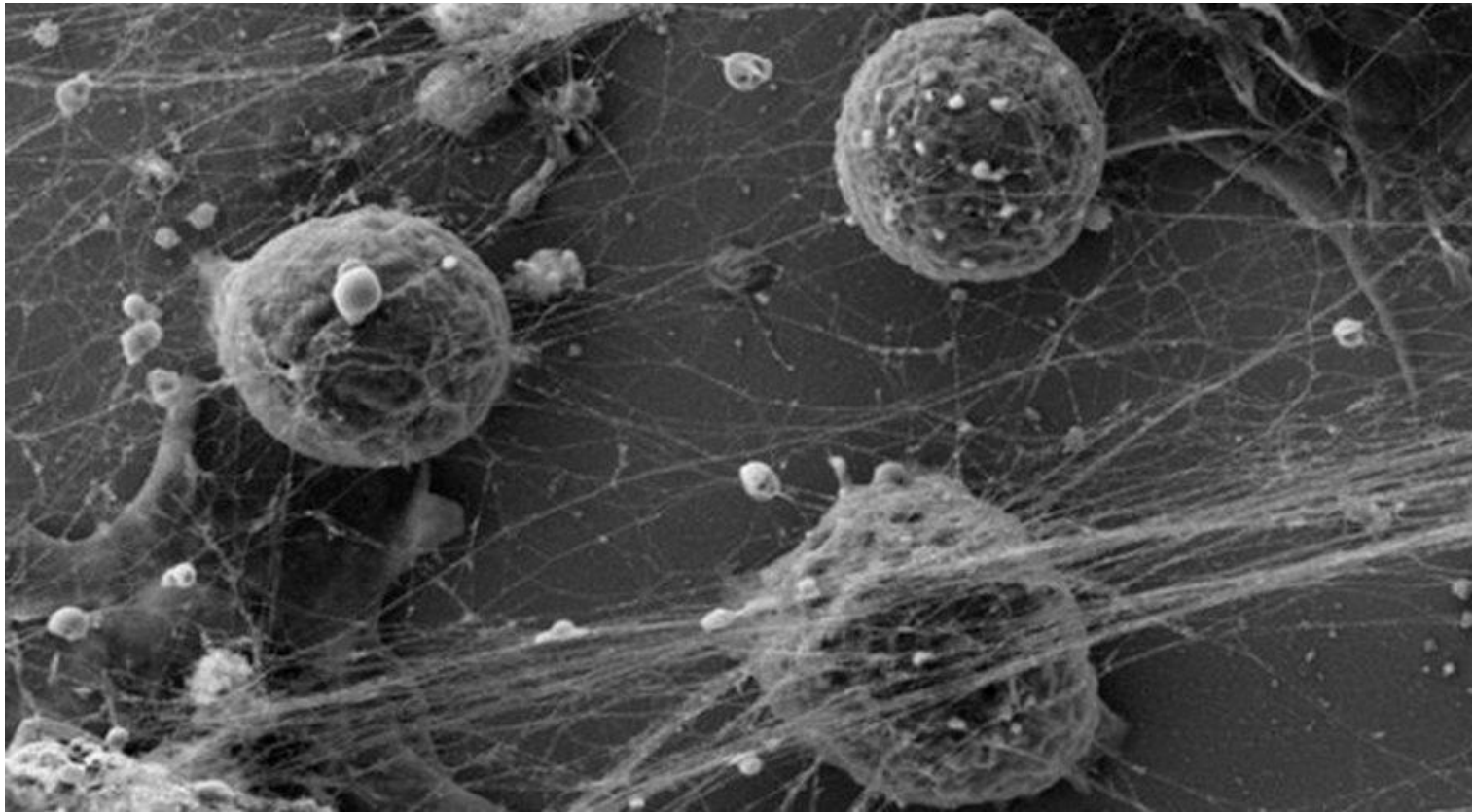


Генетическое оружие нейтрофила

АВТОР АНДРЕЙ САВАТЕЕВ



НЕТОЗ

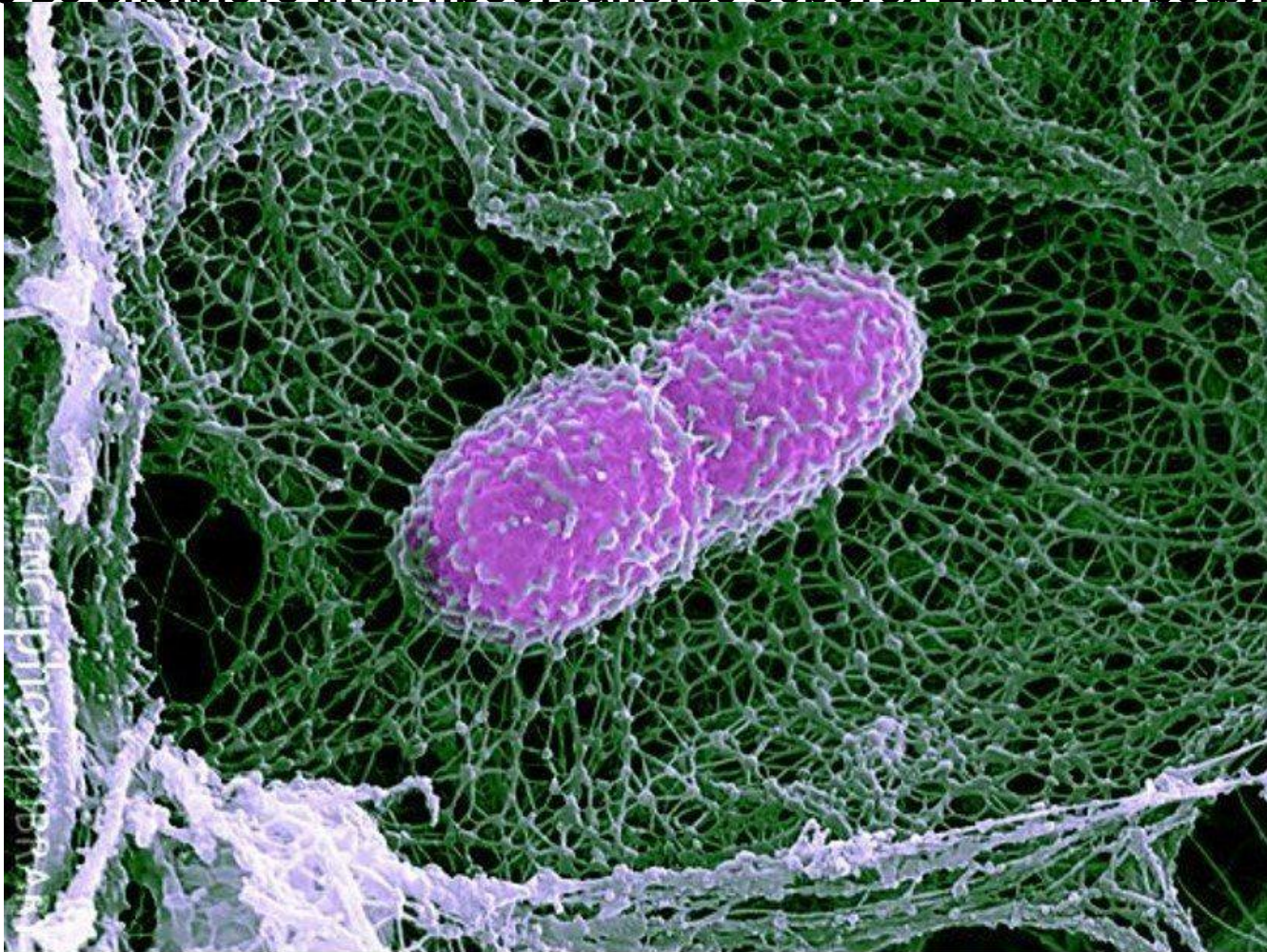
- Слышали ли вы когда-нибудь о том, что нейтрофилы могут охотиться на бактерий при помощи своей ДНК? Скорее всего, нет, так как этот феномен открыли лишь 10 лет назад.
- Этот акт охоты сопряжен с самоубийством клетки, и он настолько примечателен, что исследователи придумали для него отдельный термин – **нетоз**. Это по аналогии с апоптозом и некрозом, двумя другими формами клеточной гибели.
- Слово нетоз происходит от английского **Neutrophil Extracellular Trap (NET)**, внеклеточная ловушка нейтрофила. Фактически – это сеть из переплетенных нитей ДНК нейтрофила, перемешанных с гистоновыми белками и различными антимикробными молекулами из его гранул.
- Эта сеть (NET) обладает электростатическим зарядом, который, как считается, удерживает бактерии, попавшие в нее.

Что такое внеклеточная ловушка?

Ее настоящее название – *Neutrophil Extracellular Trap (NET)*, то внеклеточная ловушка нейтрофила. Это удивительное изобретение Природы, наделившей молекулу ДНК и упаковывающих ее белков-гистонов необычными функциями – чем-то вроде клейкой ленты для мух. В ответ на присутствие патогенных микроорганизмов, а также особых сигналов от ткани нейтрофил может пожертвовать собой, «выплюнув» паутину, сотканную из их собственной ДНК и гистонов во внеклеточное пространство. Бактерии запутываются в этой паутине и становятся легкой добычей для фагоцитов. Кроме того, сама молекула ДНК и гистоны, которых «в норме» во внеклеточном пространстве быть не должно, привлекают к себе внимание иммунных клеток и служат дополнительными стимуляторами иммунного ответа.

