

ДИНАМИКА УРОВНЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК В ЛПС-ИНДУЦИРОВАННОЙ МОДЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ *IN VIVO*

Демченко Е.Н., Гаврилова Е.Д., Гойман Е.В., Вольский Н.Н.,
Козлов В.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

Резюме. Повышение концентрации внеклеточной ДНК (внДНК) является отличительной чертой патологий, в основном протекающих с острым воспалением (инфаркт миокарда, сепсис, инсульт, травма). При хронических воспалительных процессах, онкологических, аутоиммунных заболеваниях повышение внДНК менее значительны и обусловлены в основном аберрантно протекающими процессами гибели клеток. К числу таких заболеваний относится системная красная волчанка (СКВ). Недавно было показано, что помимо повышенной концентрации внДНК, степень воспаления может отражать индекс N/L (соотношение нейтрофилов к лимфоцитам), являясь простым и информативным маркером активности болезни у пациентов с СКВ. Целью исследования было изучить динамику уровня внДНК и индекса N/L в модели ЛПС-индуцированной воспалительной реакции у интактных мышей и их связь с фенотипической неоднородностью модельной СКВ. В работе использовали половозрелых 6–8-недельных самок мышей (C57Bl/6xDBA/2)F1 и самок мышей линий DBA/2. ЛПС *E. coli* штамма 111: B4 (Sigma) вводили внутрибрюшинно однократно в дозах 10 нг, 1 мкг и 100 мкг на мышь в PBS, контрольной группе вводился соответствующий объем буфера. В качестве ингибитора TNF α был использован TNF α -связывающий домен белка CRMV вируса натуральной оспы, который вводили за 30 мин. до введения ЛПС. Динамику ответа на ЛПС оценивали через 4, 8, 11, 24 часа по индексу N/L и уровню внДНК, в нулевой точке параметры определялись до введения ЛПС. Через сутки после однократного введения ЛПС в дозе 1 мкг/мышь, на этих же мышах-гибридах была индуцирована модель СКВ (двукратное внутривенное введение с интервалом 6 дней клеток селезенки линии DBA/2 по $60\text{--}70 \times 10^6$ клеток). Через три месяца при протеинурии 3 мг/мл и более мышей относили к группе СКВ^{нефрит+}, при белке менее 3 мг/мл к группе СКВ^{нефрит-}. Статистическую обработку результатов проводили методами непараметрической статистики с использованием теста Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Установлено, что изменение индекса N/L, как и изменение уровня внДНК зависит от дозы вводимого ЛПС. Показано, что уровень внДНК максимальный через 8 и 11 часов после введения ЛПС достоверно снижается при использовании ингибитора TNF α . Ретроспективный анализ свидетельствует о том, что существует определенная зависимость между ответом интактных мышей на ЛПС до индукции хРТПХ и их последующим разделением на варианты СКВ^{нефрит+} и СКВ^{нефрит-} при развитии заболевания.

Ключевые слова: внеклеточная ДНК, ЛПС, фенотипическая гетерогенность, экспериментальная модель СКВ

Адрес для переписки:

Гаврилова Елена Давидовна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 222-04-38.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: edav.gavr@mail.ru

Address for correspondence:

Gavrilova Elena D.
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
630099, Russian Federation, Novosibirsk,
Yadrintsevskaya str., 14, room 215.
Phone: 7 (383) 222-04-38.
Fax: 7 (383) 222-70-28.
E-mail: edav.gavr@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Н. Демченко, Е.Д. Гаврилова, Е.В. Гойман,
Н.Н. Вольский, В.А. Козлов «Динамика уровня
внеклеточной ДНК в ЛПС-индуцированной модели
воспаления *in vivo*» // Российский иммунологический
журнал, 2022. Т. 25, № 4. С. 423-430.
doi: 10.46235/1028-7221-1179-DOC
© Демченко Е.Н. и соавт., 2022

For citation:

E.N. Demchenko, E.D. Gavrilova, E.V. Goiman, N.N. Volskiy,
V.A. Kozlov “Dynamics of cell-free DNA levels in the *in vivo*
LPS-induced inflammation model”, Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2022,
Vol. 25, no. 4, pp. 423-430.
doi: 10.46235/1028-7221-1179-DOC
DOI: 10.46235/1028-7221-1179-DOC

