

## Влияние нетоза на лизис фибринового сгустка при раке толстого кишечника

Паршина А.А., Цыбиков Н.Н., Терешков П.П., Караваева Т.М., Максименя М.В.

*Читинская государственная медицинская академия (ЧГМА)  
Россия, 672090, г. Чита, ул. Горького 39а*

### РЕЗЮМЕ

**Цель** – изучение особенностей формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек, а также их влияния на фибринолиз у лиц, имеющих злокачественные новообразования толстого кишечника.

**Материалы и методы.** Группу пациентов составили лица с впервые выявленным раком толстого кишечника 2–3-й стадии без метастаза (17 человек, средний возраст 67 лет); контрольную группу – доноры, сопоставимые по полу и возрасту, не имеющие злокачественных опухолей (30 человек, средний возраст 68 лет). Из цельной крови создали экспериментальную модель, включавшую бедную тромбоцитами плазму крови и изолированную культуру нейтрофилов, предварительно индуцированных к нетозу внесением 100 нмоль PMA, инкубировали 4 ч, клетки осаждали центрифугированием, плазму отбирали для дальнейшего исследования. В качестве контроля использовали плазму, инкубированную с интактными нейтрофилами. О степени активации клеток судили по уровню интерлейкина (IL) 8 и PSGL-1. Нетоз подтверждали измерением уровня нуклеосом и флуоресцентной микроскопией. Оценку фибринолиза проводили в тесте тромбодинамики. Результаты сопоставляли с концентрацией компонентов фибринолитической системы, измеренных методом проточной цитометрии.

**Результаты.** В контроле индукция нетоза вызывает выраженную активацию нейтрофилов, сопровождающуюся повышением уровня IL-8, PSGL-1, плазминогена, снижением PAI-1 и усилением фибринолиза, в сравнении с интактными образцами. У пациентов зафиксирован больший, чем в группе контроля, уровень IL-8, PSGL-1, плазминогена, PAI-1 и показателей фибринолиза в интактных образцах. При этом индукция нетоза не привела к увеличению степени активации и значимому изменению данных показателей.

**Заключение.** Гибель нейтрофилов путем нетоза в местах тромбообразования может способствовать как формированию, так и растворению фибринового сгустка. Однако у лиц со злокачественными новообразованиями «смертельный» нетоз не приводит к локальному увеличению фибринолитического потенциала ввиду истощения внутриклеточных резервов протеаз нейтрофилов, что может являться одним из механизмов развития гиперкоагуляции и недостаточности фибринолиза при онкопатологии.

**Ключевые слова:** рак, нейтрофильные внеклеточные ловушки, фибринолиз, иммунотромбоз, нетоз, гиперкоагуляция.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 19-34-90050).

**Соответствие принципам этики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено ЧГМА (протокол № 86 от 01.11.2017).

**Для цитирования:** Паршина А.А., Цыбиков Н.Н., Терешков П.П., Караваева Т.М., Максименя М.В. Влияние нетоза на лизис фибринового сгустка при раке толстого кишечника. *Бюллетень сибирской медицины.* 2021; 20 (4): 25–31. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-25-31>.

## The effects of NETosis on fibrinolysis in colon cancer patients

Parshina A.A.<sup>1</sup>, Tsybikov N.N.<sup>1</sup>, Tereshkov P.P.<sup>1</sup>, Karavaeva T.M.<sup>1</sup>, Maksimenya M.V.<sup>1</sup>

Chita State Medical Academy (CSMA)

39a, Gorkogo Str., Chita, 672090, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** To investigate formation of neutrophil extracellular traps (NETs) and their impact on fibrinolysis in patients with colon cancer.

**Materials and methods.** The study was performed in two groups. The experimental group consisted of patients with stage 2–3 non-metastatic colon cancer ( $n = 17$ , average age – 67 years). The control group included healthy volunteers matched by sex and age ( $n = 30$ , average age – 68 years). An experimental model was created from the whole blood. It included platelet-poor plasma and an isolated culture of neutrophils, previously induced to NETosis by adding 100 nmol PMA. The samples were incubated for 4 hours, then the test tubes were centrifuged to pellet cells and their remnants, and the plasma was transferred for subsequent examination. The plasma incubated with intact neutrophils was used as a control. The levels of interleukin-8 (IL-8) and P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) were used to determine the degree of cell activation. NETosis was confirmed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and fluorescent microscopy. Fibrinolysis was assessed using the thrombodynamics test. The results were compared with the levels of fibrinolytic system components measured by flow cytometry.