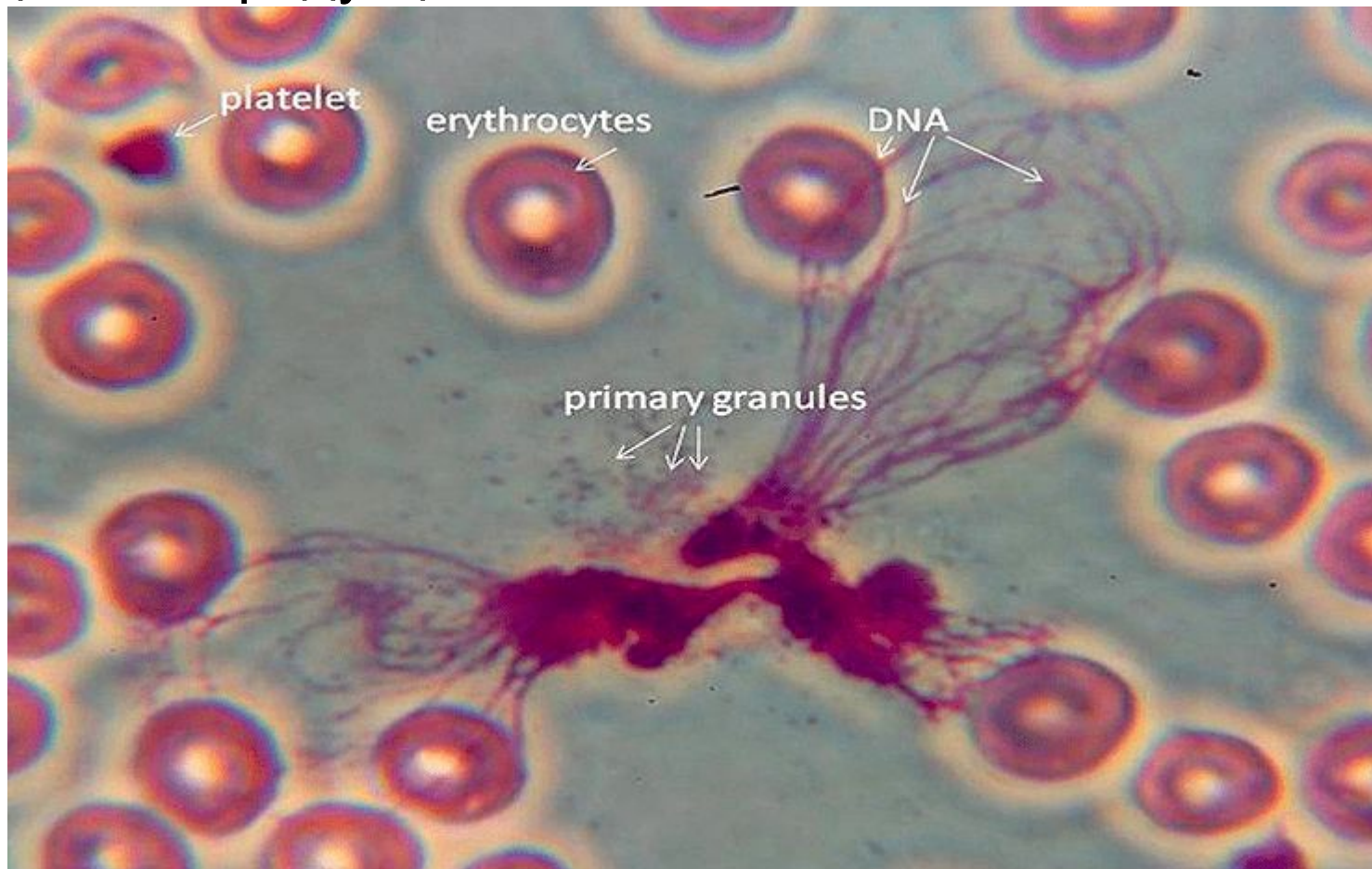
Оказавшаяся в сети бактерия обездвиживается и становится легкой добычей для макрофагов, следующих в очаг воспаления вслед за нейтрофилами.

Откуда же во внеклеточном пространстве берется ДНК нейтрофила?



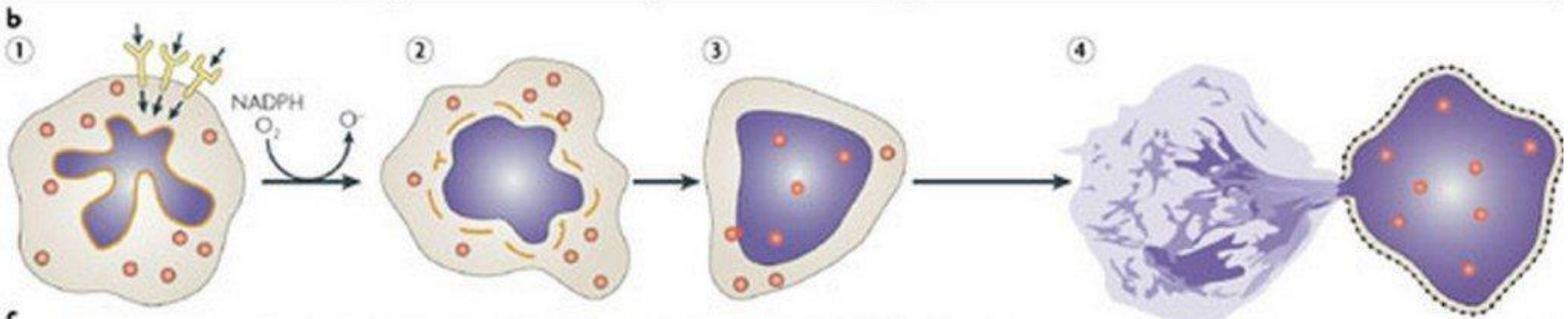
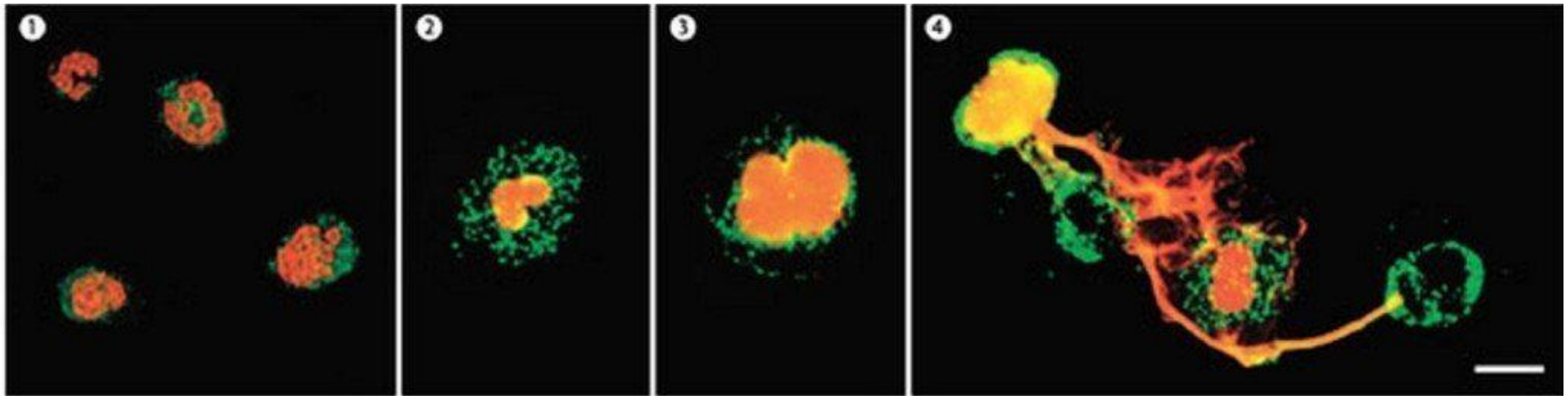
Klebsiella pneumoniae in NET

