffarzadeh M., Weber A.N., Rieber N., Radsak M., von Bernuth H., Benarafa C., Roos D., Skokowa J., Hartl D. Neutrophils: between host defence, immune modulation, and tissue injury. *PLoS Pathog.*, 2015, vol. 11, iss. 3: e1004651. doi: 10.1371/journal.ppat.1004651
64. Kubes P. The enigmatic neutrophil: what we do not know. *Cell Tissue Res.*, 2018, vol. 371, iss. 3, pp. 399–406. doi: 10.1053/j.gastro.2015.10.027
65. Kume A., Dinauer M.C. Gene therapy for chronic granulomatous disease. *J. Lab. Clin. Med.*, 2000, vol. 135, iss. 2, pp. 122–128. doi: 10.1067/mlc.2000.104458

66. Lahoz-Beneytez J., Elemans M., Zhang Y., Ahmed R., Salam A., Block M., Niederalt C., Asquith B., Macallan D. Human neutrophil kinetics: modeling of stable isotope labeling data supports short blood neutrophil half-lives. *Blood*, 2016, vol. 127, iss. 26, pp. 3431–3438. doi: 10.1182/blood-2016-03-700336
67. Landén N.X., Li D., Ståhle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2016, vol. 73, iss. 20, pp. 3861–3885. doi: 10.1007/s00018-016-2268-0
68. Larouche J., Sheoran S., Maruyama K., Martino M.M. Immune regulation of skin wound healing: mechanisms and novel therapeutic targets. *Adv. Wound Care*, 2018, vol. 7, no. 7, pp. 209–231. doi: 10.1089/wound.2017.0761
69. Lee J.S., Donahoe M.P. Hematologic abnormalities and acute lung syndromes. *Springer International Publishing Switzerland*, 2017. 265 p. doi: 10.1007/978-3-319-41912-1
70. Lekstrom-Himes J.A., Gallin J.I. Immunodeficiency diseases caused by defects in phagocytes. *N. Engl. J. Med.*, 2000, vol. 343, iss. 23, pp. 1703–1714. doi: 10.1056/NEJM200012073432307
71. Li L., Zhang Y., Qiao J., Yang J.J., Liu Z.R. Pyruvate kinase M2 in blood circulation facilitates tumor growth by promoting angiogenesis. *J. Biol. Chem.*, 2014, vol. 289, no. 37, pp. 25812–25821. doi: 10.1074/jbc.M114.576934
72. Looney M.R., Thornton E.E., Sen D., Lamm W.J., Glenny R.W., Krummel M.F. Stabilized imaging of immune surveillance in the mouse lung. *Nat. Methods.*, 2011, vol. 8, iss. 1, pp. 91–96. doi: 10.1038/nmeth.1543
73. Luo B., Wang J., Liu Z., Shen Z., Shi R., Liu Y.Q., Liu Y., Jiang M., Wu Y., Zhang Z. Phagocyte respiratory burst activates macrophage erythropoietin signaling to promote acute inflammation resolution. *Nat. Commun.*, 2016, vol. 7: 12177. doi: 10.1038/ncomms12177
74. Manda A., Pruchniak M.P., Arażna M., Demkow U.A. Neutrophil extracellular traps in physiology and pathology. *Cent. Eur. J. Immunol.*, 2014, vol. 39, iss. 1, pp. 116–121. doi: 10.5114/ceji.2014.42136
75. Mann E.R., Smith K.M., Bernardo D., Al-Hassi H.O., Knight S.C., Hart A.L. Review: Skin and the immune system. *J. Clin. Exp. Dermatol. Res.*, 2012, S2: 003. doi: 10.4172/2155-9554.S2-003
76. McDaniel J.C., Roy S., Wilgus T.A. Neutrophil activity in chronic venous leg ulcers — a target for therapy? *Wound Repair Regen.*, 2013, vol. 21, iss. 3, pp. 339–351. doi: 10.1111/wrr.12036
77. Mercier F.E., Ragu C., Scadden D.T. The bone marrow at the crossroads of blood and immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011, vol. 12, iss. 1, pp. 49–60. doi: 10.1038/nri3132
78. Meyle E., Stroth P., Gunther F., Hoppy-Tichy T., Wagner C., Hänsch G.M. Destruction of bacterial biofilms by polymorphonuclear neutrophils: relative contribution of phagocytosis, DNA release, and degranulation. *Int. J. Artif. Organs.*, 2010, vol. 33, iss. 9, pp. 608–620. doi: 10.1177/039139881003300906