**Results.** In the control group, NETosis induction contributed to pronounced neutrophil activation that was accompanied by an increase in the IL-8, PSGL-1, and plasminogen levels, a decrease in PAI-1, and enhancement of fibrinolysis, compared with the intact samples. Higher levels of IL-8, PSGL-1, plasminogen, and PAI-1 and intensified fibrinolysis were detected in the intact samples. However, PMA-induced NETosis did not result in an increase in the degree of activation and significant changes in the given parameters.

**Conclusion.** NETosis promotes both formation and lysis of fibrin clots. However, in cancer patients, suicidal NETosis does not contribute to fibrinolysis due to intracellular protease depletion, which may be one of the mechanisms causing hypercoagulation and insufficient fibrinolysis in cancer.

**Key words:** cancer, neutrophil extracellular traps, fibrinolysis, immunothrombosis, NETosis, hypercoagulation.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious or potential conflict of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Project No. 19-34-90050).

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by Chita State Medical Academy (Protocol No. 86 of 01.11.2017).

**For citation:** Parshina A.A., Tsybikov N.N., Tereshkov P.P., Karavaeva T.M., Maksimenya M.V. The effects of NETosis on fibrinolysis in colon cancer patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2021; 20 (4): 25–31. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2021-4-25-31>.

## ВВЕДЕНИЕ

Известно, что наличие онкологического процесса сопровождается развитием гиперкоагуляционного статуса и тромботических осложнений. В их основе лежат синтез и экспрессия раковыми клетками тромбогенных веществ, а также комплекс реакций, включающий в себя активацию и (или) повреждение эндотелия, активацию тромбоцитов и иммунных клеток, синтез цитокинов. Нейтрофилы, как представители врожденного иммунитета, являются участниками воспалительных процессов и реакций гемостаза. В составе тромбов различной локализации обнаруживаются как сами клетки, так и продук-

ты нетоза – нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) [1]. На фоне активных исследований тромбогенных свойств НВЛ [2–7], возможность их влияния на фибринолиз, в особенности при злокачественных новообразованиях, оказалась изучена в значительно меньшей степени [8, 9].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в двух группах. Группу онкобольных составили пациенты с впервые выявленным раком толстого кишечника 2–3-й стадии без метастаза ( $n = 17$ , средний возраст 67 лет). Контрольную группу составили сопоставимые по полу и возрасту доноры, не имеющие злокачественных

опухолей (30 человек, средний возраст 68 лет). Первичный отбор доноров проводили на основании анкетирования, далее об отсутствии злокачественного процесса в группе контроля судили по результатам диспансеризации. Всем донорам перед проведением эксперимента измеряли температуру тела и выполняли общий анализ крови. Критерии исключения донора из исследования: температура тела выше 37 °С, гемоглобин менее 100 г/л, эритроциты менее  $3,5 \times 10^{12}/л$ , лейкоциты более  $10 \times 10^9/л$ , скорость оседания эритроцитов более 12 мм/ч. Прочие критерии исключения: прием антикоагулянтов/антиагрегантов, химиотерапия, острые воспалительные процессы или обострения хронических, наследственные заболевания системы крови, травмы или оперативные вмешательства в течение последних 6 мес.

Все доноры и пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Однократно забирали 25 мл периферической венозной крови в пробирки с 3,2%-м раствором цитрата натрия в качестве антикоагулянта. Для получения бедной тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали 15 мин на скорости 1 500 об./мин, отбирали плазму для повторного центрифугирования 10 мин на скорости 3 000 об./мин, 90% полученного объема переносили в отдельные пробирки.

Для изоляции нейтрофильных гранулоцитов (НГ) центрифугировали цельную кровь на двойном градиенте плотности фиколла-урографина 1,077/1,093, кольцо гранулоцитов переносили в отдельные пробирки, отмывали фосфатным буферным раствором (ФБР), клетки осаждали центрифугированием, выполняли лизис остаточных эритроцитов (VersaLyse, Beckman Coulter, США), клетки вновь отмывали ФБР, центрифугировали, отбирали супернатант и к клеточному осадку вносили 4 мл среды RPMI1640, перемешивали и получали суспензию изолированных нейтрофилов. Жизнеспособность клеток проверяли окрашиванием 0,4%-м раствором метилового синего, использовали культуру при ее жизнеспособности не менее 98%. Количество клеток доводили до  $4,5-6 \times 10^6/мл$ .

