

ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-2-1073

УДК 576.3.08:57.084:612.1:616.151: 636.034



Научная статья

**ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙТРОФИЛОВ
ПРИ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ СТРЕССЕ У КОРОВ
МЕТОДАМИ ЛАЗЕРНОЙ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОЙ
И ЭЛЕКТРОННОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ
МИКРОСКОПИЙ**

*А.В. Дерюгина, М.Н. Иващенко, В.Б. Метелин,
Р.С. Ковылин, П.С. Игнатъев*

Обоснование. Интенсивная технология производства молока создает целый ряд факторов, которые способны ввести животное в состояние технологического стресса. Действие стресса отражается на неспецифической резистентности, которая представляет способность организма противостоять действию неблагоприятных факторов за счет поддержания защитных сил на должном уровне. Нейтрофилы одни из первых защитных клеточных барьеров, которые быстро мобилизуются при воздействии стресс-факторов.

Для расшифровки происходящих изменений в ответ на действие стрессоров требуется привлечение разных оценочных средств. Одним из возможных методологических подходов является использование различных методов визуализации, обеспечивающих доступ к пространственно-временной информации на уровне отдельных оргanelл и клеток

Цель. Изучение морфо-функционального состояния нейтрофилов при технологическом стрессе у крупного рогатого скота методами лазерной интерференционной и электронной сканирующей микроскопий.

Материалы и методы. Работа проведена на 30 клинически здоровых высокопродуктивных коровах чёрно-пёстрой породы. В качестве технологического стресса рассматривали совокупность воздействий: перегруппировку

животных и смену обслуживающего персонала. В работе проводили анализ нейтрофилов методом лазерной интерференционной и электронной сканирующей микроскопий.

Результаты. Показано изменение морфологической структуры и функциональной активности нейтрофилов после технологического стресса. При анализе интерферограмм выявлено увеличение гетерогенности нейтрофилов за счет появления дегенеративно измененных форм клеток при увеличении количества функционально активных нейтрофилов. Проведение электронной сканирующей микроскопии позволило выявить появление после технологического стресса НЕТозов и нейтрофилов с опустошенными гранулами и вакуолизацией цитоплазмы.

Заключение. Выявленные морфо-функциональные изменения нейтрофилов коров доказывают напряжение механизмов адаптации при технологическом стрессе. Данное обстоятельство необходимо учитывать для предотвращения срыва адаптационных возможностей организма высокопродуктивных животных.

Ключевые слова: нейтрофилы; лазерная интерференционная микроскопия; электронная сканирующая микроскопия; технологический стресс; крупный рогатый скот

Для цитирования. Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Метелин В.Б., Ковылин Р.С., Игнатьев П.С. Исследование нейтрофилов при технологическом стрессе у коров методами лазерной интерференционной и электронной сканирующей микроскопий // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2024. Т. 16, №2. С. 11-27. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-2-1073

Original article

INVESTIGATION OF NEUTROPHILS UNDER TECHNOLOGICAL STRESS IN COWS BY METHODS OF LASER INTERFERENCE AND ELECTRON SCANNING MICROSCOPY

*A.V. Deryugina, M.N. Ivashchenko, V.B. Metelin,
R.S. Kovylin, P.S. Ignatiev*

Background. Intensive milk production technology creates a number of factors that can put an animal into a state of technological stress. The effect of stress is reflected in nonspecific resistance, which represents the body's ability to

resist the effects of adverse factors by maintaining protective forces at the proper level. Neutrophils are one of the first protective cellular barriers that are rapidly mobilized when exposed to stress factors. To decipher the changes taking place in response to the action of stressors, the involvement of various evaluation tools is required. One of the possible methodological approaches is the use of various visualization methods that provide access to spatio-temporal information at the level of individual organelles and

Purpose. *The study of the morpho-functional state of neutrophils under technological stress in cattle by laser interference and electron scanning microscopy.*

Materials and methods. *The work was carried out on 30 clinically healthy highly productive black-and-white cows. A combination of impacts was considered as technological stress: the rearrangement of animals and the change of service personnel. Neutrophils were analyzed by laser interference and electron scanning microscopy.*

Results. *A change in the morphological structure and functional activity of neutrophils after the action of technological stress is shown. The analysis of interferograms revealed an increase in the heterogeneity of neutrophils due to the appearance of degeneratively altered cell forms with an increase in the number of functionally active neutrophils. Electron scanning microscopy revealed the appearance of NEToses and neutrophils with emptied granules and vacuolization of the cytoplasm after technological stress.*

Conclusion. *The revealed morphofunctional changes in neutrophils prove the strain of adaptation mechanisms under technological stress. This circumstance must be taken into account in order to prevent disruption of the adaptive capabilities of the organism of highly productive animals.*

Keywords: *neutrophils; laser interference microscopy; electron scanning microscopy; technological stress; cattle*