79. Midgley A.C., Rogers M., Hallett M.B., Clayton A., Bowen T., Phillips A.O., Steadman R. Transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1)-stimulated fibroblast to myofibroblast differentiation is mediated by hyaluronan (HA)-facilitated epidermal growth factor receptor (EGFR) and CD44 co-localization in lipid rafts. *J. Biol. Chem.*, 2013, vol. 288, no. 21, pp. 14824–14838. doi: 10.1074/jbc.M113.451336
80. Moir E., Booth N.A., Bennett B., Robbie L.A. Polymorphonuclear leucocytes mediate endogenous thrombus lysis via a u-PA-dependent mechanism. *Br. J. Haematol.*, 2001, vol. 113, iss. 1, pp. 72–80. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.02696.x
81. Moor A.N., Vachon D.J., Gould L.J. Proteolytic activity in wound fluids and tiss. derived from chronic venous leg ulcers. *Wound Repair Regen.*, 2009, vol. 17, iss. 6, pp. 832–839. doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00547.x
82. Mustoe T. Understanding chronic wounds: A unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy. *Am. J. Surg.*, 2004, vol. 187, iss. 5, suppl. 1, pp. S65–S70. doi: 10.1016/S0002-9610(03)00306-4
83. Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities. *Nat. Rev. Immunol.*, 2006, vol. 6, iss. 3, pp. 173–182. doi: 10.1038/nri1785
84. Nestle F.O., Di Meglio P., Qin J.Z., Nickoloff B.J. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009, vol. 9, iss. 10, pp. 679–691. doi: 10.1038/nri2622
85. Nicolás-Ávila J.Á., Adrover J.M., Hidalgo A. Neutrophils in homeostasis, immunity, and cancer. *Immunity*, 2017, vol. 46, iss. 1, pp. 15–28. doi: 10.1016/j.immuni.2016.12.012
86. Omar A., Wright J.B., Schultz G., Burrell R., Nadworny P. Microbial biofilms and chronic wounds. *Microorganisms*, 2017, vol. 5, iss. 1: 9, 15 pages. doi: 10.3390/microorganisms5010009
87. Ortmann W., Kolaczowska E. Age is the work of art? Impact of neutrophil and organism age on neutrophil extracellular trap formation. *Cell Tissue Res.*, 2018, vol. 371, iss. 3, pp. 473–488. doi: 10.1007/s00441-017-2751-4
88. Patel B.V., Tatham K.C., Wilson M.R., O’Dea K.P., Takata M. In vivo compartmental analysis of leukocytes in mouse lungs. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2015, vol. 309, iss. 7, pp. L639–L652. doi: 10.1152/ajplung.00140.2015
89. Perobelli S.M., Galvani R.G., Gonçalves-Silva T., Xavier C.R., Nóbrega A., Bonomo A. Plasticity of neutrophils reveals modulatory capacity. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2015, vol. 48, no. 8, pp. 665–675. doi: 10.1590/1414-431X20154524
90. Pillay J., den Braber I., Vrisekoop N., Kwast L.M., de Boer R.J., Borghans J.A., Tesselaar K., Koenderman L. In vivo labeling with ²H₂O reveals a human neutrophil lifespan of 5.4 days. *Blood*, 2010, vol. 116, iss. 4, pp. 625–627. doi: 10.1182/blood-2010-01-259028
91. Qing C. The molecular biology in wound healing & non-healing wound. *Chin. J. Traumatol.*, 2017, vol. 20, iss. 4, pp. 189–193. doi: 10.1016/j.cjtee.2017.06.001
92. Rhee S.G. Redox signaling: hydrogen peroxide as intracellular messenger. *Exp. Mol. Med.*, 1999, vol. 31, pp. 53–59. doi: 10.1038/emmm.1999.9
93. Ridiandries A., Tan J.T.M., Bursill C.A. The role of chemokines in wound healing. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, vol. 19, iss. 10: 3217. doi: 10.3390/ijms19103217
94. Robbins P.B., Lin Q., Goodnough J.B., Tian H., Chen X., Khavari P.A. In vivo restoration of laminin 5 beta 3 expression and function in junctional epidermolysis bullosa. *PNAS*, 2001, vol. 98, iss. 9, pp. 5193–5198. doi: 10.1073/pnas.091484998
95. Rosales C. Neutrophil: a cell with many roles in inflammation or several cell types? *Front. Physiol.*, 2018, vol. 9: 113. doi: 10.3389/fphys.2018.00113