Затем в две отдельные пробирки вносили по 1 мл суспензии, клетки осаждали центрифугированием, удаляли культуральную среду, после чего в одну пробирку к клеточному осадку добавляли 5 мкл ФБР, затем 1 мл аутоплазмы, перемешивали и получали суспензию интактных нейтрофилов в аутоплазме. В другую пробирку к клеточному остатку добавляли 5 мкл (100 нмоль) индуктора нетоза Phorbol-12-Myristate-13-Acetate (PMA) (Sigma Aldrich, США), затем 1 мл аутоплазмы, перемешивали и получали суспензию индуцированных к нетозу нейтрофилов в

аутоплазме. Полученные образцы обозначали следующим образом: PPP – бедная тромбоцитами плазма; INT – плазма, содержащая интактные нейтрофилы; PMA – плазма, содержащая предварительно индуцированные к нетозу нейтрофилы.

Образцы инкубировали 4 ч при 37 °С. Далее пробирки с INT и PMA центрифугировали для осаждения клеток и их остатков, плазму переносили в отдельные пробирки. Каждый образец плазмы исследовали в тесте тромбодинамики (ООО «Гема-Кор», Россия): регистрировали время начала лизиса фибринового сгустка (LOT), динамику лизиса (LP), время полного лизиса сгустка (LTE). Определяли концентрацию следующих компонентов: фибриноген (Fib), плазминоген/плазмин (PLS), тканевой активатор плазминогена (tPA), ингибитор активатора плазминогена 1 типа (PAI-1), P-селектин гликопротеинлиганд 1 (PSGL-1), интерлейкин 8 (IL-8), с использованием наборов для мультиплексного анализа (Human Thrombosis Panel, BioLegend, США и Human Fibrinolysis Panel, BioLegend, США) методом проточной цитометрии. Об индукции нетоза судили по уровню внеклеточной ДНК (вкДНК), измеренной методом ИФА (Cell Death Detection ELISA<sup>plus</sup>, Roche, Германия), а также путем визуализации с использованием флуоресцентной микроскопии.

Для этого 1 мл образцов INT и PMA, подготовленных по вышеописанной схеме, помещали в чашки для культур клеток, предварительно покрытую поли-L-лизином (Poly-L-Lysin, Sigma Aldrich, США). Чашки инкубировали 4 ч при 37 °С. После этого чашки трехкратно промывали ФБР, адгезированные клетки окрашивали с помощью красителя Sytox Green (Beckman Coulter, США), НВЛ визуализировали с использованием микроскопа Zoe Fluorescent Cell Imager (BioRad, США), зеленый канал,  $\times 20$ .

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel и Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха  $Me [Q_1; Q_3]$ . Для сравнения результатов внутри групп использовали тест Вилкоксона, для сравнения между группами контроля и пациентов – U-тест Манна – Уитни. Значимыми считали отличия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Нетоз в группах контроля и пациентов подтвержден увеличением уровня вкДНК в образцах PMA по сравнению с интактными ( $p_1 = 0,008$  и  $p_2 = 0,05$ , таблица). Кроме этого, микроскопия культур НГ позволила визуализировать НВЛ. На рисунке про-

демонстрированы интактные нейтрофилы и НВЛ в группе контроля (*a* и *b* соответственно) и пациентов (*c* и *d* соответственно). О степени активации клеток можно судить по продукции специфичного для нейтрофилов IL-8, а также по уровню свободного PSGL-1. Так, в контроле содержание IL-8 и PSGL-1 максимально в образцах плазмы после нетоза, однако у пациентов увеличения концентрации данных молекул в соответствующих образцах не выявлено. Влияние НВЛ на процесс фибринолиза зарегистрировано в контроле: увеличилась динамика лизиса фибрино-

вого сгустка (LP) и заметно сократилось время его полного растворения (LTE) (см. таблицу). В группе пациентов значимого изменения показателей фибринолиза не зафиксировано.

