

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК, ПОКАЗАТЕЛЕЙ НЕТОЗА И ВОСПАЛЕНИЯ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

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

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

Резюме. Во многих работах показано, что уровень внеклеточных ДНК (внДНК) в крови пациентов с онкологией, сепсисом, системной красной волчанкой, некоторыми ревматоидными заболеваниями существенно превышает величину аналогичного показателя у здоровых доноров и достаточно тесно связан с клинической картиной заболевания, а также с ее динамикой в процессе лечения. Реакция системного воспаления является одним из наиболее частых патофизиологических процессов, сопровождаемых заметными изменениями уровня внДНК в плазме крови. Ранее было установлено, что уровень внДНК в плазме больных с РА, тесно связанным со сдвигом баланса хелперов в Th1-сторону, является адекватным показателем интенсивности воспалительных процессов и эффективности терапии. В то же время количество работ, исследовавших изменения уровня внДНК в патологических процессах с преобладанием Th2-лимфоцитов весьма ограничено. Несомненный интерес представляет патогенез бронхиальной астмы (БА) по общепринятым представлениям, критически зависящий от продукции специфических антител, контролируемой активированными Th2-лимфоцитам. Цель работы: исследование уровня внДНК в крови и сопоставление его изменения с интенсивностью нетоза и воспалительного процесса с клинической картиной у пациентов с БА. В исследование были включены 20 пациентов с БА, находившиеся на стационарном лечении в аллергологическом отделении клиники иммунопатологии НИИФКИ (г. Новосибирск) и 10 условно здоровых доноров. Показано, что при поступлении в клинику, уровень внДНК у пациентов с БА был существенно снижен по сравнению с контрольной группой условно здоровых доноров. После курса терапии средний уровень внДНК в плазме больных заметно возрастал и статистически достоверно не отличался от этого показателя в контроле. Данные других параметров свидетельствуют о том, что пациенты с БА не обнаруживают проявлений выраженной системной воспалительной реакции. Видимо, следует

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:

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

Образец цитирования:

Е.Д. Гаврилова, Е.В. Гойман, Е.Н. Демченко,
Д.В. Демина, Н.Н. Вольский, В.А. Козлов «Особенности
изменения уровня внеклеточной ДНК, показателей
нетоза и воспаления в периферической крови
у пациентов с бронхиальной астмой» // Российский
иммунологический журнал, 2023. Т. 26, № 4. С. 533-540.
doi: 10.46235/1028-7221-13925-CCO

© Гаврилова Е.Д. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E.D. Gavrilova, E.V. Goiman, E.N. Demchenko, D.V. Demina,
N.N. Volskiy, V.A. Kozlov "Characteristic changes
of extracellular dna levels, indices of netosis and inflammation
in peripheral blood in patients with asthma", Russian Journal
of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2023,
Vol. 26, no. 4, pp. 533-540.
doi: 10.46235/1028-7221-13925-CCO

© Gavrilova E.D. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-13925-CCO

предположить, что, наблюдаемые изменения уровня внДНК в плазме крови при БА, не обусловлены хроническим воспалительным процессом в легких этих больных, а определяются некими иными патофизиологическими механизмами. Определение степени активации нейтрофилов при БА показало, что величина ответа на экзогенный стимул, отражающая примированность нейтрофилов, достоверно увеличена по сравнению с этими показателями в контрольной группе, что хорошо согласуется с современными представлениями о роли нейтрофилов в патогенезе БА.