For citation. *Deryugina A.V., Ivashchenko M.N., Metelin V.B., Kovylin R.S., Ignatiev P. S. Investigation of Neutrophils under Technological Stress in Cows by Methods of Laser Interference and Electron Scanning Microscopy. Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture, 2024, vol. 16, no. 2, pp. 11-27. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-2-1073*

Введение

В перечне проблем фундаментального характера остается исследование процессов ответа клеток на действия внешней среды и тем более такого комплексного воздействия как стресс-факторы. Действие стресса отражается, прежде всего, на неспецифической резистентности, кото-

рая представляет способность организма противостоять действию неблагоприятных факторов за счет поддержания защитных сил на должном уровне [9, 17]. Нейтрофилы рассматриваются как первый защитный клеточный барьер, которые быстро мобилизуются из кровотока в инфекционный очаг или место повреждения [18, 20]. Стоит обратить внимание, что изучению нейтрофилов уделяется огромное внимание, когда речь идет о воспалительных заболеваниях, поскольку роль нейтрофилов в воспалении неоспорима [1, 4, 13]. Тем не менее, на наш взгляд, не стоит недооценивать роли нейтрофилов в реализации стрессовой реакции с одной стороны как клеток выполняющих защитную функцию, с другой – возможных деструкторов за счет секреции активных форм кислорода и ряда медиаторов.

Для понимания и расшифровки происходящих изменений в ответ на действие стрессоров требуется привлечение разных оценочных средств. Одним из возможных методологических подходов является использование различных методов визуализации, обеспечивающих доступ к пространственно-временной информации на уровне отдельных органелл и клеток. Использование интерференционных методов для анализа внутриклеточной динамики процессов дает ряд преимуществ перед другими оптическими методами: меньшую инвазивность (отсутствие флуоресцентных маркеров), более высокую чувствительность и быстрдействие, а так же представление локальной оптической разности хода (или фазовой толщины) в нормированных на длину волны значениях [10]. Сканирующая электронная микроскопия является современным методом исследования при проведении медико-биологических исследований, позволяющим визуализировать топографию поверхности образцов [8].

Целью работы ставилось изучение морфо-функционального состояния нейтрофилов при технологическом стрессе с помощью лазерной интерференционной и электронной сканирующей микроскопий.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования было клинически здоровое молочное поголовье высокопродуктивных голштинизированных коров чёрно-пёстрой породы второй лактации (n=30). Животные содержались в условиях промышленного комплекса Нижегородской области в типовом коровнике, получали рацион, принятый в хозяйстве и соответствующий нормам кормления. Исследования проводились в зимний период года, наиболее стрессогенный.

Выбор объекта исследования продиктован стратегической задачей современного животноводства, связанной с уменьшением потерь наносимых технологическим стрессом, который вызывает более высокую восприимчивость животных к патогенам и снижение продуктивности животных [23].

В качестве технологического стресса рассматривали совокупность воздействий: перегруппировку животных и смену обслуживающего персонала, действующих ежедневно в течение 7 суток. Исследование морфо-функционального состояния нейтрофилов проводили до технологического стресса и на первые сутки после технологического стресса. Забор крови проводили из яремной вены утром перед кормлением.

Проводили анализ нейтрофилов методами лазерной интерференционной и электронной сканирующей микроскопий.

Для выделения нейтрофилов использовали двойной градиент плотности стерильных растворов фиколла-верографина. Плотность верхнего слоя градиента составляла 1,077 г/см³, нижнего – 1,093 г/см³. Объем градиента для каждого образца равнялся 1,5 мл. После центрифугирования гранулоциты отмывали от градиента и доводили раствором Хенкса до концентрации 5×10^6 клеток/мл.

Оценку морфо-функционального состояния нейтрофилов проводили на лазерном фазово-интерференционном микроскопе МИМ-340 (Россия, Екатеринбург), используя лазер с длиной волны 650 нм и объектив с увеличением 30×. Для захвата изображений применяли видеокамеру VS-415U (НПК Videoscan, Россия) с разрешением 782×582 пикселей [5, 6]. Реконструкцию фазового изображения из интерферограмм осуществляли методом фазовых шагов в программе WinPhast, для последующей работы с изображениями использовали программу FIJI (США) и Microcal Origin (Microcal Inc., США).

Протокол интерференционной микроскопии включал визуализацию фазово-интерференционного образа клетки (топограмму) и анализ морфометрических показателей клеток. Количество (M) вещества в нейтрофилах оценивали [7]:

$$M = \rho \Phi_{\text{mean}} S / (n - n_m)$$

где ρ – удельная плотность вещества (для белка 1.33–1.36), n – показатель преломления вещества (для белка 1.5–1.6), n_m – показатель светопреломления среды, Φ_{mean} – среднее значение величины оптической разности хода (ОРХ) в клетке, S – площадь клетки.