Изменение концентрации плазменных участников гемостаза, ассоциированных с нетозом, также выявлено в контроле: в образцах РМА по сравнению с интактными выявлено повышение уровня плазминогена и снижение – PAI-1. В группе пациентов колебание концентраций компонентов системы фибринолиза незначимо (см. таблицу).

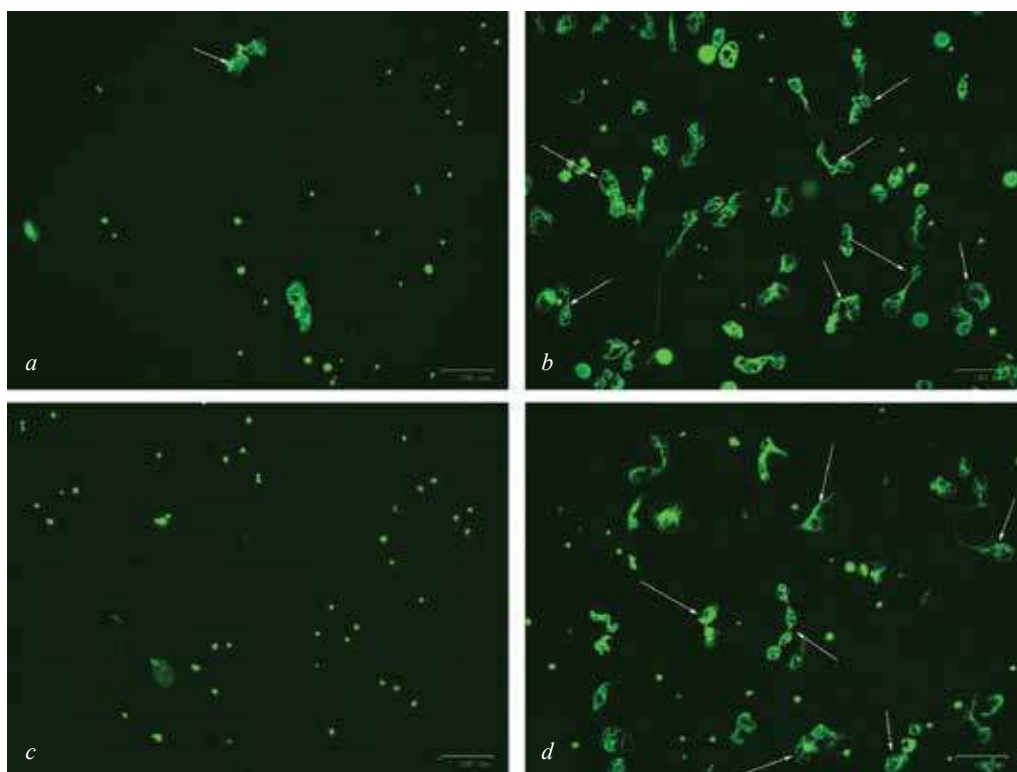


Рисунок. Интактные нейтрофилы: в контроле (*a*), группе пациентов (*c*); нейтрофильные внеклеточные ловушки: в контроле (*b*), группе пациентов (*d*). Краситель Sytox Green,  $\times 20$ . Белые стрелки – нейтрофильные внеклеточные ловушки

Таблица

Показатели активации и влияние интактных и индуцированных к нетозу нейтрофилов на фибринолиз и концентрацию компонентов фибринолитической системы, Me [Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> ]						
Показатель	Группа контроля			p	Группа пациентов	
		Значение показателя	p <sub>1</sub>		Значение показателя	p <sub>2</sub>
вкДНК, ед. опт. пл.	INT	0,38 [0,22; 0,48]	0,008*	0,1	0,26 [0,18; 0,33]	0,01*
	PMA	0,5 [0,4; 0,6]		0,03*	0,34 [0,26; 0,41]	
PSGL-1, пг/мл	INT	865 [620,5; 1018,7]	0,01*	0,3	781,25 [431,8; 926,5]	0,2
	PMA	1236,7 [1071,2; 1340,5]		0,05*	791,5 [538,8; 1254,3]	
IL-8, пг/мл	INT	2422 [880,8; 4852,5]	0,007*	0,7	3150,7 [2007; 5470,8]	0,6
	PMA	7836,2 [5422,5; 10786,]		0,07	1677 [1006,8; 7777]	
LOT, мин	INT	30,2 [28,3; 40,7]	0,7	0,02*	24,8 [16,7; 28,6]	0,5
	PMA	29 [28,1; 36,7]		0,01*	24,1 [19; 25,5]	
LP, %/мин	INT	2,7 [2,2; 2,9]	0,01*	0,0003*	8,8 [5,1; 12,4]	0,4
	PMA	3 [2,9; 3,8]		0,001*	9,2 [4,7; 17,1]	