Добравшийся до очага воспаления нейтрофил активируется под воздействием провоспалительного микроокружения. Эта активация «включает» в нем программы фагоцитоза, синтеза антимикробных веществ и продукции NET.



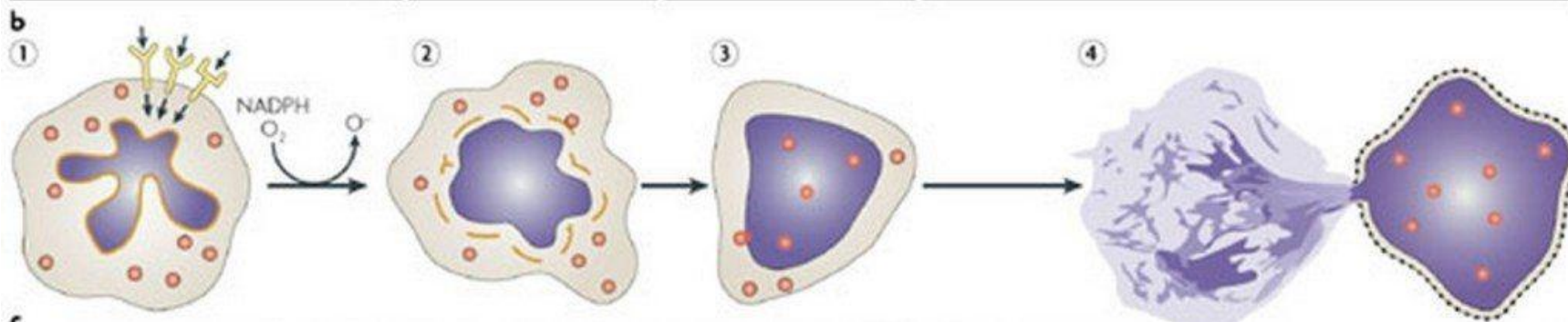
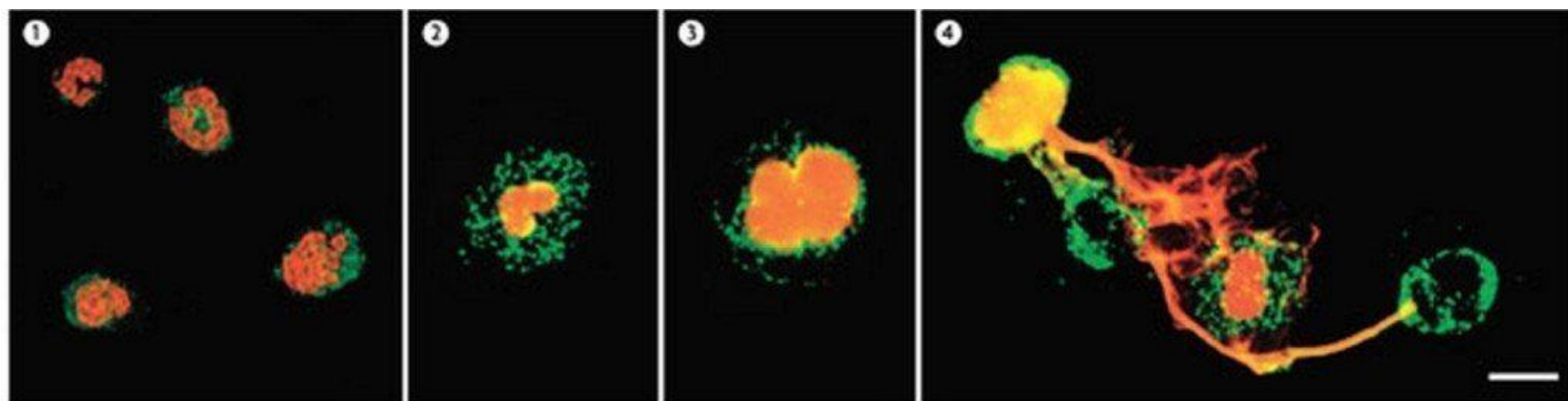
На первом этапе активированная клетка уплощается и прикрепляется к ближайшей поверхности.

Затем сегменты ядра сливаются в одно целое, а мембрана ядра фрагментируется. Одновременно разрушаются гранулы, хранящие ферменты и антимикробные молекулы. В результате – ДНК нейтрофила, ядерные белки (*гистоны*) и молекулы гранул смешиваются, образуя рыхлую массу, сдерживаемую только плазматической мембраной.