Ключевые слова: внеклеточная ДНК, бронхиальная астма, Th1/Th2-баланс, воспаление, провоспалительные цитокины

CHARACTERISTIC CHANGES OF EXTRACELLULAR DNA LEVELS, INDICES OF NETOSIS AND INFLAMMATION IN PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH ASTHMA

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

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

Abstract. Many studies have shown that the level of cell-free DNA (cfDNA) in blood of patients with oncological diseases, sepsis, systemic lupus erythematosus, and some rheumatic diseases significantly exceeds the value of similar index in healthy donors and is closely related to the clinical features of the disease. Systemic inflammatory response is among the most frequent pathophysiological processes along with markedly changed levels of cfDNA in blood plasma. The levels of cfDNA in blood plasma of patients with RA are shown to be closely associated with a shifted balance of helpers to the Th1-side. It is an adequate intensity index of inflammatory processes and effectiveness of therapy. At the same time, there only limited number of works concerning changes in cfDNA levels in pathological processes with predominance of Th2 lymphocytes. According to generally accepted concept, the pathogenesis of bronchial asthma is of distinct interest, being critically dependent on the production of specific antibodies controlled by activated Th2 lymphocytes. The aim of this work was to study the level of cfDNA in blood and compare its changes with intensity of NETs and inflammation in patients with asthma. The study included 20 patients with asthma, who underwent hospital treatment at the Department Allergology (Clinic of Immunopathology, RIFCI, Novosibirsk), and 10 conditionally healthy donors. We have shown that, upon admission to the clinic, the level of cfDNA in patients with asthma was significantly reduced against the control group of healthy donors. After a course of therapy, the average level of cfDNA in patients' plasma was increased and did not differ statistically significantly from this index in controls. The data obtained for other parameters indicate that the patients with asthma did not reveal any signs of pronounced systemic inflammatory response. One should suggest that the observed changes in the level of cfDNA in blood plasma in bronchial asthma are not caused by chronic inflammatory process in lungs of these patients, but they are determined by some other pathophysiological mechanisms. It has been shown that the level of *in vitro* stimulated NETs in patients with asthma is higher than in healthy donors, thus being consistent with current opinions on the role of neutrophils in pathogenesis of asthma.

Keywords: extracellular DNA, asthma, Th1/Th2 balance, inflammation, pro-inflammatory cytokines

Введение

В последние два десятилетия появилось достаточно много экспериментальных и клинических исследований, убедительно свидетельствующих о том, что содержание внеклеточной ДНК (внДНК) в плазме крови существенно изменяется при определенных патологических процессах и что этот показатель может быть использован

как один из диагностических критериев в клинической практике. Наибольшее внимание исследователей, с этой точки зрения, было уделено таким социально значимым нозологиям, как онкологические заболевания, сепсис, осложнения при беременности и некоторые другие заболевания, в том числе и те, основой развития которых предполагаются патологические реакции иммунной системы [3, 6]. Наиболее детально было за

эти годы изучено поведение обсуждаемого параметра при иммунопатологических процессах, играющих ключевые роли в развитии системной красной волчанки (СКВ) и ревматоидного артрита (РА). Во многих работах было показано, что уровень внДНК в крови пациентов с этими заболеваниями существенно превышает величину аналогичного показателя у здоровых лиц, использованных в качестве контроля, и достаточно тесно связан с клинической картиной заболевания, а также с ее динамикой в процессе лечения [6, 7, 9, 14].

Согласно работам, базирующимся на клинических данных, одним из наиболее частых патофизиологических процессов, сопровождаемых заметными изменениями уровня внДНК в плазме крови, можно считать системную реакцию воспаления [5, 12]. Ранее на экспериментальной модели нами было показано, что острый воспалительный ответ на экзогенный стимул (введение умеренной дозы ЛПС) приводит к закономерным изменениям содержания внДНК в крови подопытных животных [2], а в лабораторном обследовании пациентов с РА было установлено, что уровень внДНК в плазме является адекватным показателем интенсивности воспалительных процессов у индивидуальных больных и степени эффективности терапии, достаточно тесно коррелируя с общепринятыми клиническими критериями динамики воспалительных реакций при данном заболевании (DAS-28 и СРБ) [1].

Поскольку тяжесть проявлений болезни при РА определяется в основном выраженностью воспалительных изменений в суставах и, следовательно, тесно связана со сдвигом баланса хелперов в Th1-сторону, в то время как патогенез БА, по общепринятым представлениям, критически зависит от продукции специфических антител, контролируемой активированными Th2-лимфоцитами, представляет несомненный интерес исследовать уровень внДНК в крови больных БА и сопоставить его значения с другими лабораторными показателями и с клинической картиной болезни. Это и стало **целью настоящей работы**.