Показатель	Группа контроля		$p$	Группа пациентов		
	Значение показателя			$p_2$		
LTE, мин	INT	40,6 [36,8; 50,6]	0,02*	0,002*	16,9 [12,6; 22,4]	0,8
	PMA	35,2 [27,8; 37,1]		0,001*	16 [12,4; 24,8]	
PLS, мкг/мл	INT	547,1 [475; 732,5]	0,008*	0,007*	805,1 [783,7; 825,6]	0,9
	PMA	767,7 [662; 864,1]		0,7	820 [787,9; 845]	
tPA, пг/мл	INT	63,5 [61,6; 64,7]	0,4	0,0001*	440,5 [227,5; 607,75]	0,5
	PMA	61,3 [59,7; 65,7]		0,0001*	389,7 [247; 672]	
PAI-1, пг/мл	INT	2101,5 [508; 2681,3]	0,008*	0,001*	6376,2 [5258,5; 9428,8]	0,6
	PMA	1328,2 [1044,4; 2157,8]		0,0002*	7956,7 [5332,5; 10645,6]	
Fib, мкг/мл	INT	2882,7 [1877,3; 3142,6]	0,9	0,04*	3203,4 [2749,6; 6229,9]	0,6
	PMA	2355,8 [1745; 3206,6]		0,08	3384,7 [2723,7; 8997]	

Примечание. INT – плазма после инкубации интактных нейтрофилов; PMA – плазма после инкубации PMA-индуцированных нейтрофилов; вкДНК – внеклеточная ДНК, ед. оп. пл. – единицы оптической плотности. Уровень значимости различий между группами контроля и пациентов (*U*-тест Манна – Уитни) –  $p$ ; уровень значимости различий между образцами INT и PMA в группе контроля (тест Вилкоксона) –  $p_1$ ; уровень значимости различий между образцами INT и PMA в группе пациентов (тест Вилкоксона) –  $p_2$ .

\* значимые отличия при  $p < 0,05$ .

## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты демонстрируют разную эффективность индукции нетоза в исследованных группах. Меньший уровень вкДНК у пациентов (см. таблицу) позволяет говорить о том, что в использованной нами модели меньшее количество клеток погибло именно путем продукции НВЛ. Связано это, вероятно, с изменением эффективности внутриклеточного проведения стимула в виду преобладания иных сигнальных путей. Известно, что раковые клетки способны регулировать активность лейкоцитов в выгодную для прогрессии злокачественного процесса сторону [10–14], не исключено, что различный цитокиновый фон может повлиять и на «готовность» НГ к нетозу и (или) преобладающий путь (литический или прижизненный нетоз) [15].

Использованный нами PMA индуцирует литический (смертельный) нетоз, сопряженный с выходом в плазму не только хроматина, но и всех клеточных протеаз, которые и способствуют как выраженной активации системы плазминогена, так и неспецифическому протеолизу фибрина, показанному нами также ранее [16], где в присутствии апротинина не было зафиксировано признаков НВЛ-ассоциированного лизиса фибриновых пластин. Кроме большого количества клеток, подвергшихся нетозу, более выраженное воздействие на систему фибринолиза у здоровых лиц может быть обусловлено и способностью PAD4 – одного из ключевых ферментов нетоза, модифицировать структуру фибриногена. Это ведет к нарушению формирования фибрина и изменению его структуры [17, 18] и в данной работе может лежать в основе интенсификации фибринолиза в образцах PMA в контроле (см. таблицу).