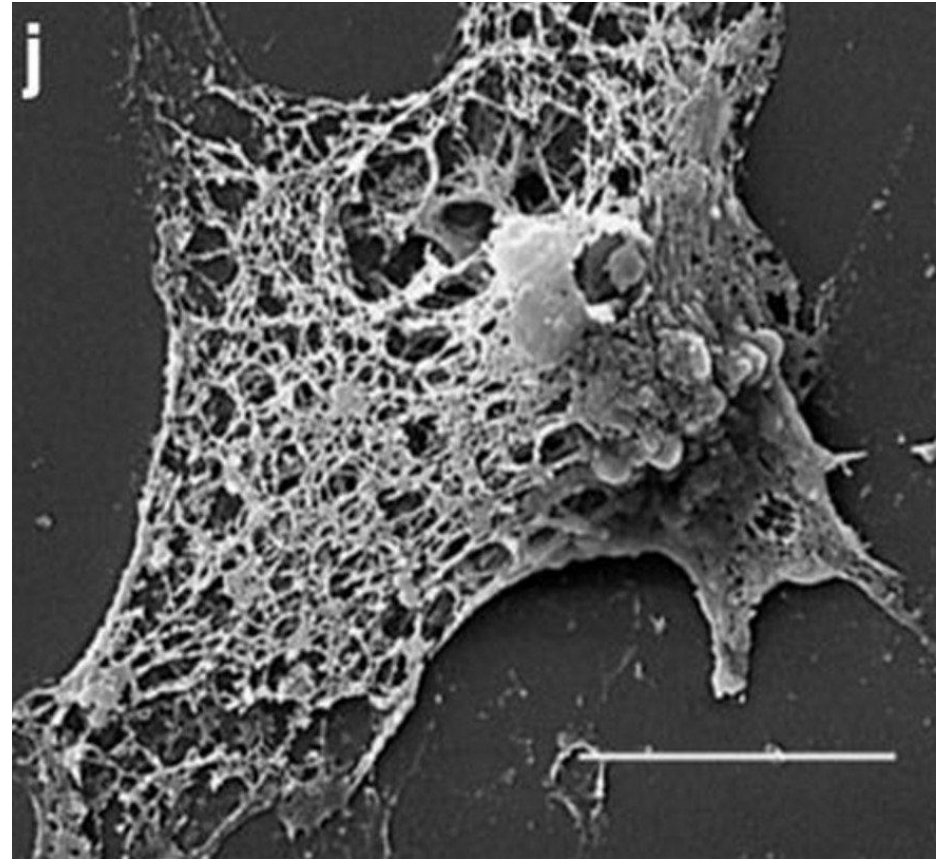
c

Дальше нейтрофил сокращает нити цитоскелета до тех пор, пока мембрана не рвется, и масса вырывается наружу, раскрываясь в виде облака из паутины молекул. На этом жизнь нейтрофила заканчивается.



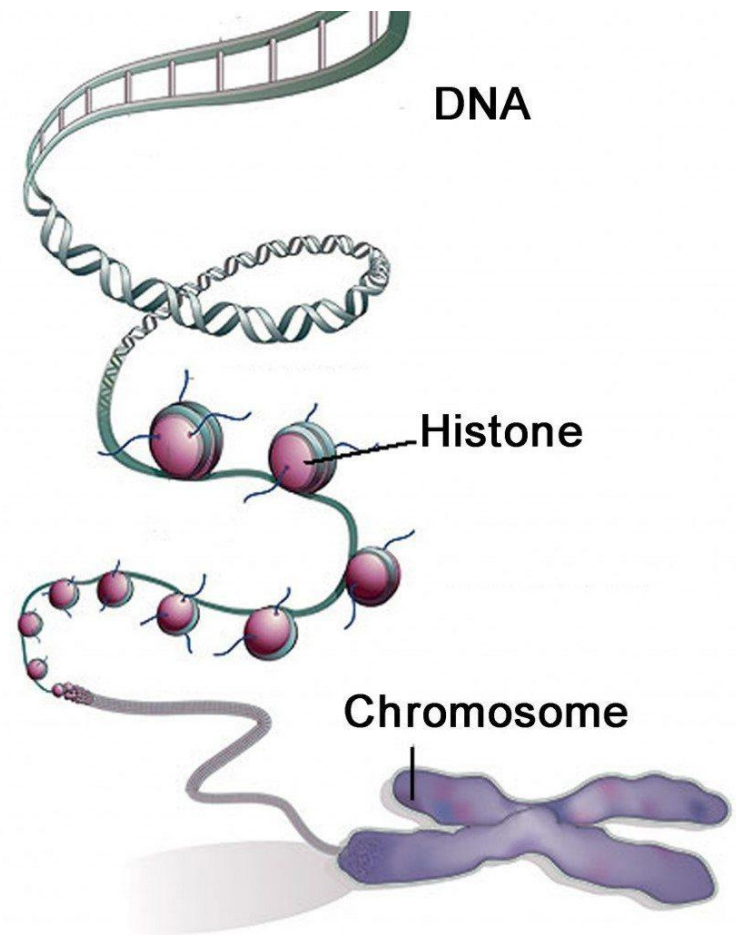
c

Интересная особенность – для начала формирования NET нейтрофилу нужно к чему-нибудь прикрепиться, то есть он должен находится в ткани, либо возле эндотелиоцита. Контроль прикрепления осуществляется рецепторами адгезии, например, MАС-1. Они же служат «предохранителями боезаряда». Во взвешенном состоянии (*то есть с выключенным MАС-1*) нейтрофил не «взрывается». Видимо, это задумано природой для того, чтобы такие «липкие» сети не появлялись в кровотоке, что было бы чревато тромбами.