DYNAMICS OF CELL-FREE DNA LEVELS IN THE *IN VIVO* LPS-INDUCED INFLAMMATION MODEL

Demchenko E.N., Gavrilova E.D., Goiman E.V., Volskiy N.N., Kozlov V.A.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. An increased concentration of extracellular cell free DNA (cfDNA) is a distinctive characteristic of pathologies that mainly occur in acute inflammation (myocardial infarction, sepsis, stroke, trauma). The increase of cfDNA in chronic inflammatory processes, oncological, autoimmune diseases is less significant and is mainly due to aberrant cell death processes. One of such diseases is systemic lupus erythematosus (SLE). It has recently been shown that, in addition to increased cfDNA concentration, the degree of inflammation can reflect the N/L index (neutrophil to lymphocyte ratio), being a simple and informative marker of disease activity in patients with SLE. The aim of the study was to study the dynamics of the level of cfDNA and the N/L index in the model of LPS-induced inflammatory response as observed in intact mice, and their relation to the phenotypic heterogeneity of model SLE. We used female hybrid mice (C57Bl/6xDBA/2) F1 and female DBA/2 mice at the age of 6–8 weeks. LPS of *E. coli* strain 111: B4 (Sigma) was injected intraperitoneally once at doses of 10 ng, 1 µg and 100 µg per mouse in PBS. The control group was injected with the appropriate volume of buffer. The TNF α -binding domain of the variola virus CRMB protein was used as an inhibitor of TNF α , which was administered 30 min before the introduction of LPS. The dynamics of the response to LPS was assessed after 4, 8, 11, 24 hours by the N/L index and the level of cfDNA; at the zero point, the parameters were determined before the introduction of LPS. A day after a single injection of LPS at a dose of 1 µg/mouse, a SLE model was induced on the same hybrid mice (double intravenous administration with an interval of 6 days of spleen cells of the DBA/2 line, 60–70 × 10⁶ cells each). Three months later, with proteinuria of 3 mg/mL or more, mice were assigned to the SLE^{nephritis+} group, with a protein of less than 3 mg/mL, to the SLE^{nephritis-} group. Statistical processing of the results was carried out by nonparametric statistics using the Mann–Whitney test. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. It was found that the change in the N/L index, as well as the change in the level of cfDNA, depends on the dose of LPS administered. It was shown that the level of cfDNA reaches its maximum after 8 and 11 hours after the introduction of LPS is reliably reduced when using the inhibitor TNF α . A retrospective analysis indicates that there is a definite relationship between the response of intact mice to LPS before induction of cGVHD, and their subsequent division into variants of SLE^{nephritis+} and SLE^{nephritis-} in the course of disease development.

Keywords: extracellular DNA, LPS, phenotypic heterogeneity, systemic lupus erythematosus, experimental model

Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета для выполнения государственного задания на научно-исследовательскую работу «Изучение иммунопатогенеза фенотипов социально значимых заболеваний человека и полиморбидности как основа для разработки новых методов персонализированной диагностики и лечения» (ПК № 122012000366-9).

Введение

Феномен повышенной концентрации внеклеточной ДНК (внДНК) определяется как признак воспалительных состояний и является отличительной чертой патологий, в основном протекающих с острым воспалением (инфаркт миокар-

да, сепсис, инсульт, травма) [8]. Менее выражена повышенная концентрация внДНК при хронических воспалительных процессах, онкологических, аутоиммунных заболеваниях, обусловленная в основном абберрантно протекающими процессами гибели клеток. К числу таких заболеваний относится системная красная волчанка (СКВ), одной из основных черт которой является наличие антител к двуцепочечной ДНК. Ранее в экспериментальной модели фенотипически гетерогенной СКВ: с нефритом (СКВ^{нефрит+}) и без нефрита (СКВ^{нефрит-}), индуцированной хронической реакцией трансплантат против хозяина (хРТПХ), показано, что к моменту полного формирования патологии среднее значение уровня внеклеточ-

ной ДНК (внДНК) в группе СКВ^{нефрит+} почти в 2 раза превышало аналогичный показатель у мышей в группе СКВ^{нефрит-}, однако изменения оказались статистически не достоверны [1, 4].