Материалы и методы

Характеристика пациентов

В данную работу были включены 20 пациентов с бронхиальной астмой (БА), находившиеся на стационарном лечении в аллергологическом отделении клиники иммунопатологии НИИФКИ (г. Новосибирск). Право на участие в исследовании подтверждалось письменным инфор-

мированным согласием. Протокол обследования был одобрен локальным этическим комитетом.

Исследованная группа состояла из 12 женщин (60%) и 8 мужчин (40%) в возрасте от 27 до 59 лет. По длительности заболевания от 1 года до 40 лет. Забор крови производился двукратно: в момент поступления и через 10 дней со дня госпитализации.

В исследование включены 10 образцов от условно здоровых доноров, набранных на Пункте забора донорской крови ГKB № 1 г. Новосибирска.

Методы исследования

Выделение внклеточной ДНК

Забор периферической крови для проведения анализа осуществлялся с помощью венозной пункции в вакуумную пробирку с антикоагулянтом (ЭДТА).

Плазму отделяли от форменных элементов центрифугированием при 400 g в течение 20 мин [11]. Выделение внклеточной ДНК из плазмы проводили на колонках компании «Био-Силика» (г. Новосибирск) согласно инструкции по применению «Набора для выделения ДНК из плазмы крови». Для определения внДНК, связанной с клеточной поверхностью, клетки инкубировали 5 мин с 0,25%-ным раствором трипсина, реакцию останавливали добавлением ингибитора трипсина из соевых бобов (Sigma, США) и центрифугированием отделяли супернатант, содержащий внДНК. Определение ДНК проводили с помощью флуоресцентного красителя PicoGreen (Invitrogen). Концентрация ДНК пересчитывалась по калибровочной кривой, построенной для известных концентраций стандартной двуцепочечной λ ДНК.

Выделение нейтрофилов

Периферическую кровь у доноров и пациентов с ревматоидным артритом забирали в утренние часы натощак в пропиленовые пробирки с гепарином (20 МЕ/мл крови). Нейтрофилы выделяли с помощью центрифугирования в двойном градиенте плотности фиколл-урографин ($\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$ и $\rho = 1,119 \text{ г/см}^3$) при 400 g 25 мин. Полученное кольцо нейтрофилов переносили в пробирки и трижды отмывали в 5 мл PBS, центрифугируя при 200 g 10 минут, а затем ресуспендировали в культуральной среде, включающей RPMI-1640 без фенолового красного с добавлением 1%-ной инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки. Нейтрофильные лейкоциты составляли более 98% во фракции выделенных клеток, а их жизнеспособность составляла 99%, что определялось тестом с трипановым синим.

Определение спонтанного и стимулированного нетоза нейтрофилов *in vitro*

Свежевыделенные нейтрофилы переносили в черный планшет в концентрации 2×10^5 клеток на лунку и часть из них стимулировали добавлением форболмиристат-ацетата (Sigma-Aldrich, Франция) до концентрации 50 нМ, с последующим культивированием при 37 °С в атмосфере 5% CO₂ в течение 3 часов. Затем в лунки вносили 5 мкМ Sytox Green (Invitrogen, США). Уровень флуоресценции регистрировали на ридере Tristar™ LB941 BERTHOLD (Германия): длина волны возбуждения – 485 нм и длина волны излучения – 527 нм [4].

Определение миелопероксидазы

Концентрацию миелопероксидазы определяли иммуноферментным методом с помощью набора Human MPO ELISA kit (Nucult Biotech, Нидерланды).

Определение цитокинов

IL-8, IL-1β, TNFα в сыворотке крови определяли с помощью наборов АО «Вектор-Бест»

(г. Новосибирск), предназначенных для иммуноферментного анализа.