96. Rossaint J., Zarbock A. Tissue-specific neutrophil recruitment into the lung, liver, and kidney. *J. Innate Immun.*, 2013, vol. 5, no. 4, pp. 348–357. doi: 10.1159/000345943
97. Roy S., Khanna S., Nallu K., Hunt T.K., Sen C.K. Dermal wound healing is subject to redox control. *Mol. Ther.*, 2006, vol. 13, iss. 1, pp. 211–220. doi: 10.1016/j.yymthe.2005.07.684
98. Scapini P., Cassatella M.A. Social networking of human neutrophils within the immune system. *Blood*, 2014, vol. 124, iss. 5, pp. 710–719. doi: 10.1182/blood-2014-03-453217
99. Sen C.K. The general case for redox control of wound repair. *Wound Repair Regen.*, 2003, vol. 11, iss. 6, pp. 431–438. doi: 10.1046/j.1524-475X.2003.11607.x
100. Sen C.K. Wound healing essentials: let there be oxygen. *Wound Repair Regen.*, 2009, vol. 17, iss. 1, pp. 1–18. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00436.x
101. Sen C.K., Roy S. Redox signals in wound healing. *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.*, 2008, vol. 1780, iss. 11, pp. 1348–1361. doi: 10.1016/j.bbagen.2008.01.006
102. Serhan C.N., Chiang N., Van Dyke T.E. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008, vol. 8, iss. 5, pp. 349–361. doi: 10.1038/nri2294
103. Silvestre-Roig C., Hidalgo A., Soehnlein O. Neutrophil heterogeneity: implications for homeostasis and pathogenesis. *Blood*, 2016, vol. 127, iss. 18, pp. 2173–81. doi: 10.1182/blood-2016-01-688887
104. Sorensen O.E., Cowland J.B., Theilgaard-Monch K., Liu L., Ganz T., Borregaard N. Wound healing and expression of antimicrobial peptides/polypeptides in human keratinocytes, a consequence of common growth factors. *J. Immunol.*, 2003, vol. 170, iss. 11, pp. 5583–5589. doi: 10.4049/jimmunol.170.11.5583
105. Stark M.A., Huo Y., Burcin T.L., Morris M.A., Olson T.S., Ley K. Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates granulopoiesis via IL-23 and IL-17. *Immunity*, 2005, vol. 22, iss. 3, pp. 285–294. doi: 10.1016/j.immuni.2005.01.011
106. Summers C., Rankin S.M., Condliffe A.M., Singh N., Peters A.M., Chilvers E.R. Neutrophil kinetics in health and disease. *Trends Immunol.*, 2010, vol. 31, iss. 8, pp. 318–324. doi: 10.1016/j.it.2010.05.006
107. Summers C., Singh N.R., White J.F., Mackenzie I.M., Johnston A., Solanki C., Balan K.K., Peters A.M., Chilvers E.R. Pulmonary retention of primed neutrophils: a novel protective host response, which is impaired in the acute respiratory distress syndrome. *Thorax*, 2014, vol. 69, iss. 7, pp. 623–629. doi: 10.1136/thoraxjnl-2013-204742
108. Tak T., Tesselaar K., Pillay J., Borghans J.A., Koenderman L. What's your age again? Determination of human neutrophil half-lives revisited. *J. Leukoc. Biol.*, 2013, vol. 94, iss. 4, pp. 595–601. doi: 10.1189/jlb.1112571
109. Tamassia N., Bianchetto-Aguilera F., Arruda-Silva F., Gardiman E., Gasperini S., Calzetti F., Cassatella M.A. Cytokine production by human neutrophils: revisiting the “dark side of the moon”. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2018, vol. 48, iss. 52, *Special Issue: Neutrophils: e12952*. doi: 10.1111/eci.12952
110. Theilgaard-Monch K., Knudsen S., Follin P., Borregaard N. The transcriptional activation program of human neutrophils in skin lesions supports their important role in wound healing. *J. Immunol.*, 2004, vol. 172, iss. 12, pp. 7684–7693. doi: 10.4049/jimmunol.172.12.7684
111. Thomson C.H. Biofilms: Do they affect wound healing? *Int. Wound J.*, 2011, vol. 8, iss. 1, pp. 63–67. doi: 10.1111/j.1742-481X.2010.00749.x
112. Thornton R.B., Wiertsema S.P., Kirkham L.A., Rigby P.J., Vijayasekaran S., Coates H.L., Richmond P.C. Neutrophil extracellular traps and bacterial biofilms in middle ear effusion of children with recurrent acute otitis media – a potential treatment target. *PLoS One*, 2013, vol. 8, iss. 2: e53837. doi: 10.1371/journal.pone.0053837
113. Uhl B., Vadlauer Y., Zuchtriegel G., Nekolla K., Sharaf K., Gaertner F., Massberg S., Krombach F., Reichel C.A. Aged neutrophils contribute to the first line of defense in the acute inflammatory response. *Blood*, 2016, vol. 128, iss. 19, pp. 2327–2337. doi: 10.1182/blood-2016-05-718999
114. Von Vietinghoff S., Ley K. Homeostatic regulation of blood neutrophil counts. *J. Immunol.*, 2008, vol. 181, iss. 8, pp. 5183–5188. doi: 10.4049/jimmunol.181.8.5183
115. Wang J. Neutrophils in tissue injury and repair. *Cell Tissue Res.*, 2018, vol. 371, iss. 3, pp. 531–539. doi: 10.1007/s00441-017-2785-7
116. Wang J., Hossain M., Thanabalasuriar A., Gunzer M., Meininger C., Kubes P. Visualizing the function and fate of neutrophils in sterile injury and repair. *Science*, 2017, vol. 358, iss. 6359, pp. 111–116. doi: 10.1126/science.aam9690
117. Widgerow A.D. Cellular resolution of inflammation – catabasis. *Wound Repair Regen.*, 2012, vol. 20, iss. 1, pp. 2–7. doi: 10.1111/j.1524-475X.2011.00754.x
118. Wilgus T.A., Roy S., McDaniel J.C. Neutrophils and wound repair: positive actions and negative reactions. *Adv. Wound Care*, 2013, vol. 2, no. 7, pp. 379–388. doi: 10.1089/wound.2012.0383
119. Wilkes M.C., Mitchell H., Penheiter S.G., Dore J.J., Suzuki K., Edens M., Sharma D.K., Pagano R.E., Leof E.B. Transforming growth factor-beta activation of phosphatidylinositol 3-kinase is independent of Smad2 and Smad3 and regulates fibroblast responses via p21-activated kinase-2. *Cancer Res.*, 2005, vol. 65, iss. 22, pp. 10431–10440. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1522
120. Wu Y.K., Cheng N.C., Cheng C.M. Biofilms in chronic wounds: pathogenesis and diagnosis. *Trends Biotechnol.*, 2019, vol. 37, iss. 5, pp. 505–517. doi: 10.1016/j.tibtech.2018.10.011
121. Wu Y.S., Chen S.N. Apoptotic cell: linkage of inflammation and wound healing. *Front. Pharmacol.*, 2014, vol. 5: 1. doi: 10.3389/fphar.2014.00001
122. Yager D.R., Kulina R.A., Gilman L.A. Wound fluids: a window into the wound environment? *Int. J. Low. Extrem. Wounds.*, 2007, vol. 6, iss. 4, pp. 262–272. doi: 10.1177/1534734607307035
123. Yipp B.G., Kim J.H., Lima R., Zbytnuik L.D., Petri B., Swanlund N., Ho M., Szeto V.G., Tak T., Koenderman L., Pickkers P., Tool A.T.J., Kuijpers T.W., van den Berg T.K., Looney M.R., Krummel M.F., Kubes P. The lung is a host defense niche for immediate neutrophil-mediated vascular protection. *Sci. Immunol.*, 2017, vol. 2, iss. 10: eaam8929. doi: 10.1126/sciimmunol.aam8929
124. Yipp B.G., Kubes P. NETosis: how vital is it? *Blood*, 2013, vol. 122, iss. 16, pp. 2784–2794. doi: 10.1182/blood-2013-04-457671