Отсутствие усиления фибринолиза у пациентов в представленном эксперименте мы связываем с более слабым ответом клеток на индуктор (ниже уровень вкДНК и PSGL-1), с высокой концентрацией и активностью ингибиторов фибринолиза, в частности PAI-1, с преобладанием у онкобольных прокоагулянтных факторов, с исходно высокой активностью нестимулированных клеток (INT), что позволяет предположить меньшую внутриклеточную концентрацию протеаз, в связи с постоянной их секрецией во внеклеточное пространство, и, как следствие, незначительное нарастание их количества в процессе литического нетоза (что справедливо и для IL-8). На основании накопленных сведений мы предполагаем, что НВЛ как итог смертельного или прижизненного нетоза обладают разной активностью в отношении коагуляции и фибринолиза в связи с отличающимся количеством одномоментно выделяющего хроматина и разным составом ловушек, зависящим от стимулирующего сигнала [15], что лучше отражает ситуацию *in vivo*, однако это только предстоит проверить.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Компоненты НВЛ способны оказывать не только тромбогенный эффект, реализуемый за счет контакта нуклеосом с факторами свертывания крови, тромбоцитами и эндотелием, но и фибринолитический, основанный на активации системы плазмина и неспецифическим протеолизом фибрина, что вкупе с фагоцитозом тромбов другими лейкоцитами способствует реканализации сосудов после завершения реакций гемостаза. Однако наличие злокачественного процесса значительно смещает баланс «коагуляция – тромболитизис» в сторону фибринообразования за