Статистическая обработка

Результаты в таблицах приведены в виде средних величин. Достоверность выявленных различий и величину связей между измеренными параметрами оценивали методами непараметрической статистики с использованием U-критерия Манна–Уитни, T-критерия Вилкоксона и коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

Измерение внднк в плазме крови пациентов с БА показало, что величина этого параметра в момент госпитализации была существенно снижена по сравнению с контрольной группой условно здоровых доноров (табл. 1, верхняя строка, $p < 0,05$). Однако после интенсивного курса терапии средний уровень внднк в плазме больных

ТАБЛИЦА 1. ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК, ПОКАЗАТЕЛИ НЕТОЗА И ИЗМЕНЕНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

TABLE 1. EXTRACELLULAR DNA, INDICATORS OF NETOSIS AND CHANGES OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH ASTHMA

Параметры Parameters	Доноры Donors	Пациенты с астмой Patients with asthma	
		До лечения Before treatment	После лечения After treatment
внднк, нг/мл cfDNA, ng/mL	2,39	0,87 (0,05)	2,63
Нетоз спонтанный Spontaneous netosis	961759	993033 (0,85)	1019155 (0,97)
Нетоз при стимуляции Netosis on stimulation	1422891	2180530 (0,0006)	1654284 (0,33)
Индекс стимуляции Stimulation Index	1,39	2,25 (0,000005)	1,61 (0,015)
Миелопероксидаза, нг/мл Myeloperoxidase, ng/mL	13,13	30,23 (0,0005)	36,25 (0,0004)
СРБ, мг/л CRP, mg/L	2,50	5,28	–
TNFα, пг/мл TNFα, pg/mL	0,69	3,32 (0,004)	0,93 (0,43)
IL-1β, пг/мл IL-1β, pg/mL	1,90	4,28 (0,14)	3,12 (0,25)
IL-8, пг/мл IL-8, pg/mL	3,31	6,33 (0,23)	6,71 (0,20)

Примечание. Полу жирным шрифтом выделены достоверные различия с донорами (значения p приведены в скобках).

Note. Significant differences from donors are highlighted in bold (p values are in brackets).

заметно возрастал и статистически достоверно не отличался от этого показателя в контроле.

Полученные нами результаты оказались совершенно неожиданными, поскольку в подавляющем большинстве исследований, описывающих изменения содержания внДНК в крови больных с самыми различными патологиями, указывается на существенное увеличение этого параметра по сравнению со здоровыми лицами, а данных, говорящих о его снижении при каких-либо воздействиях, в литературе найти не удалось. К сожалению, вопрос об уровне внДНК в крови при БА еще недостаточно изучен, и мы нашли лишь две опубликованные работы, в которых приведены результаты непосредственного измерения этого параметра у больных с БА. В первой не было обнаружено статистически достоверных изменений

содержания внДНК при БА [10], в то время как в работе группы исследователей из Неаполя [13] было зарегистрировано небольшое повышение (на 5-10% по сравнению с контролем) данного показателя у пациентов с БА. Однако этот вывод об увеличении количества внДНК в крови больных вызывает определенные сомнения, поскольку указанный в цитируемой работе уровень внДНК у здоровых лиц (2,2 мкг/мл) более чем на два порядка превышает аналогичные данные в опубликованных работах других авторов. Следует полагать, что на сегодняшний день вопрос об уровне внДНК в крови пациентов с БА еще окончательно не прояснен и требует дальнейшего изучения и проверки.