Методом электронной сканирующей микроскопией исследовали качественные характеристики нейтрофилов. Использовали сканирующий элек-

тронный микроскоп Hitachi SU8220 (Япония): разрешение 0,8 нм при 15 кВ, WD 4 мм 1,1 нм при 1 кВ в режиме торможения электронов. Увеличение: низкое $\times 20$ - $\times 2,000$; высокое $\times 100$ - $\times 1\,000\,000$. При анализе образцов мазки крови фиксировали глутаровым альдегидом с последующей отмывкой в фосфатном буфере без замораживания, сушки и нанесения электропроводящего покрытия [11].

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью алгоритмов среды MatLab и с использованием программы Statistica, оценку достоверности – по критерию Стьюдента. Уровень значимости устанавливался равным 0.05. При статистической обработке от одной пробы оценивали не менее 40 клеток.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведение лазерной интерференционной микроскопии нейтрофилов до технологического стресса, позволило выделить две наиболее выраженные популяции клеток (рис. 1). Первая популяция клеток представлена формами покоя – I морфологический тип [2]: на топограммах видно, что клетки округлой формы с четко выделенным ядром и равномерным распределением внутриклеточного содержимого (рис. 1 А). Нейтрофилы данного типа имели высокую плотность внутриклеточного содержимого. Вторая популяция клеток имела неровную поверхность, происходило пространственное перераспределение цитоплазмы, внутриклеточных органелл и ядра, что представляет II морфологический тип – функционально активных нейтрофилов (рис. 1 Б). Деформированность контуров клетки говорит о той или иной степени ее активности [9].

После технологического стресса наблюдалось уменьшение I морфологического типа и увеличение II морфологического типа, что сопровождалось появлением дегенеративно изменённых нейтрофилов, исчерпавших свой резерв клеток – III морфологический тип (рис. 1 В, рис. 2). У клеток III морфологического типа наблюдалось снижение клиренса плотности внутриклеточного содержимого.

Обработка фазовых изображений выявила, что среднее значение фазовой высоты после технологического стресса уменьшалось, среднее значение площади клеток увеличивалось (рис. 3). Следует отметить, что у дегенеративно изменённых клеток наблюдалось не только уменьшение фазовой высоты, но и площади. При этом регистрировалось потеря вещества нейтрофилами, возникающая, по-видимому, в результате повреждения мембран клеток и выхода веществ наружу.

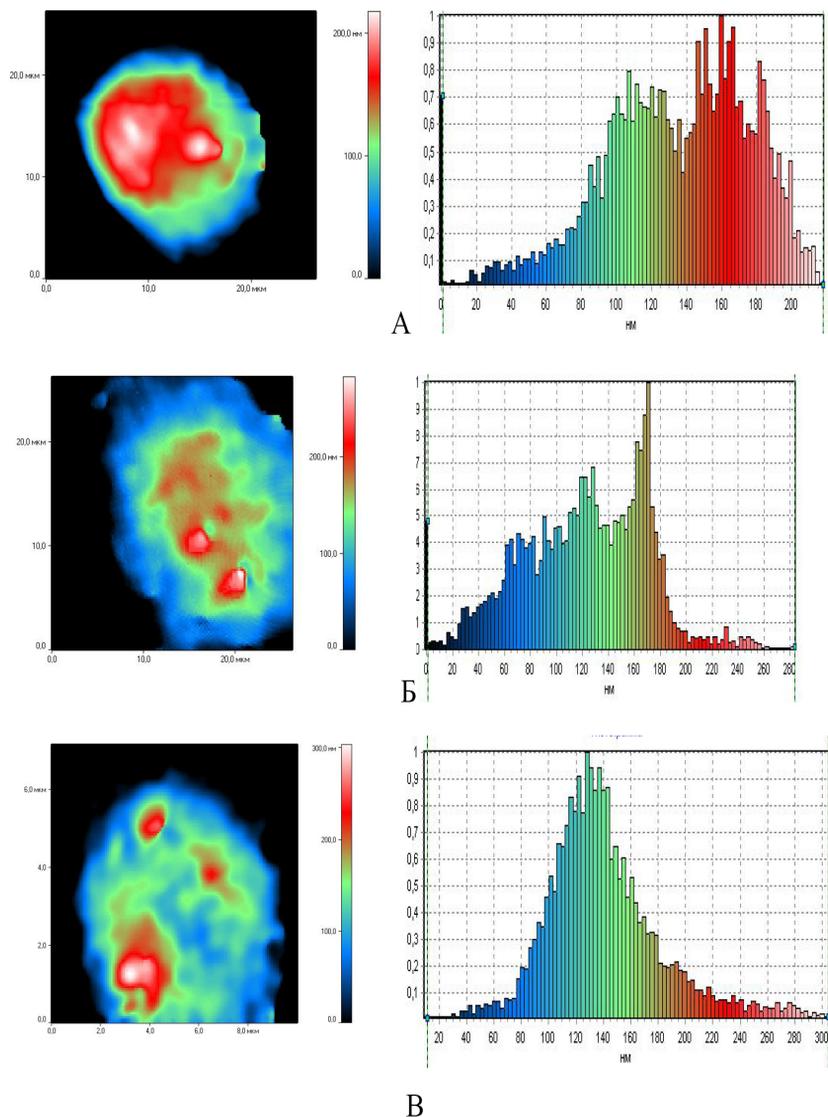


Рис. 1. Различные морфологические типы нейтрофилов.
А – I морфологический тип: фазовое изображение (топограмма) и гистограмма распределения оптической плотности; Б – II морфологический тип;
В – III морфологический тип.