Учитывая то, что начальный этап развития хРТПХ, связанный с генерацией иммунного ответа и формированием различных клинических вариантов СКВ, характеризуется чрезмерной/неконтролируемой продукцией провоспалительных цитокинов, рассматриваемой как «синдром цитокинового шторма», биологические механизмы которого до сих пор неясны, представлялось адекватным оценить уровень внДНК в простой ЛПС-индуцированной модели. Было высказано предположение, что маркером патологических состояний может служить не только уровень внДНК, как при остром воспалении, но и динамика изменения уровня внДНК, которая может соответствовать различным механизмам протекания воспалительных реакций. Недавно было показано, что помимо повышенной концентрации внДНК, степень воспаления может отражать индекс N/L (соотношение нейтрофилов к лимфоцитам), являясь простым и информативным маркером активности болезни у пациентов с СКВ [5].

Целью работы являлось изучение динамики уровня внДНК и индекса N/L в модели ЛПС-стимулированной воспалительной реакции у интактных мышей и связи этих параметров с последующей фенотипической неоднородностью индуцированной СКВ.

Материалы и методы

В работе использовали половозрелых 6-8-недельных самок мышей (C57Bl/6xDBA/2)F1 и самок мышей линий DBA/2, полученных из экспериментально-биологической клиники лабораторных животных СО РАН (г. Новосибирск). Животных содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных целей (Страсбург, 1986). Исследование одобрено этическим комитетом НИИФКИ (протокол № 92 от 10.11.2015 г.)

Интakтным самкам (C57BL/6xDBA/2)F1 внутрибрюшинно однократно вводили ЛПС *E. coli* штамма 111: B4 (Sigma), в дозах 10 нг, 1 мкг и 100 мкг на мышшь в PBS (PBS-10 мМ фосфатный буфер рН 7,4, 0,15 М NaCl), контрольной группе вводился соответствующий объем буфера. В качестве ингибитора TNF α был использован TNF α -связывающий домен белка CRMB виру-

са натуральной оспы (TNF-BD) любезно предоставленный Щелкуновым С.Н., обозначаемый нами как TNF α -связывающий белок [3]. TNF α -связывающий белок вводили за 30 мин. до введения ЛПС. Динамику ответа на ЛПС оценивали через 4, 8, 11, 24 часа по индексу N/L и уровню внДНК, в нулевой точке параметры определялись до введения ЛПС.

Выделение и количественное определение ДНК из плазмы крови проводили согласно методике [9]. Для выделения ДНК забор крови (примерно 100 мкл) производили из хвостовой вены животных в пробирки, содержащие 3 \times PBS, 30 мМ ЭДТА. Плазму отделяли от фракции клеток центрифугированием в течение 20 мин при 400 g. Выделение ДНК из плазмы проводили на колонках компании «БиоСилика» (г. Новосибирск) согласно инструкции по применению «Набора для выделения ДНК из плазмы крови». Определение ДНК проводили с помощью флуоресцентного красителя PicoGreen (Invitrogen). Концентрация ДНК пересчитывалась по калибровочной кривой, построенной для известных концентраций стандартной двуцепочечной λ ДНК. Через сутки после однократного введения ЛПС в дозе 1 мкг/мышшь, на этих же мышшах-гибридах была индуцирована модель СКВ: самкам (C57Bl/6xDBA/2)F1 вводили клетки селезенки линии DBA/2 [10]. Каждая мышшь-реципиент получала по 60-70 \times 10⁶ клеток в 0,5 мл среды путём внутривенной инъекции в хвостовую вену двукратно с интервалом 6 дней. Количество белка в моче животных определяли через 3 месяца колориметрически с красителем Кумасси бриллиантовый синий: при протеинурии 3 мг/мл и более мышшь относили к группе СКВ^{нефрит+}, при белке менее 3 мг/мл к группе СКВ^{нефрит-}. Статистическую обработку результатов проводили методами непараметрической статистики с использованием критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