Как уже отмечалось выше, содержание внДНК в крови изменяется при воспалитель-

ТАБЛИЦА 2. ИССЛЕДОВАННЫЕ ПАРАМЕТРЫ У БОЛЬНЫХ С РАЗЛИЧНЫМИ ФЕНОТИПИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

TABLE 2. STUDIED PARAMETERS IN PATIENTS WITH DIFFERENT PHENOTYPIC FORMS OF ASTHMA

Параметры Parameters	Фенотипические формы БА Phenotypic form of asthma		
	Экзогенная Exogenic (n = 7)	Смешанная Mixed (n = 8)	Эндогенная Endogenic (n = 5)
внДНК, нг/мл cfDNA, ng/mL	0,88	0,97	0,72
Связанная с поверхностью клетки внДНК, нг/мл Cell-surface-bound DNA, ng/mL	10,86	19,08	31,95
Нетоз при стимуляции Netosis on stimulation	2358146	2132084	2009382
Индекс стимуляции Stimulation Index	2,46	2,09	2,20
Миелопероксидаза, нг/мл Myeloperoxidase, ng/mL	28,86	36,00	23,50
Базофилы, % Basophils, %	0,57	0,25	0,00
Эозинофилы, % Eosinophils, %	4,71	2,63	1,80
Индекс N/L Index NRL	2,65	5,77	5,32
СРБ, мг/л CRP, mg/L	2,74	5,36	8,70
TNF α , пг/мл TNF α , pg/mL	2,41	4,15	4,85
IL-1 β , пг/мл IL-1 β , pg/mL	3,23	5,97	4,60
IL-8, пг/мл IL-8, pg/mL	5,20	8,72	5,50

ных реакциях в организме, и, по общепринятым представлениям, значительная часть этой ДНК может появляться в крови вследствие выхода во внеклеточное пространство при нетозе нейтрофильных лейкоцитов. Поэтому в нашем исследовании была дополнительно изучена способность нейтрофилов из периферической крови больных БА реагировать *in vitro* реакцией нетоза на экзогенный стимул (форболмиристан ацетат) и содержание миелопероксидазы в крови больных (специфический показатель интенсивности нетоза *in vivo*), а также определены концентрация С-реактивного белка (СРБ) и содержание провоспалительных цитокинов в крови. Результаты этих измерений представлены в таблице 1 и свидетельствуют, что больные БА (рассматриваемые как единая группа), не обнаруживают проявлений выраженной системной воспалительной реакции. Средний уровень СРБ у них практически не выходит за границы нормальных значений этого показателя, а содержание в крови провоспалительных цитокинов лишь умеренно повышено у них по сравнению с контрольной группой, и только уровень $\text{TNF}\alpha$ достоверно отличается от контроля. При этом уровень вДНК в плазме крови у индивидуальных больных не коррелирует ни с одним из измеренных цитокинов, ни с СРБ (коэффициенты ранговой корреляции для этих параметров близки к нулю). Исходя из полученных результатов, резонно предполагать, что наблюдаемые изменения уровня вДНК в плазме крови при БА не обусловлены хроническим воспалительным процессом в легких этих больных, а определяются некими иными патофизиологическими механизмами, природу и значение которых еще предстоит выяснить.

К несколько иному выводу приводят результаты определения степени активации нейтрофилов при БА. Хотя уровень спонтанного нетоза *in vitro* пациентов с БА и не отличался от величины этого параметра в контроле, примированность нейтрофилов из их периферической крови (т. е. величина ответа на экзогенный стимул) была достоверно увеличена по сравнению с этими показателями в контрольной группе. Этот факт хорошо согласуется с современными представлениями о роли нейтрофилов в патогенезе БА. При этом не обнаружено существенной корреляции между активностью нейтрофильных лейкоцитов и уровнем вДНК в плазме. Высокое содержание миелопероксидазы в крови больных БА прямо свидетельствует об активно происходящем нетозе нейтрофилов, но роль этого процесса в изменении уровня вДНК в плазме не очевидна, и

значимой корреляции между этими параметрами не обнаруживается ($\rho = 0,28$, $p > 0,05$).

Ввиду уже отмеченной этиопатогенетической разнородности состояний у пациентов с бронхиальной астмой, нами была предпринята попытка сравнить средние величины измеренных параметров между фенотипическими формами БА, выделяемыми в клинике НИИФКИ на основании имеющихся клинических и лабораторных данных. Результаты такого сравнения даны в таблице 2.