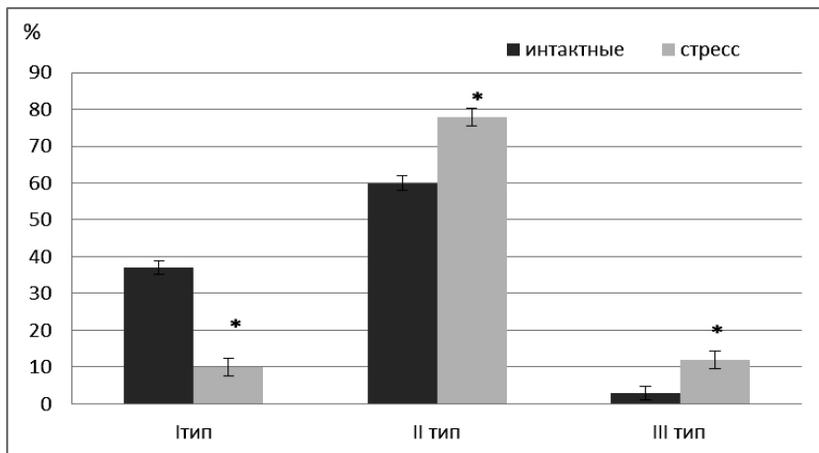


Рис. 2. Распределение нейтрофилов по морфологическому типу: I морфологический тип – неактивные нейтрофилы, II морфологический тип – функционально активные нейтрофилы, III морфологический тип – дегенеративно измененные нейтрофилы.

«*» – статистически значимые различия относительно значений до технологического стресса, $p \leq 0.05$.

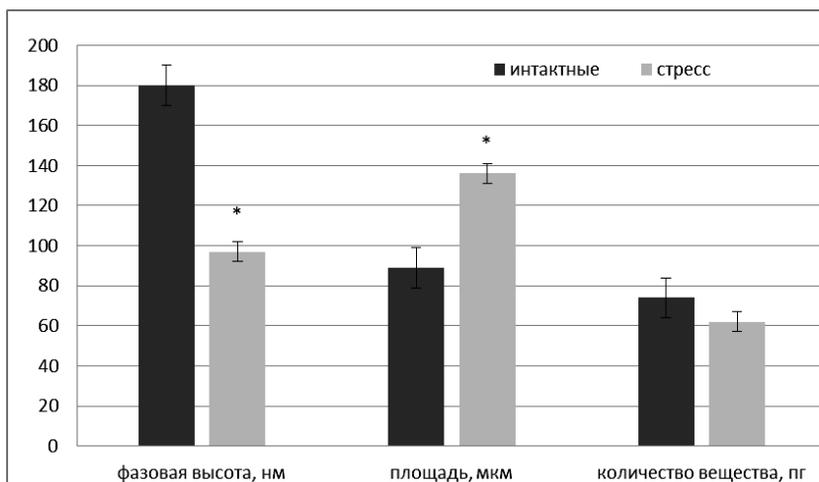


Рис. 3. Гистограмма средней фазовой высоты, средней площади и количества вещества нейтрофилов до и после технологического стресса.

«*» – статистически значимые различия относительно значений до технологического стресса, $p \leq 0.05$.

Проведение электронной сканирующей микроскопии позволило выявить появление после технологического стресса НЕТозов с сохранением целостности клеток (рис. 4 А) и нейтрофилов с опустошенными гранулами и вакуолизацией цитоплазмы (рис. 4 Б).

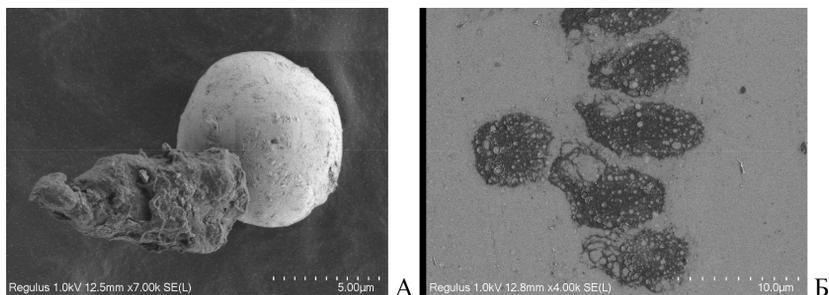


Рис. 4. Сканирующая электронная микроскопия: топографическое изображение НЕТоза (А) и нейтрофилов с опустошенными гранулами (Б) после технологического стресса.