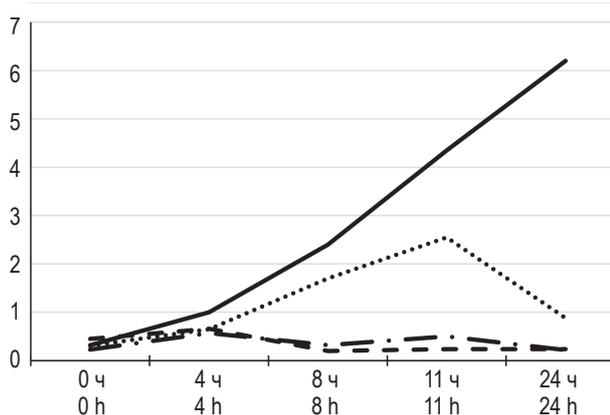
Показана зависимость изменения средних значений индекса N/L от дозы вводимого ЛПС (рис. 1А). Дозы 1 мкг и 100 мкг через 8 и 11 часов после введения препарата вызывают существенное повышение индекса N/L. Через 24 часа после введения 1 мкг ЛПС, влияние препарата нивелируется, индекс снижается, в то время как, при дозе 100 мкг на мышшь влияние ЛПС еще достаточно выражено, показатель индекса N/L высокий. Доза ЛПС 10 нг/мышшь не меняет показателя индекса. Повышение индекса в ЛПС-стимулированной

модели может быть вызвано как рекрутированием нейтрофилов в кровотоки так и тем, что, как сообщается в некоторых исследованиях, под действием воспалительных медиаторов снижается скорость апоптоза нейтрофилов [6, 7]. На рисунке 1Б представлена динамика изменения средних значений уровня вДНК в плазме в зависимости от дозы ЛПС. Видно, что через 8 часов после введения препарата у животных контрольной группы и с дозой 10 нг ЛПС наблюдается значительное повышение уровня вДНК, через 11 часов уровень вДНК в группе с 10 нг ЛПС превышает уровень в контрольной группе в 2,5 раза. Изменения уровня вДНК в контрольной группе мышей, по-видимому, могут быть обусловлены забором образцов крови в контрольных точках, так в работе [11] показали, что кровопотеря ведет к повышению продукции провоспалительных цитокинов. Дозы 1 мкг и 100 мкг ЛПС увеличивают уровень вДНК в 2,5-3 раза уже к 4 часам, далее уровень существенно повышается к 8 и 11 часам и снижается к 24 часам. Сравнимые значения уровня вДНК на 11 часов при дозах 1 мкг и 100 мкг, как и то, что через 8 часов при дозе 100 мкг уровень вДНК ниже, чем при дозе 1 мкг, видимо, объясняется снижением апоптоза нейтрофилов под воздействием ЛПС. По-видимому, через 8 часов после введения препарата в дозе 100 мкг, вклад гибели других клеток в появлении вДНК в плазме менее значителен, чем влияние увели-

чения времени жизни нейтрофилов. Показано, что изменение уровня вДНК и индекса N/L в течение 24 часов после однократного введения мышам различных доз ЛПС зависит от дозы вводимого препарата. Для работы была выбрана доза 1 мкг ЛПС.

На рисунке 2А представлены данные о влиянии TNF α -связывающего белка в дозе 10 нг/на мышь на изменение средних значений индекса N/L при введении 1 мкг ЛПС. Видно, что белок не влияет ни на сам индекс N/L, ни на изменение индекса под действием ЛПС. Увеличение дозы TNF α -связывающего белка в 100 раз также не влияло на значения индекса (данные не приведены). Данные представленные на рисунке 2Б показывают, что предварительное введение TNF α -связывающего белка достоверно ингибирует ЛПС-стимулированное повышение уровня вДНК через 8 и 11 часов. Однако через 24 часа группа мышей с совместным введением ЛПС и TNF α -связывающего белка демонстрирует повышение уровня вДНК, несмотря на то, что в ЛПС-индуцированной группе уровень вДНК к этому времени снижается. Анализ картины изменения среднего по группе значения уровня вДНК при введении TNF α -связывающего белка свидетельствует о том, что повышение уровня вДНК через 24 часа вызвано непосредственно белком (рис. 2В). Кроме того, в этой группе через 8 часов после введения белка наблюдается

А (А)



Б (Б)