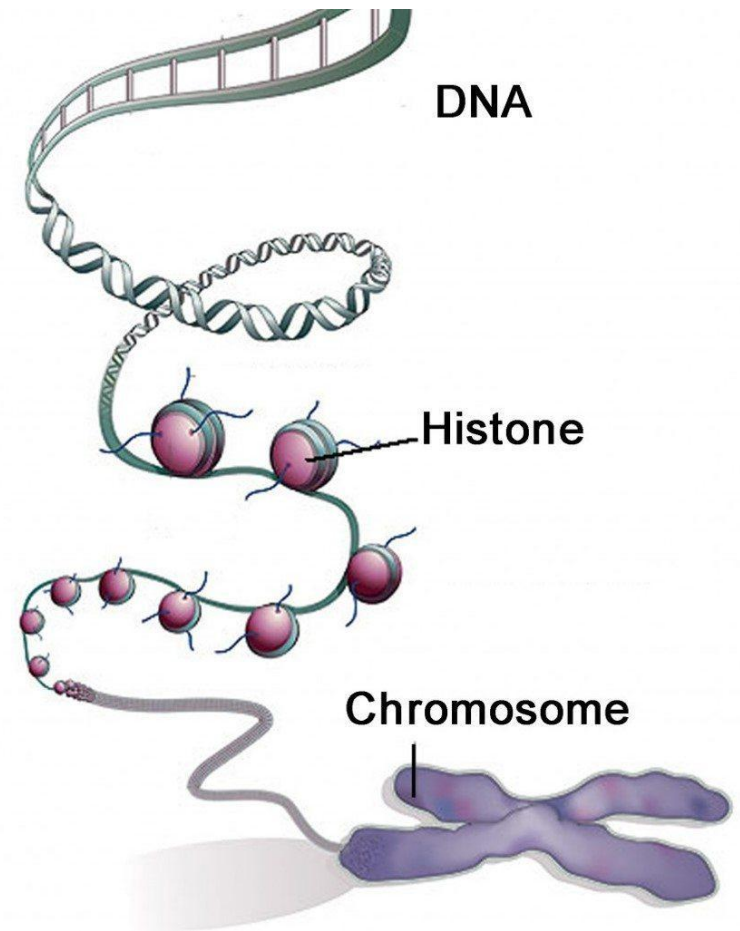


Сеть не только обездвиживает бактерии. Входящие в ее состав молекулы инактивируют вирулентные факторы патогена, а некоторые обладают и прямым бактерицидным действием, например, протеолитические ферменты, дефенсины и даже гистоны.

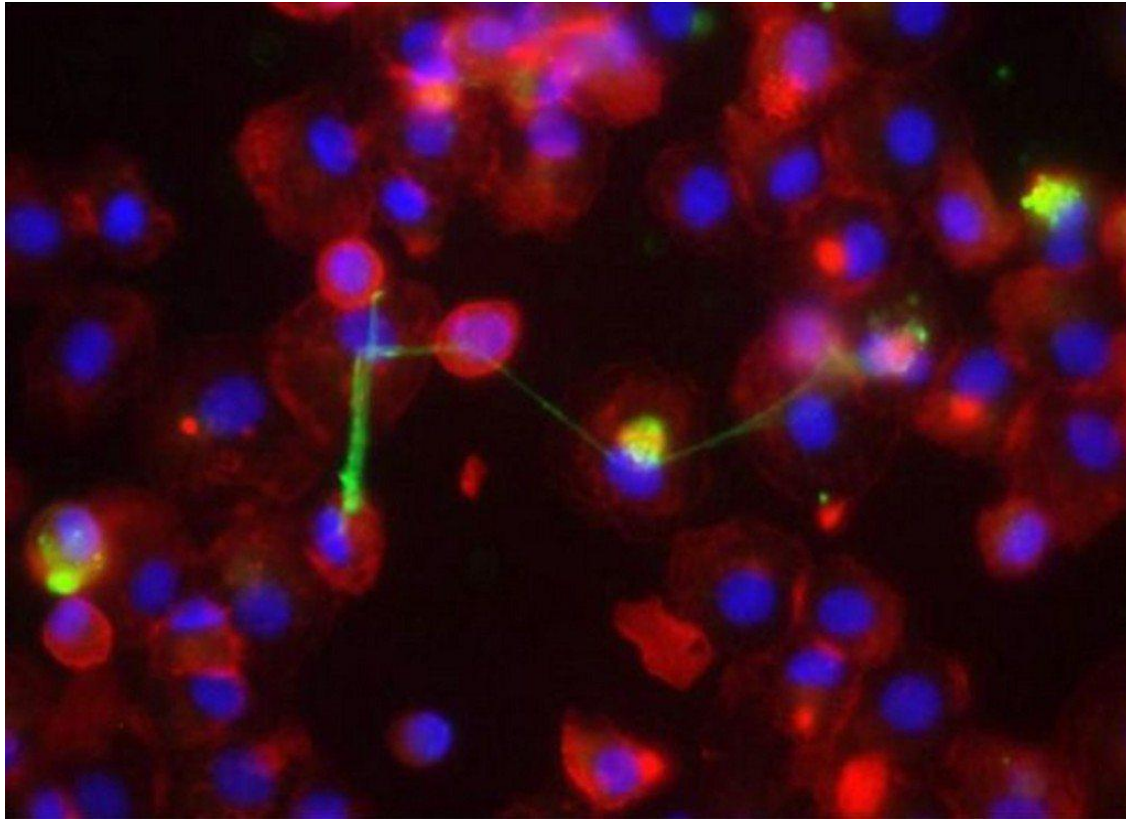
Гистоны – это особые белки в ядрах клетки, на которые, как на катушки, намотаны цепи ДНК. Они нужны для поддержки и регулирования геометрии молекулы ДНК, что очень важно для клеточного деления.



Так вот, удивительным образом, эти гистоны тоже обладают иммунными функциями. Они способны убивать бактерии, причем их удельная микробицидная активность в 100 раз выше, чем у дефенсинов (*антимикробных молекул из арсенала нейтрофилов*). Каков механизм их действия пока непонятно, но есть гипотеза, что они могут проникать сквозь мембрану бактерий и связываться с бактериальной ДНК, нарушая ее функционирование.