счет развития местного и системного воспалительного ответа, изменению пути формирования НВЛ и их количества и преобладанию прокоагулянтных эффектов вкДНК над фибринолитическим потенциалом протеаз НГ. Это в сочетании с высоким уровнем ингибиторов фибринолиза, в конечном итоге, вносит свой вклад в формирование состояния хронической гиперкоагуляции, характерной для онкопатологии.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004; 303 (5663): 1532–1535. DOI: 10.1126/science.1092385.
2. Fuchs T.A., Brill A., Duerschmied D., Schatzberg D., Monestier M., Myers D.D. Jr., Wroblewski S.K., Wakefield T.W., Hartwig J.H., Wagner D.D. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *PNAS*. 2010; 107 (36): 15880–15888. DOI: 10.1073/pnas.1005743107.
3. Martinod K., Demers M., Fuchs T.A., Wong S.L., Brill A., Gallant M., Hu J., Wang Y., Wagner D.D. Neutrophil histone modification by peptidylarginine deiminase 4 is critical for deep vein thrombosis in mice. *PNAS*. 2013; 110 (21): 8674–8679. DOI: 10.1073/pnas.1301059110.
4. Czaikoski P.G., Mota J. M.S.C., Nascimento D.C., Sônego F., Castanheira F.V.e S., Melo P.H., Scortegagna G.T., Silva R.L., Barroso-Sousa R., Souto F.O., Pazin-Filho A., Figueiredo F., Alves-Filho J.C., Cunha F.Q. Neutrophil extracellular traps induce organ damage during experimental and clinical sepsis. *PLoS One*. 2016; 11 (2): e148142. DOI: 10.1371/journal.pone.0148142.
5. Budnik I., Brill A. Immune factors in deep vein thrombosis initiation. *Trends in Immunology*. 2018; 39 (8): 610–623. DOI: 10.1016/j.it.2018.04.010.
6. Grover S.P., Mackman N. Neutrophils, NETs, and immunothrombosis. *Blood*. 2018; 132 (13): 1360–1361. DOI: 10.1182/blood-2018-08-868067.
7. Iba T., Hashiguchi N., Nagaoka I., Tabe Y., Murai M. Neutrophil cell death in response to infection and its relation to coagulation. *Journal of Intensive Care*. 2013; 1 (1): 13. DOI: 10.1186/2052-0492-1-13.
8. Федоткина Ю.А., Панченко Е.П. Тромбозы в онкологии. Часть 1. *Атеротромбоз*. 2017; 1: 11–15. DOI: 10.21518/2307-1109-2017-1-11-15.
9. Falanga A., Schieppati F., Russo L. Pathophysiology 1. Mechanisms of thrombosis in cancer patients. In: Soff G. (eds) Thrombosis and hemostasis in cancer. *Cancer Treatment and Research*. 2019; 179: 11–36. DOI: 10.1007/978-3-030-20315-3\_2.
10. Chennakrishnaiah S., Meehan B., D’Ast E., Montermini L., Lee T.H., Karatzas N., Buchanan M., Tawil N., Choi D., Divangahi M., Basik M., Rak J. Leukocytes as a reservoir of circulating oncogenic DNA and regulatory targets of tumor-derived extracellular vesicles. *J. Thromb. Haemost.* 2018; 16 (9): 1800–1813. DOI: 10.1111/jth.14222.
11. Таширева Л.А., Перельмутер В.М., Манских В.Н., Денисов Е.В. Савельева О.Е., Кайгородова Е.В., Завьялова М.В. Типы иммуновоспалительных реакций как алгоритмы взаимодействия клеток в условиях репаративной регенерации и опухолевого роста. *Биохимия*. 2017; 82 (5): 732–748.
12. Demers M., Wong S.L., Martinod K., Gallant M., Cabral E., Wang Y., Wagner D.D. Priming of neutrophils toward netosis promotes tumor growth. *Oncimmunology*. 2016; 5 (5): e1134073. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1134073.
13. Shaul M.E., Fridlender Z.G. Cancer-related circulating and tumor-associated neutrophils –subtypes, sources and function. *FEBS J*. 2018; 285 (23): 4316–4342. DOI: 10.1111/febs.14524.
14. Leal A.C., Mizurini D.M., Gomes T., Rochael N.C., Saraiva E.M., Dias M.S., Werneck C.C., Sielski M.S., Vicente C.P., Monteiro R.Q. Tumor-derived exosomes induce the formation of neutrophil traps: Implications for the establishment of cancer-associated thrombosis. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 6438. DOI: 10.1038/s41598-017-06893-7.
15. Thiam H.R., Wong S.L., Wagner D.D., Waterman C.M. Cellular Mechanisms of NETosis. *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 2020; 36: 191–218. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-020520-111016.
16. Паршина А.А., Цыбиков Н.Н. Влияние нейтрофильных внеклеточных ловушек на коагуляционный гемостаз и фибринолиз у пациентов со злокачественными новообразованиями толстого кишечника. *Забайкальский медицинский вестник*. 2019; 4: 90–96.
17. Damiana T., Damgaard D., Sidelmann J.J., Nielsen C.H., de Maat M.P., Münster A.M.B., Palarasah Y. Citrullination of fibrinogen by peptidylarginine deiminase 2 impairs fibrin clot structure. *Clinica Chimica Acta*. 2020; 501: 6–11. DOI: 10.1016/j.cca.2019.10.033.
18. Zhou Y., Chen B., Mittereder N., Chaerkady R., Strain M., An L.-L., Rahman S., Ma W., Low C.P., Chan D., Neal F., Bingham III C.O., Sampson K., Darrah E., Siegel M.R., Hasni S., Andrade F., Vousden K.A., Mustelin T., Sims G.P. Spontaneous secretion of the citrullination enzyme PAD2 and cell surface exposure of PAD4 by neutrophils. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8: 1200. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01200.

### Вклад авторов

Паршина А.А. – разработка концепции и дизайна, выполнение эксперимента, анализ и интерпретация данных, написание рукописи. Цыбиков Н.Н. – разработка концепции, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, утверждение рукописи для публикации. Терешков П.П. – выполнение эксперимента, проверка критически важного интеллектуального содержания. Караваева Т.М. – анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания. Максименя М.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания.

## Сведения об авторах

**Паршина Анастасия Анатольевна**, аспирант, кафедра патологической физиологии, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0002-1458-2385.

**Цыбиков Намжил Нанзатович**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0002-0975-2351.

**Терешков Павел Петрович**, канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория клинической и экспериментальной биохимии и иммунологии, НИИ молекулярной медицины, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0002-8601-3499.

**Караева Татьяна Михайловна**, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинической и экспериментальной биохимии и иммунологии, НИИ молекулярной медицины, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0002-0487-6275.

**Максименя Мария Владимировна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинической и экспериментальной биохимии и иммунологии, НИИ молекулярной медицины, ЧГМА, г. Чита. ORCID 0000-0001-6308-3411.

(✉) **Паршина Анастасия Анатольевна**, e-mail: a.parshina.csma@gmail.com

Поступила в редакцию 06.08.2020

Подписана в печать 28.12.2020