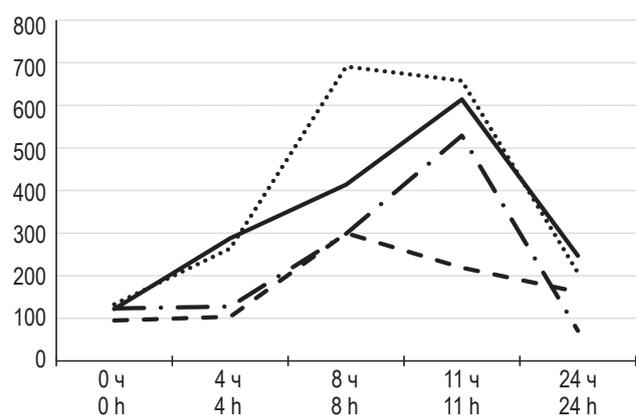


Рисунок 1. Изменение средних значений индекса N/L (А) и уровня вДНК (Б) в группах мышей при введении ЛПС

Примечание. По оси абсцисс: время, часы; по оси ординат: А – величина индекса N/L; Б – концентрация вДНК (нг/мл).

Контроль – штрих (n = 3); 10 нг ЛПС – длинный штрих-пунктир (n = 3); 1 мкг ЛПС – круглые точки (n = 3); 100 мкг ЛПС – сплошная линия (n = 3).

Figure 1. Change in the average values of the NL index and the level of ex DNA in groups of mice after the introduction of LPS

Note. On the abscissa: time, hours; along the y-axis: A, the value of the N/L index; B, cfDNA concentration (ng/mL). Control, stroke (n = 3); 10 ng LPS, long dash-dotted line (n = 3); 1 µg LPS, round dots (n = 3); 100 µg LPS, solid line (n = 3).