Есть у NET и еще одна функция – она является мощным «сигналом опасности» (*Damage-Associated Molecular Pattern*), тем самым, который считывают рецепторы системы врожденного иммунитета, например, Toll-like рецепторы. Это помогает сформировать мостик между врожденным и приобретенным иммунитетом. Однако, нейтрофильный ответ очень непродолжителен, и скоро на место нейтрофилов приходят макрофаги. Они и отвечают за подчистку территории от фрагментов NET и запутавшихся в них патогенных микробов.



Вот красно-синие макрофаги доедают зеленую нитку NET.

А дальше на сцену постепенно выходят эффекторы системы адаптивного иммунитета.

Ну, что? Было ли для вас неожиданным, что природа предусмотрела возможность использовать молекулы ДНК не только для хранения и передачи генетической информации, но и для нападения на чужеродные организмы, как у бактерий против бактериофагов и как у нейтрофилов против бактерий?

Ингибитор нейтрофильной ловушки

Недавно стало известно (2016) о молекуле, обнаруженной немецкими учеными в пуповинной крови новорожденных. Эта молекула, прозванная своими открывателями *nNIF*, обладает способностью подавлять одну из функций нейтрофилов (*клеток врожденного иммунитета*), а именно – формирование «внеклеточной ловушки».

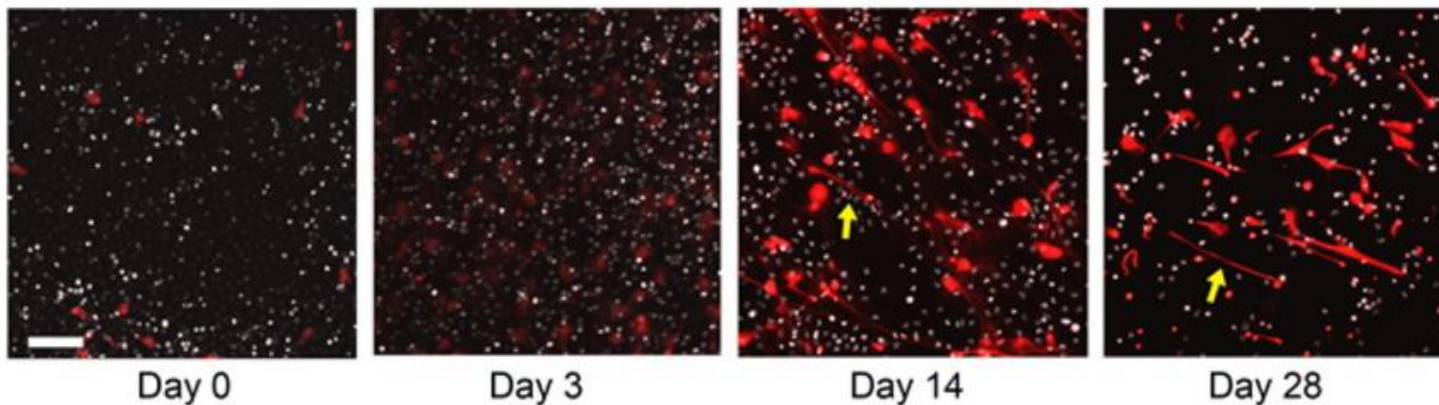
Что обнаружили немецкие исследователи?

В своих более ранних работах они обратили внимание на то, что нейтрофилы, полученные из пуповинной крови недоношенных и доношенных детей, не способны вырабатывать NET (*внеклеточную ловушку*) или у них эта способность подавлена.

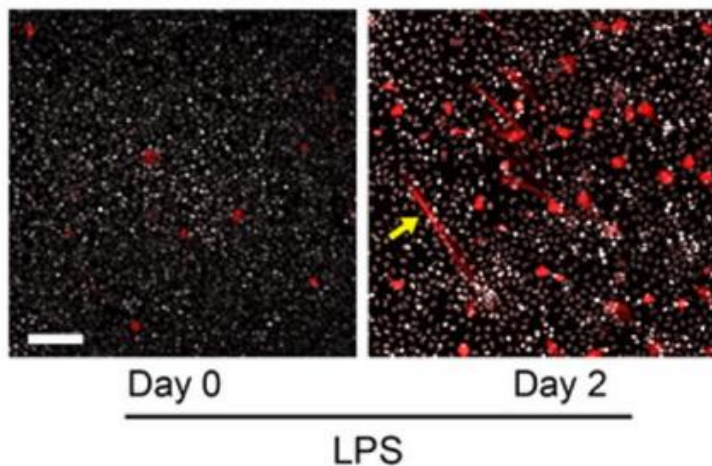
Они предположили, что это не дефект и не «незрелость», а адаптивный механизм (*один из таких механизмов*), защищающий плод от иммунных конфликтов с матерью и от повреждения ткани в результате проникновения микроорганизмов через плацентарный барьер.