125. Zhang D., Chen G., Manwani D., Mortha A., Xu C., Faith J.J., Burk R.D., Kunisaki Y., Jang J.E., Scheiermann C., Merad M., Frenette P.S. Neutrophil ageing is regulated by the microbiome. *Nature*, 2015, vol. 525, iss. 7570, pp. 528–532. doi: 10.1038/nature15367
126. Zhang Y. Functions of extracellular pyruvate kinase M2 in tissue repair and regeneration. *Georgia State University*, 2016. 155 p.
127. Zhang Y., Li L., Liu Y., Liu Z.R. PKM2 released by neutrophils at wound site facilitates early wound healing by promoting angiogenesis. *Wound Repair Regen.*, 2016, vol. 24, iss. 2, pp. 328–336. doi: 10.1111/wrr.12411
128. Zhao R., Liang H., Clarke E., Jackson C., Xue M. Inflammation in chronic wounds. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, vol. 17, iss. 12: 2085. doi: 10.3390/ijms17122085

Авторы:

Долгушин И.И., д.м.н., профессор, Президент ФГБОУ Южно-Уральский государственный медицинский университет (ФГБОУ ВО ЮУГМУ) Минздрава России, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики, г. Челябинск, Россия;

Мезенцева Е.А., к.м.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, г. Челябинск, Россия.

Authors:

Dolgushin I.I., PhD, MD (Medicine), Professor, President of South-Ural State Medical University, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation;

Mezentseva E.A., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics, South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation.

Поступила в редакцию 26.07.2019
Отправлена на доработку 20.11.2019
Принята к печати 26.11.2019

Received 26.07.2019
Revision received 20.11.2019
Accepted 26.11.2019