Видно, что, если показатели активации и нетоза нейтрофилов не обнаруживают заметных межгрупповых различий, то содержание в крови базофильных и эозинофильных гранулоцитов, закономерно возрастающее при аллергических реакциях, оказывается наибольшим при экзогенной фенотипической форме БА, патогенез которой определяется аллергизацией в ответ на антигены, поступающие в организм из внешней среды. Хорошо согласуется с выделением этих клинических форм и тот факт, что относительно повышенные значения показателей воспалительной активности (СРБ, $\text{TNF}\alpha$) выявляются у больных с эндогенной фенотипической формой БА, для которой характерно развитие хронического воспалительного процесса в дыхательных путях, в то время как в группе с экзогенной формой величина этих показателей минимальна. Это же можно заметить и относительно индекса N/L (т. е. соотношения между количеством нейтрофилов и лимфоцитов в периферической крови), который в последние годы все чаще используется в качестве диагностического критерия воспалительной активности [8]. К сожалению, малые размеры выделенных групп не позволяют говорить о достоверности наблюдаемых межгрупповых различий, однако явная закономерность вариации не одного, а одновременно многих параметров дает почти полную уверенность в реальном существовании различий по исследованным признакам между клиническими формами БА.

В связи с этим приобретает определенное значение тот любопытный факт, что, хотя по содержанию вДНК в плазме крови указанные группы практически не отличаются друг от друга, величина трипсиновой фракции вДНК (т. е. количество вДНК, ковалентно связанной с мембранами клеток крови и высвобождаемой в раствор только после кратковременной обработки трипсином) оказывается максимальной у больных с эндогенной формой БА и минимальной в группе с экзогенной фенотипической формой. Особый интерес наблюдаемому феномену придает видимое сочетание относительно большой

величины трипсиновой фракции внДНК с относительно увеличенными показателями воспалительной активности при эндогенной форме БА. На первый взгляд, это противоречит экспериментальным данным, полученным нами ранее [9], так как в этих экспериментах острая воспалительная реакция приводила не к увеличению, а к существенному уменьшению трипсиновой фракции. Можно предполагать, что такое «нелогичное» поведение внДНК у больных БА еще раз указывает на специфичность регуляции этого параметра при развитии данного заболевания.

Заключение

В заключение следует подчеркнуть, что обнаруженное в данном исследовании уменьшение содержания внДНК в плазме крови у пациентов с БА является единственным — на сегодняшний день — зафиксированным случаем угнетающего эффекта патологического процесса на этот параметр. Сущность такого воздействия еще не выяснена, но можно надеяться, что дальнейшие исследования позволят расшифровать физиологические механизмы, приводящие к возникновению подобных феноменов.