Заключение

Выявленное появление дегранулированных форм клеток после технологического стресса сопровождалось увеличением активных форм нейтрофилов. Вероятно, это обусловлено тем, что первичные гранулы, содержащие миелопероксидазу, азуроцидин, катепсин G, эластазу, лизоцим, дефензины, преимущественно сливаются с фагосомами [22]. Остальные гранулы преимущественно выделяют свое содержимое наружу [9].

Проявление НЕТозов в крови коров при технологическом стрессе может быть направлено на замедление распространения патогенов, поскольку показан механизм выброса ДНК в очагах инфекций, при которых нейтрофилы сохраняют свою жизнеспособность и естественные эффекторные функции [25, 26]. При этом классический НЕТоз представляет собой особую форму программируемой гибели клеток, для которой характерны выход компонентов гранул в цитозоль с последующей гибелью клеток [15, 16] и избыточное образование НЕТозов может привести к развитию патологии, а также к нарушению кровообращения [20].

Учитывая, что болезнь может возникать только при нарушении нормальной реактивности организма [3], выявленные в работе морфо-функциональные изменения нейтрофилов доказывают напряжение механизмов адаптации при технологическом стрессе. Данное обстоятельство необхо-

димо учитывать для предотвращения срыва адаптационных возможностей организма высокопродуктивных животных.

Заключение комитета по этике. Исследование проводили в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в научных целях (ETS №123, Страсбург, 1986) и Приказа МЗ РФ № 708 Н от 28 августа 2010 г.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о спонсорстве. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-26-00311.

Список литературы

1. Андрюков Б.Г. и соавт. Антимикробные стратегии нейтрофилов при инфекционной патологии / Б.Г. Андрюков, Л.М. Сомова, Е.И. Дробот, Е.В. Матосова // Клиническая лабораторная диагностика. 2016. Т. 61. №12. С. 825.
2. Василенко И.А. и др. Цитометрия нейтрофилов в оценке эффективности комплексного лечения больных остеомиелитом нижней челюсти / И.А. Василенко, А.А. Никитин, Н.В. Малыченко, И.А. Иванюта, В.Б. Метелин, Б.Я. Агаджанян // Альманах клинической медицины. 2008. №18. С. 64.
3. Гаврилова Г.А. и др. Неспецифическая резистентность коров, инфицированных ВЛКРС и больных лейкозом / Г.А. Гаврилова, С.В. Бахметьева // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2005. №1. С. 118.
4. Демидчик Л.А. Исследование нейтрофилов у больных с экзогенными токсическими нефропатиями / Л.А. Демидчик, Е.В. Клочкова, Е.А. Рассохина // Современные проблемы науки и образования. 2018. №6. С. 49.
5. Дерюгина А.В. и др. Трансляционные изменения электрофоретической подвижности и фазового портрета эритроцитов с учетом развития стрессовой реакции в условиях патологического процесса / А.В. Дерюгина, М.Н. Иващенко, П.С. Игнатьев, А.Г. Самоделкин // Альманах клинической медицины. 2018. Т. 46. №8. С. 765-771.
6. Дерюгина А.В. и др. Применение лазерной интерференционной микроскопии для оценки функционального состояния эритроцитов / А.В. Дерюгина, М.Н. Иващенко, А.А. Белов, П.С. Игнатьев, В.Б. Метелин // Цитология. 2021. Т. 63. №1. С. 74.
7. Загубиженко М.В. и др. Использование метода лазерной интерференционной микроскопии для исследования состояния перитонеальных макро-