Сравнив поведение нейтрофилов ребенка и нейтрофилов матери, ученые определили, что «предохранитель», выключающий функцию внеклеточной ловушки, находится именно у ребенка, так как нейтрофилы матери не лишены этой способности –

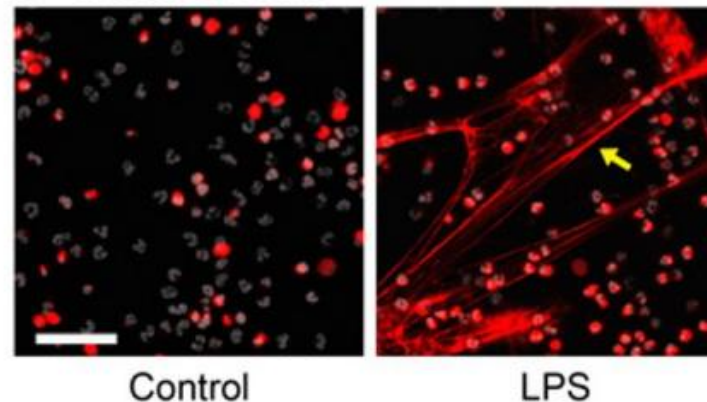
A Preterm neonatal PMNs



B Term neonatal PMNs

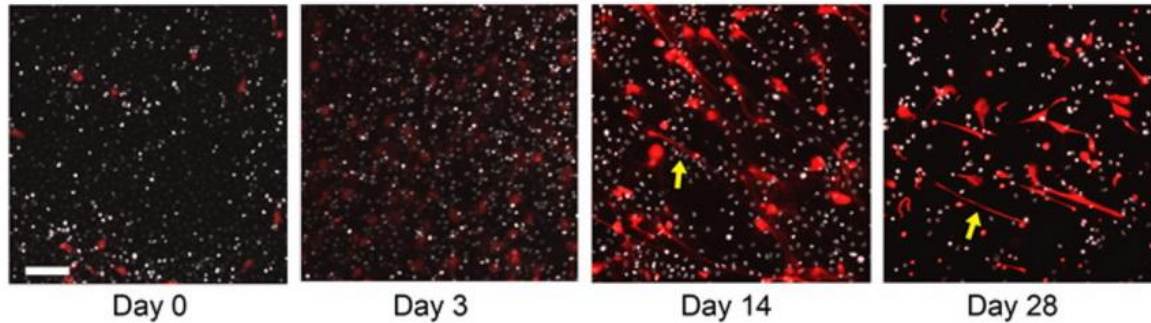


C Maternal PMNs

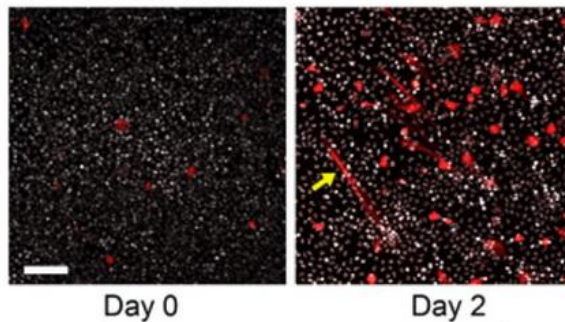


Day 0 – это день рождения ребенка. На этих снимках нейтрофилы пуповинной крови, на которые ученые подействовали липополисахаридом (*LPS*) – очень мощным индуктором ответа нейтрофилов. Как видно на фотографиях, в у недоношенных детей (*preterm neonates*) и доношенных детей (*term neonates*) «внеклеточная ловушка» в ответ на *LPS* не формируется. Зато она формируется у их мам (*нижняя правая часть снимка*). Уже ко 2-3 дню жизни нейтрофилы ребенка начинают постепенно обретать способность формировать NET. Значит, делают вывод ученые, молекула, которая подавляла этот механизм, находится именно в пуповинной крови.

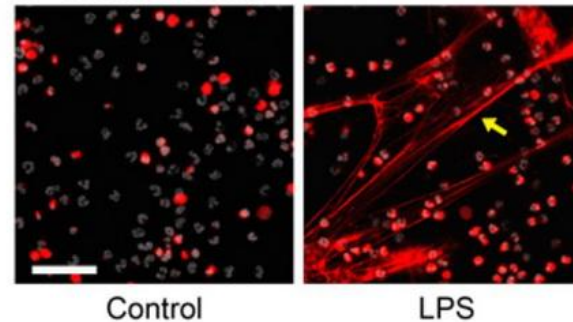
A Preterm neonatal PMNs



B Term neonatal PMNs



C Maternal PMNs



LPS

Neonatal NET inhibitory factor (*nNET*)

Ну, а дальше – дело техники. Протеомные исследования показывают, что эта молекула – пептид массой 4-6 кДа. Пользуясь правом «первой ночи» авторы назвали его ингибитор внеклеточной ловушки нейтрофилов у новорожденных или *nNET*.

Чтобы убедиться, что именно *nNET* блокирует формирование ловушки ученые получили антитела против этой молекулы, и при помощи этих антител нейтрализовали фактор. После этого плазма крови теряла свою способность блокировать NET у нейтрофилов.

Почему это важно?

Это открытие важно для улучшения нашего понимания механизмов регуляции воспаления, которое является универсальной реакцией организма на любое возмущение. Воспаление, с одной стороны, помогает нам защищаться от инфекций и держать в узде собственные клетки, но с другой воспалительные механизмы ухудшают течение всех хронических заболеваний, в первую очередь аутоиммунных.

Почти все современные биологические лекарства воздействуют на мишени, участвующие в воспалительных процессах. Сколько уже таких препаратов от ритуксимаба и анти-TNF α до модуляторов иммунных контрольных точек, но решительно забороть воспаление пока не получается.

А вот эмбрион человека обладает способностью держать иммунную систему на поводке, причем, как свою, так и материнскую. Взрослым людям тоже хочется перенять какие-нибудь из его секретов и применить их в леченой практике, например, что вернуть контроль над иммунной системой в [патогенезе сепсиса](#).

Эта молекула, nNET, вполне может стать мишенью для последующих экспериментов *in vitro*, на животных и на людях.