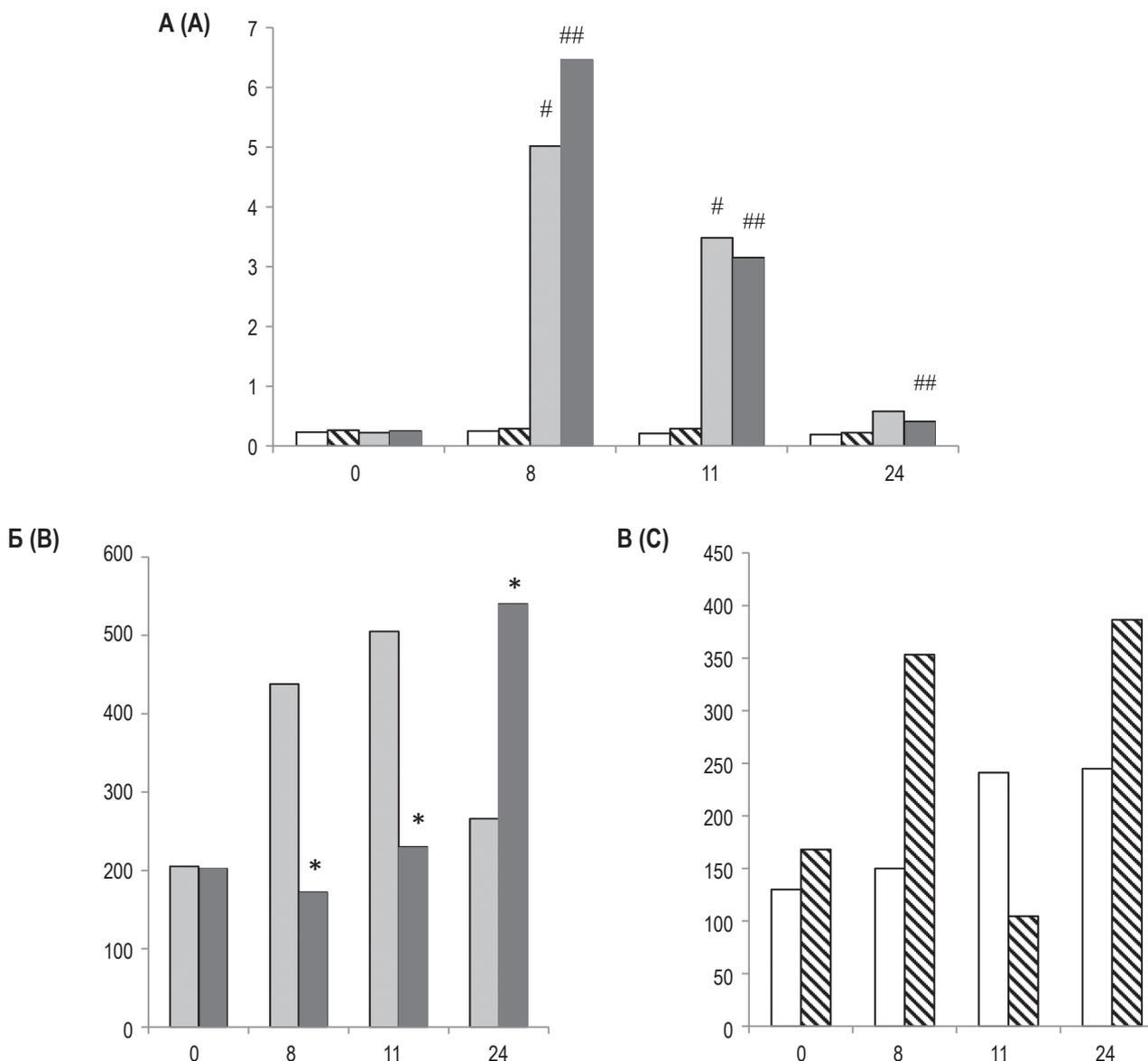


Рисунок 2. Динамика изменения средних значений индекса N/L (A) и уровня вн ДНК (Б, В) при введении TNF-св. белка

Примечание. По оси абсцисс: время, часы; по оси ординат: А – значение индекса N/L; Б, В – концентрация внДНК (нг/мл). Белые столбцы – контроль (n = 9); столбцы со штриховкой – TNF-св. белок (n = 6); серые столбцы – ЛПС (n = 8); черные столбцы – ЛПС + TNF-св. белок (n = 6). # – p < 0,05 – между ЛПС и контролем; ## – p < 0,05 – между TNF-св. белок и ЛПС + TNF-св. белок; * – p < 0,05 – между ЛПС и ЛПС + TNF-св. белок.

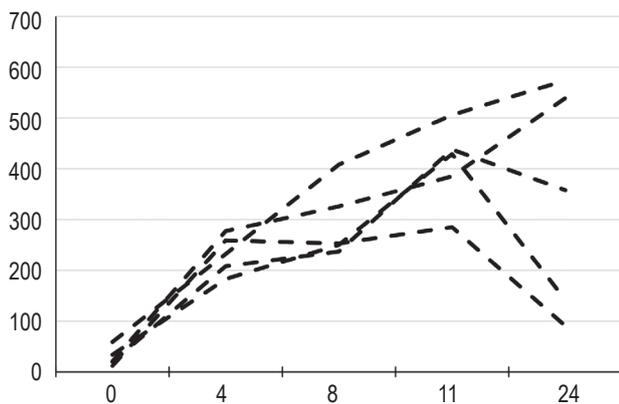
Figure 2. Dynamics of changes in the average values of the N/L index (A) and the level of ext DNA (B, C) with the introduction of TNF-binding protein

Note. On the abscissa: time, hours; along the y-axis: A, index value N/L; B, C, cfDNA concentration (ng/mL). White columns, control (n = 9); hatched columns, TNF-binding protein (n = 6); gray columns, LPS (n = 8); black columns, LPS + TNF-binding protein (n = 6). #, p < 0.05, between LPS and control; ##, p < 0.05, between TNF-binding protein and LPS + TNF-binding protein; *, p < 0.05, between LPS and LPS + TNF-binding protein.

увеличение в 2 раза среднего уровня внДНК по сравнению с контрольной интактной группой, через 11 часов уровень внДНК в группе с TNF α -связывающим белком ниже, чем в контрольной группе.

Существуют литературные данные о том, что ингибирование активности TNF- α ослабляет экспрессию CD44, влияя на апоптоз, что в свою очередь приводит к снижению удаления фагоцитами разрушенного клеточного материала, спо-

А (А)



Б (В)

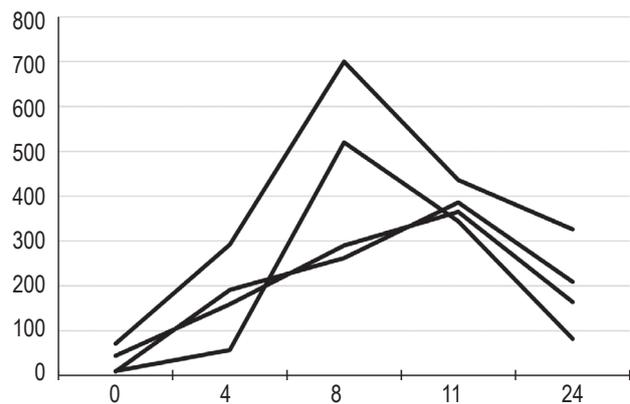


Рисунок 3. Уровень вДНК у индивидуальных животных в разных группах модельного СКВ заболевания.