Список литературы / References

1. Гаврилова Е.Д., Демченко Е.Н., Гойман Е.В., Чумасова О.А., Вольский Н.Н., Сизиков А.Э., Козлов В.А. Внеклеточная ДНК в плазме крови и активность нейтрофильных лейкоцитов у пациентов с ревматоидным артритом // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 2. С. 147-154. [Gavrilova E.D., Demchenko E.N., Goiman E.V., Chumasova O.A., Volsky N.N., Sizikov A.E., Kozlov V.A. Plasma extracellular DNA and neutrophilic leukocyte activity in patients with rheumatoid arthritis. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2022, Vol. 25, no. 2, pp. 147-154. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1110-PED.
2. Демченко Е.Н., Гаврилова Е.Д., Гойман Е.В., Вольский Н.Н., Колесникова О.П., Козлов В.А. Внеклеточная ДНК в крови как показатель воспалительной реакции *in vivo* // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 4. С. 853-860. [Demchenko E.N., Gavrilova E.D., Goiman E.V., Volsky N.N., Kolesnikova O.P., Kozlov V.A. Extracellular DNA in blood: an index of *in vivo* inflammatory response. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2022, Vol. 24, no. 4, pp. 853-860. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-EDI-2504.
3. Козлов В.А. Свободная внеклеточная ДНК в норме и при патологии // Медицинская иммунология, 2013. Т. 15, № 5. С. 399-412. [Kozlov V.A. Free extracellular DNA in normal state and under pathological conditions. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2013, Vol. 15, no. 5, pp. 399-412. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2013-5-399-412.
4. Barrientos L., Marin-Esteban V., Chaisemartin L., Lievin Le-Moal V., Sandre C., Bianchini E., Nicolas V., Pallardy M., Chollet-Martin S. An improved strategy to recover large fragments of functional human neutrophil extracellular traps. *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 4, 166. doi: 10.3389/fimmu.2013.00166.
5. Chornenki N.L.J., Coke R., Kwong A.C., Dwivedi D.J., Xu M.K., McDonald E., Marshall J.C., Fox-Robichaud A.E., Charbonney E., Liaw P.C. Comparison of the source and prognostic utility of cfDNA in trauma and sepsis. *Intensive Care Med. Exp.*, 2019, Vol. 7, no. 1, pp. 29-38.
6. Duvvuri B., Lood C. Cell-free DNA as a biomarker in autoimmune rheumatic diseases. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 502. doi: 10.3389/fimmu.2019.00502
7. Hashimoto T., Yoshida K., Hashiramoto A., Matsui K. Cell-Free DNA in rheumatoid arthritis. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 16, 8941. doi: 10.3390/ijms22168941.
8. Huang W.J., Huang G.T., Zhan Q.M., Chen J.L., Luo W.T., Wu L.H., Wu L.Y., Wu L.Y., Lu Z.N., Sun Y.F. The neutrophil to lymphocyte ratio as a novel predictor of asthma and its exacerbation: a systematic review and meta-analysis. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2020, Vol. 24, no. 22, pp. 11719-11728.
9. Rykova E., Sizikov A., Roggenbuck D., Antonenko O., Bryzgalov L., Morozkin E., Skvortsova K., Vlassov V., Laktionov P., Kozlov V. Circulating DNA in rheumatoid arthritis: pathological changes and association with clinically used serological markers. *Arthritis Res. Ther.*, 2017, Vol. 19, 85. doi: 10.1186/s13075-017-1295-z
10. Szepechinski A., Chorostowska-Wynimko J., Struniawski R., Kupis W., Rudzinski P., Langfort R., Puscinska E., Bielen P., Sliwinski P., Orlowski T. Cell-free DNA levels in plasma of patients with non-small-cell lung cancer and inflammatory lung disease. *Br. J. Cancer*, 2015, Vol. 113, no. 3, pp. 476-483.
11. 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., Cherdyn'tseva 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, no. 1, pp. 214-217.
12. van der Meer A.J., Kroeze A., Hoogendijk A.J., Soussan A.A., van der Schoot C.E., Willemin W.A., Voermans C., van der Poll T., Zeerleder S. Systemic inflammation induces release of cell-free DNA from hematopoietic and parenchymal cells in mice and humans. *Blood Adv.*, 2019, Vol. 3, no. 5, pp. 724-728.

13. Varricchi G., Modestino L., Poto R., Cristinziano L., Gentile L., Postiglione L., Spadaro G., Galdiero M.R. Neutrophil extracellular traps and neutrophil-derived mediators as possible biomarkers in bronchial asthma. *Clin. Exp. Med.*, 2022, Vol. 22, no. 2, pp. 285-300.

14. Zhang S., Lu X., Shu X., Tian X., Yang H., Yang W., Zhang Y., Wang G. Elevated plasma cfDNA may be associated with active lupus nephritis and partially attributed to abnormal regulation of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with systemic lupus erythematosus. *Intern. Med.*, 2014, Vol. 5, no. 24, pp. 2763-2771.

Авторы:

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

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

Демина Д.В. — к.м.н., заведующая аллергологическим отделением, клиника иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

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

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

Authors:

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

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

Demina D.V., PhD (Medicine), Head, Department of Allergology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

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

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