- фагов мыши, облученных ультрафиолетовым светом / Загубиженко М.В., Юсипович А.И., Пирутин С.К., Минаев В.Л., Кудряшов Ю.Б. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. №6. С. 715.
8. Красильникова В.Л. и др. Сканирующая электронная микроскопия в изучении поверхностных тканевых реакций при выборе титановых имплантатов для реконструктивной хирургии области орбиты / Загубиженко М.В., Юсипович А.И., Пирутин С.К., Минаев В.Л., Кудряшов Ю.Б. // Инновационные технологии в медицине. 2018. №1. С. 36.
 9. Пискарев И.М., Иванова И.П., Самоделкин А.Г., Ивашенко М.Н.. Иницирование и исследование свободно-радикальных процессов в биологических экспериментах. Нижний Новгород. 2016. 106 с.
 10. Тузлуков И.И. Сравнительная оценка морфологических и иммунологических методик определения активности нейтрофилов / И.И. Тузлуков // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. 2004. №3-4. С.113.
 11. Тычинский В.П. Динамическая фазовая микроскопия: возможен ли «диалог» с клеткой? / В.П. Тычинский // Успехи физических наук. 2007. Т. 177. №5. С. 535.
 12. Тюмина Н.А. и др. Низковакуумная сканирующая электронная микроскопия тучных клеток на поверхности надпочечника крысы / Н.А. Тюмина, К.Г. Кемоклидзе, Д.Э. Пухов // Морфология. 2016. Т. 149. №3 С. 211.
 13. Castanheira F.V.S. Neutrophils and NETS in modulating acute and chronic inflammation // Blood. 2019. №133. P. 2178-2185. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-11-844530>
 14. D'Cruz A.A. The pseudokinase MLKL activates PAD4-dependent NET formation in necroptotic neutrophils / A.A. D'Cruz, M. Speir, M. Bliss-Moreau, S. Dietrich, S. Wang // Sci. Signal. 2018. Vol. 11. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aao1716>
 15. Desai J. PMA and crystal-induced neutrophil extracellular trap formation involves RIPK1-RIPK3-MLKL signaling / J. Desai, S.V. Kumar, S.R. Mulla, L. Konrad, S. Romoli // Eur. J. Immunol. 2016. №46. P. 223. <https://doi.org/10.1002/eji.201545605>
 16. G.E. Helal Effect of noise stress and/or sulphur dioxide treatment on some physiological and histological parameters in female albino rats / G.E. Helal, F. Eid, M.T. Neama // The Egypt J. hospital med. 2011. V. 44. P. 295
 17. Kesner E.E. Characteristics of mitochondrial transformation into human cells / E.E. Kesner, A. Saada-Reich, H. Lorberboum-Galski // Sci. Rep. 2016. №6. P. 26057. <https://doi.org/10.1038/srep26057>

18. Mantovani A. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity / A. Mantovani, M.A. Cassatella, C. Costantini, S. Jaillon // *Nat. Rev. Immunol.* 2011. Vol. 11. P. 519. <https://doi.org/10.1038/nri3024>
19. Moschonas I.C. The pathway of neutrophil extracellular traps towards atherosclerosis and thrombosis / I.C. Moschonas, A.D. Tselepis // *Atherosclerosis.* 2019. V. 288. P. 9. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2019.06.919>
20. Reeves E.R. Killing activity of neutrophils is mediated through activation of proteases by K⁺ flux / E.R. Reeves, H. Lu, R.T. Jacobs // *Nature.* 2002. Vol. 416 (6878). P. 291. <https://doi.org/10.1038/416291a>
21. Romero L.M. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research // *Trends in Ecology and Evolution.* 2004. Vol. 19. P. 249. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.03.008>
22. Spees J.L. Mitochondrial transfer between cells can rescue aerobic respiration / J.L. Spees, S.D. Olson, M.J. Whitney, D.J. Prockop // *Proc.Natl.Acad. Sci. U.S.A.* 2006. Vol. 103. P. 1283. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510511103>
23. Yipp B.G. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo / B.G. Yipp, B. Petri, D. Salina // *Nature medicine.* 2012. V. 18. P. 1386. <https://doi.org/10.1038/nm.2847>

References

1. Andriukov B.G. et al. Antimikrobnye strategii nejtrofilov pri infekcionnoj patologii [Antimicrobial strategies of neutrophils in infectious pathology] / B.G. Andriukov, L.M. Somova, E.I. Drobot, E.V. Matosova. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* [Clinical laboratory diagnostics], 2016, vol. 61, no. 12, p. 825.
2. Vasilenko I.A. et al. Citometriya nejtrofilov v ocenke effektivnosti kompleksnogo lecheniya bol'nyh osteomielitom nizhnej chelyusti [Cytometry of neutrophils in assessing the effectiveness of complex treatment of patients with osteomyelitis of the lower jaw] / I.A. Vasilenko, A.A. Nikitin, N.V. Malychenko, I.A. Ivanyuta, V.B. Metelin, B.Ya. Aghajanyan. *Al'manah klinicheskoy mediciny* [Almanac of clinical Medicine], 2008, no. 18, p. 64.
3. Gavrilova G.A. et al. Nespecificheskaya rezistentnost' korov, inficirovannyh VLKRS i bol'nyh lejkozom [Nonspecific resistance of cows infected with VLKRS and patients with leukemia] / G.A. Gavrilova, S.V. Bakhmetyeva. *Sibirskij vestnik sel'skohozyajstvennoj nauki* [Siberian Bulletin of Agricultural Science], 2005, no. 1, p. 118.
4. Demidchik L.A. Issledovanie nejtrofilov u bol'nyh s ekzogennymi toksicheskimi nefropatijami [Study of neutrophils in patients with exogenous toxic nephropathies] / L.A. Demidchik, E.V. Klochkova, E.A. Rassokhina. *Sovre-*