Примечание: А – СКВ^{нефрит-}; Б – СКВ^{нефрит+}. По оси абсцисс: время, часы. По оси ординат: концентрация вДНК (нг/мл).

Figure 3. Level of cfDNA in individual animals in different groups of the model SLE disease.

Note: A, SLE^{nephritis-}; B, SLE^{nephritis+}. On the abscissa: time, hours. Y-axis: cfDNA concentration (ng/mL).

собствуя образованию аутоантител, в том числе к ДНК [2]. Видимо, через 8 и 24 часа мы наблюдаем обусловленное TNF α -связывающим белком ослабление фагоцитоза, и повышение уровня вДНК. Снижение уровня вДНК через 11 часов может быть объяснено тем, что в коротком временном промежутке между заборами крови на 8 и 11 часов, уровень индуцированного кровопотерей TNF α в плазме животных достаточен для полного ингибирования TNF α -связывающего белка. Это определяет более низкий уровень вДНК в группе с TNF α -связывающим белком, чем в группе интактных мышей. Таким образом, показано, что TNF α является одним из медиаторов ЛПС-индуцированного повышения уровня вДНК *in vivo*, TNF α -связывающий белок действует как ингибитор повышения уровня вДНК. В системе индукции ЛПС TNF α -связывающий белок сам вызывает повышение уровня вДНК.

Ранее нами было показано, что однократное введение 1 мкг ЛПС и последующая индукция СКВ не изменяет баланс процентного содержания животных в группах СКВ^{нефрит+} / СКВ^{нефрит-} по сравнению со стандартной индукцией патологии. Было проведено измерение уровня вДНК у интактных мышей после введения ЛПС, а через сутки после введения ЛПС на этих мышах была индуцирована модель СКВ, через 12 недель мышей разделили на группы СКВ^{нефрит+} и СКВ^{нефрит-}. Установлено, что при введении ЛПС интактные генетически однородные гибриды BDF демонстрируют разную динамику изменения уровня вДНК. Ретроспективный анализ связи уровня вДНК и определенного клинического варианта заболевания показал, что в группе мышей с СКВ^{нефрит+} у ча-

сти мышей отмечается резкое повышение уровня вДНК на 8 часов и снижение уровня к 24 часам у всех мышей, а в группе мышей с СКВ^{нефрит-} наблюдается плавное возрастание уровня вДНК к 11 часу, с дальнейшим повышением или понижением на 24 часа (рис. 3). Обе группы не являются однородными по динамике изменения уровня вДНК, и в то же время кривые, приведенные на рисунках 3 А и Б, позволяют предположить, что реакции, обуславливающие гетерогенность заболевания, могут иметь различные пути и скорости прохождения процесса, отражаемые в динамике изменений уровня вДНК.

Заключение

В результате измерения уровня вДНК в динамике установлена выраженная гетерогенность ответа на ЛПС у генетически однородных животных. Возможно, это обусловлено влиянием многочисленных внутренних факторов, в том числе эпигенетическими изменениями в системе врожденного иммунитета, вызывающими сдвиг баланса активности Th1- и Th2-субпопуляций, и приводящими к конечному выбору варианта, по которому пойдет развитие иммунного процесса в каждом конкретном случае.

Таким образом, исследование уровня вДНК в ЛПС-индуцированной реакции, моделирующей ранние события формирования аутоиммунной патологии, показало, что концентрация вДНК является достаточно чувствительным и лабильным параметром, который может быть использован для изучения фенотипической гетерогенности индуцированной СКВ.