- mennye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern problems of science and education], 2018, no. 6, p. 49.
5. Deryugina A.V. et al. Translyacionnye izmeneiya elektroforeticheskoj podvizhnosti i fazovogo portreta eritrocitov s uchetom razvitiya stressovoj reakcii v usloviyah patologicheskogo processa [Translational changes in electrophoretic mobility and phase portrait of erythrocytes taking into account the development of a stress reaction in a pathological process] / A.V. Deryugina, M.N. Ivashchenko, P.S. Ignatiev, A.G. Samodelkin. *Al'manah klinicheskoy mediciny* [Almanac of Clinical Medicine], 2018, vol. 46, no. 8, pp. 765-771.
 6. Deryugina A.V. et al. Primenenie lazernoj interferencionnoj mikroskopii dlya ocenki funkcional'nogo sostoyaniya eritrocitov [Application of laser interference microscopy to assess the functional state of erythrocytes] / A.V. Deryugina, M.N. Ivashchenko, A.A. Belov, P.S. Ignatiev, V.B. Metelin. *Citologiya* [Cytology], 2021, vol. 63, no. 1, p. 74.
 7. Zagubizhenko M.V. et al. Ispol'zovanie metoda lazernoj interferencionnoj mikroskopii dlya issledovaniya sostoyaniya peritoneal'nyh makrofagov myshi, obluchennyh ul'traioletovym svetom [Using the method of laser interference microscopy to study the state of mouse peritoneal macrophages irradiated with ultraviolet light] / M.V. Zagubizhenko, A.I. Yusipovich, S.K. Pirutin, V.L. Minaev, Yu.B. Kudryashov. *Radiacionnaya biologiya. Radioekologiya*. [Radiation Biology. Radioecology], 2011, vol. 51, no. 6, p. 715.
 8. Krasilnikova V.L. et al. Skaniruyushchaya elektronnaya mikroskopiya v izuchenii poverhnostnyh tkanevyh reakcij pri vybore titanovyh implantatov dlya rekonstruktivnoj hirurgii oblasti orbity [Scanning electron microscopy in the study of surface tissue reactions when choosing titanium implants for reconstructive surgery of the orbital region] / M.V. Zagubizhenko, A.I. Yusipovich, S.K. Pirutin, V.L. Minaev, Yu.B. Kudryashov. *Innovacionnye tekhnologii v medicine* [Innovative technologies in medicine], 2018, no. 1, p. 36.
 9. Piskarev I.M., Ivanova I.P., Samodelkin A.G., Ivashchenko M.N. *Iniciirovanie i issledovanie svobodno-radikal'nyh processov v biologicheskikh eksperimentah* [Initiation and investigation of free radical processes in biological experiments]. Nizhniy Novgorod, 2016, 106 p.
 10. Tuzlukov I.I. Sravnitel'naya ocenka morfologicheskikh i immunologicheskikh metodik opredeleniya aktivnosti nejtrofilov [Comparative assessment of morphological and immunological methods for determining the activity of neutrophils]. *Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova* [Russian Biomedical Bulletin named after Academician I.P. Pavlov], 2004, no. № 3-4, p. 113.

11. Tychinsky V.P. Dinamicheskaya fazovaya mikroskopiya: vozmozhen li «dialog» s kletkoj? [Dynamic phase microscopy: is a “dialogue” with a cell possible?]. *Uspekhi fizicheskikh nauk* [Successes of physical sciences], 2007, vol. 177, no. 5, p. 535.
12. Tyumina N.A. et al. Nizkovakuumnaya skaniruyushchaya elektronnaya mikroskopiya tuchnyh kletok na poverhnosti nadpochechnika krysy [Low-vacuum scanning electron microscopy of mast cells on the surface of the rat adrenal gland] / N.A. Tyumina, K.G. Kemoklidze, D.E. Pukhov. *Morfologiya* [Morphology], 2016, vol. 149, no. 3, p. 211.
13. Castanheira F.V.S. Neutrophils and NETS in modulating acute and chronic inflammation. *Blood.*, 2019, no. 133, pp. 2178-2185. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-11-844530>.
14. D’Cruz A.A. The pseudokinase MLKL activates PAD4-dependent NET formation in necroptotic neutrophils / A.A. D’Cruz, M. Speir, M. Bliss-Moreau, S. Dietrich, S. Wang. *Sci. Signal.*, 2018, vol. 11. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aao1716>
15. Desai J. PMA and crystal-induced neutrophil extracellular trap formation involves RIPK1-RIPK3-MLKL signaling / J. Desai, S. V. Kumar, S.R. Mulla, L. Konrad, S. Romoli. *Eur. J. Immunol.*, 2016, no. 46, p. 223. <https://doi.org/10.1002/eji.201545605>
16. Helal G.E. Effect of noise stress and/or sulphur dioxide treatment on some physiological and histological parameters in female albino rats / G.E. Helal, F. Eid, M.T. Neama. *The Egypt J. hospital med.*, 2011, vol. 44, p. 295.
17. Kesner E.E. Characteristics of mitochondrial transformation into human cells / E.E. Kesner, A. Saada-Reich, H. Lorberboum-Galski. *Sci. Rep.*, 2016, no. 6, 26057. <https://doi.org/10.1038/srep26057>
18. Mantovani A. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity / A. Mantovani, M.A. Cassatella, C. Costantini, S. Jaillon. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011, vol. 11, p. 519. <https://doi.org/10.1038/nri3024>
19. Moschonas I.C. The pathway of neutrophil extracellular traps towards atherosclerosis and thrombosis / I.C. Moschonas, A.D. Tselepis. *Atherosclerosis*, 2019, vol. 288, p. 9. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2019.06.919>
20. Reeves E.R. Killing activity of neutrophils is mediated through activation of proteases by K⁺ flux / E.R. Reeves, H. Lu, R.T. Jacobs. *Nature*, 2002, vol. 416 (6878), p. 291. <https://doi.org/10.1038/416291a>
21. Romero L.M. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends in Ecology and Evolution*, 2004, vol. 19, p. 249. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.03.008>