Список литературы / References

1. Колесникова О.П., Кудяева О.Т., Вольский Н.Н., Гойман Е.В., Гаврилова Е.Д., Перминова О.М., Демченко Е.Н., Козлов В.А. Экспериментальная модель аутоиммунного процесса: роль эпигенетической изменчивости в популяции мышей-гибридов // Вестник РАМН, 2015. Т. 70, № 2. С. 152-158. [Kolesnikova O.P., Kudaeva O.T., Volskiy N.N., Goiman E.V., Gavrilova E.D., Perminova O.M., Demchenko E.N., Kozlov V.A. Experimental model of the autoimmune process: the role of epigenetic variability in the population of hybrid mice. *Vestnik RAMN = Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2015, Vol. 70, no. 2. pp. 152-158. (In Russ.)]
2. Almoallim H., Al-Ghamdi Y., Almaghrabi H., Alyasi O. Anti-tumor necrosis factor-alpha induced systemic lupus erythematosu. *Open Rheumatol. J.*, 2012, Vol. 6, pp. 315-319.
3. Gileva I.P., Nepomnyashchikh T.S., Ryazankin I.A., Shchelkunov S.N. Recombinant TNF-binding protein from variola virus as a novel potential TNF antagonist. *Biochemistry (Mosc.)*, 2009, Vol. 74, no. 12, pp. 1356-1362.
4. Kudaeva O.T., Kolesnikova O.P., Goiman E.V., Tkachev V.O., Volskiy N.N., Perminova O.M., Gavrilova E.D., Kozlov V.A. The experimental model of the autoimmune glomerulonephritis induced by the chronic graft versus host reaction // An update on glomerulopathies – Etiology and pathogenesis. Ed. by S.S.Prabhakar. Rijeka: In Tech, 2011, pp. 49-86.
5. Li L., Xia Y., Chen C., Cheng P., Peng C. Neutrophil-lymphocyte ratio in systemic lupus erythematosus disease: a retrospective study. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2015, Vol. 8, no. 7. pp. 11026-11031.
6. Miralda I., Uriarte S.M., McLeish K.R. Multiple phenotypic changes define neutrophil priming. *Front. Cell Infect. Microbiol.*, 2017, Vol. 7, 217. doi: 10.3389/fcimb.2017.00217.
7. Sabroe I., Dower S.K., Whyte M.K. The role of Toll-like receptors in the regulation of neutrophil migration, activation, and apoptosis. *Clin. Infect Dis.*, 2005, Vol. 41, Suppl. 7, pp. S421-S426.
8. Swarup V., Rajeswari M.R. Circulating (cell-free) nucleic acids – a promising, non-invasive tool for early detection of several human diseases. *FEBS Lett.*, 2007, Vol. 581, no. 5, pp. 795-799.
9. Tamkovich S.N., Litviakov N.V., Bryzgunova O.E., Dobrodeev A.Y., Rykova E.Y., Tuzikov S.A., Zav'ialov A.A., Vlassov V.V., Cherdyntseva N.V., Laktionov P.P. Cell-surface-bound circulating DNA as a prognostic factor in lung cancer. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2008, Vol. 1137, pp. 214-217.
10. Tschetter J.R., Mozes E., Shearer G.M. Progression from Acute to chronic disease in a murine parent-into-F1 model of graft-versus-host disease. *J. Immunol.*, 2000, Vol. 165, pp. 5987-5994.
11. Yang Q.S., He L.P., Zhou X.L., Zhao Y., Shen J., Xu P., Ni S.Z. Kaempferol pretreatment modulates systemic inflammation and oxidative stress following hemorrhagic shock in mice. *Chin. Med.*, 2015, no. 10, 6. doi: 10.1186/s13020-015-0035-z.

Авторы:

Демченко Е.Н. — к.х.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Гаврилова Е.Д. — к.б.н., заведующая лабораторией экспериментальной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Гойман Е.В. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Demchenko E.N., PhD (Chemistry), Research Associate, Laboratory of Experimental Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Gavrilova E.D., PhD (Biology), Head, Laboratory of Experimental Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Goiman E.V., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Experimental Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Вольский Н.Н. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Volskiy N.N., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Experimental Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Козлов В.А. — д.м.н., профессор, академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Kozlov V.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Medical Sciences, Research Director, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 15.07.2022
Принята к печати 28.07.2022

Received 15.07.2022
Accepted 28.07.2022