22. Spees J.L. Mitochondrial transfer between cells can rescue aerobic respiration / J.L. Spees, S.D. Olson, M.J. Whitney, D.J. Prockop. *Proc.Natl.Acad. Sci. U.S.A.*, 2006, vol. 103, p. 1283. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510511103>
23. Yipp B.G. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo / B.G. Yipp, B. Petri, D. Salina. *Nature medicine*, 2012, vol. 18, p. 1386. <https://doi.org/10.1038/nm.2847>

ВКЛАД АВТОРОВ

Дерюгина А.В.: разработка концепции научной работы, составление черновика рукописи.

Ивашенко М.Н.: разработка концепции научной работы, редактирование черновика рукописи, написание рукописи.

Метелин В.Б., Ковылин Р.С., Игнатъев П.С.: сбор и анализ данных, статистическая обработка.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Anna V. Deryugina: development of the concept of scientific work, drafting of the manuscript.

Marina N. Ivashchenko: development of the concept of scientific work, editing of the draft of the manuscript, writing the manuscript.

Vladislav B. Metelin, Roman S. Kovylin, Pavel S. Ignatiev: data collection and analysis, statistical processing.

ДААННЫЕ ОБ АВТОРАХ

Дерюгина Анна Вячеславовна, доктор биологических наук, доцент
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования “Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского”
пр. Гагарина, 23, г. Нижний Новгород, 603022, Российская Федерация
deryugina@ibbm.unn.ru

Ивашенко Марина Николаевна, кандидат биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнологический университет»
пр. Гагарина, 97, г. Нижний Новгород, 603107, Российская Федерация
kafedra2577@mail.ru

Метелин Владислав Борисович, кандидат биологических наук

*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»
ул. Щепкина 61/2, корпус 1, г. Москва, 129110, Российская Федерация
verrv01@gmail.com*

Ковылин Роман Сергеевич, кандидат химических наук

*Институт металлоорганической химии им. Г.А. Разуваева РАН
ул. Тropicина, 49, г. Нижний Новгород, 603137, Российская Федерация
roman@iomc.ras.ru*

Игнатьев Павел Сергеевич, кандидат физико-математических наук

*Производственное объединение «Уральский оптико-механический завод « имени Э.С. Яламова
ул. Восточная, 33 Б, г. Екатеринбург, 620100, Российская Федерация
ignasha2000@yandex.ru*

DATA ABOUT THE AUTHORS

Anna V. Deryugina, Dr. of Bio. Sc., Associate Professor

*National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod
23, Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603022, Russian Federation
SPIN-code: 7974-4600
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8812-8559>
deryugina@ibbm.unn.ru*

Marina N. Ivashchenko, Cand. of Bio. Sc., Associate Professor

*Nizhny Novgorod State Agrotechnological University
97 Gagarin Ave., Nizhny Novgorod, 603107, Russian Federation
SPIN-code: 8510-8676
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6642-8518>
kafedra2577@mail.ru*

Vladislav B. Metelin, Cand. of Bio. Sc.

*Moscow Regional Research Clinical Institute named after M.F. Vladimirovsky
61/2, Shchepkina Str., Building 1, Moscow, 129110, Russian Federation*

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0600-5729>
verrv01@gmail.com

Roman S. Kovylin, Cand. of Chemical Sc.

Razuvaev Institute of Organometallic Chemistry of the Russian Academy of Sciences

49, Tropinina Str., Nizhny Novgorod, 603137, Russian Federation

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3897-6960>

roman@iomc.ras.ru

Pavel S. Ignatiev, Cand. of Physical and Mathematical Sc.

Ural Optical and Mechanical Plant named after E.S. Yalamov, Production Association

33B, Vostochnaya Str., Yekaterinburg, 620100, Russian Federation

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5075-7034>

ignasha2000@yandex.ru

Поступила 18.09.2023

После рецензирования 30.09.2023

Принята 09.10.2023

Received 18.09.2023

Revised 30.09.2023

Accepted 09.10.2023