

ОСОБЕННОСТИ МИГРАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ НЕЙТРОФИЛОВ В ПРОТОЧНОЙ СИСТЕМЕ

© 2025 г. С. Н. Плескова^{1,2,*}, Н. А. Безруков¹, Е. Н. Горшкова¹, Д. В. Новиков^{1,3},
Е. В. Отставнова^{1,2}

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия

²Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева,
Нижний Новгород, Россия

³Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии
и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной, Нижний Новгород, Россия
*E-mail: pleskova@mail.ru

Поступила в редакцию 15.04.2025 г.

После доработки 02.06.2025 г.

Принята к публикации 03.06.2025 г.

Для исследования миграции нейтрофилов создана оригинальная модель проточной системы, имитирующая гемодинамический процесс в капиллярах. При использовании этой модели выявлено, что общие паттерны поведения нейтрофилов (образование агрегатов, формирование “нейтрофильных привязей” и миграция нейтрофилов по межклеточным контактам эндотелиоцитов) воспроизводятся и в контроле (система без хемоаттрактантов), и в опыте (система с низкомолекулярными хемоаттрактантами бактерий). Однако в случае использования в качестве хемоаттрактанта *S. aureus* и *P. mirabilis* количество агрегатов и “нейтрофильных привязей” увеличивается статистически значимо ($p < 0.05$). Агрегаты соответствуют феномену роения в системе трансэндотелиальной миграции и способствуют ограничению зоны бактериального поражения. А “нейтрофильные привязи” замедляют гемодинамическое движение клеток и могут либо вызывать переход к миграции, либо являться предшественниками формирования удлинённых нейтрофил-производных структур, обладающих высоким антибактериальным потенциалом. Таким образом, все наблюдаемые феномены способствуют реализации защитной функции в случае бактериемии.

Ключевые слова: миграция, нейтрофилы, хемоаттрактанты, эндотелиоциты, кровоток, “нейтрофильные привязи”, агрегация

DOI: 10.7868/S2658655X25070112, **EDN:** MVYAWM

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы нейтрофилы перестали рассматривать только в качестве клеток, опосредующих острое воспаление [1], поскольку они могут мигрировать в различные отделы лимфатической системы, где дирижируют активацией или подавлением эффекторных функций лимфоцитов как при текущем поддержании гомеостаза, так

и при хроническом воспалении, которое сопровождается, в частности, аутоиммунные процессы и злокачественные новообразования [2]. Сейчас не оспариваются ни регуляторная роль нейтрофилов, ни существование их функциональных субпопуляций [3]. Нейтрофильные гранулоциты циркулируют в кровяном русле, но при воспалительном процессе они формируют маргинальный пул и прокатываются по поверхности эндотелия (стадия роллинга), после чего следуют арест, переползание и диапедез (рекрутинг в ткани) [4]. Во время трансэндотелиальной миграции нейтрофилы покидают кровяное русло, двигаясь по хемотаксическому градиенту [5]. Сейчас известно, что нейтрофилы могут переползть против кровотока в поисках области, наиболее благоприятной для диапедеза [6]. От эффективности миграционных процессов нейтрофилов зависят и процессы физиологической регуляции, и степень тяжести заболеваний, и вероятность хронизации воспалительных процессов. Дать объективную картину миграционных процессов нейтрофилов довольно сложно, поскольку оптические наблюдения *in vivo* ограничиваются наличием “окна прозрачности биологических тканей” и преваляцией эритроцитарной фракции крови, а микроскопические наблюдения традиционно проводятся в стационарных системах. Поэтому целью данной работы было исследование процесса миграции нейтрофилов в проточной динамической системе, имитирующей гемодинамику в капиллярах в присутствии бактериальных хемоаттрактантов.

Задачи исследования:

1. Смоделировать проточную систему с использованием монослоя эндотелиальных клеток, имитирующих *tunica intima*, которая позволит исследовать миграционные процессы нейтрофильных гранулоцитов вдоль сосудистого русла.

2. Смоделировать источник хемоаттракции, обеспечивающий равномерное поступление хемоаттрактанта в систему. Исследовать влияние бактериальных хемоаттрактантов (2 вида грамположительных и 2 вида грамотрицательных бактерий) на миграционные и гемодинамические процессы нейтрофилов в капиллярном кровотоке.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Культура клеток EA.hy926 для моделирования поверхности кровеносных сосудов

Для моделирования *tunica intima* использовали культуру клеток EA.hy926, которую высаживали на чашку Петри диаметром 35 мм с адгезионным покрытием (Corning Inc., США) в концентрации 2.5×10^5 клеток/мл. Для создания монослоя эндотелиоциты культивировали в среде DMEM-F12 с добавлением 10% FBS (“ПанЭко”, Россия), 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина (“ПанЭко”, Россия), 8 мМ глутамина (“ПанЭко”, Россия), ГАТ (100 мкМ гипоксантина, 0.4 мкМ аминокперина, 16 мкМ тимидина) (Sigma-Aldrich, США) во влажной среде в атмосфере 5% CO₂ в течение 72 ч (Portable MiniNB 203M, N-Biotek, Республика Корея, 37 °С, 5% CO₂). Контроль роста монослоя проводили оптически (AxioVert.A1, Carl Zeiss, Германия) [7].

Выделение нейтрофилов

Нейтрофилы выделяли центрифугированием из цельной венозной крови здоровых доноров на двойном градиенте фикола-градографа ($\rho = 1.077$ г/мл, $\rho = 1.110$ г/мл, 400 г, 45 мин) (“ПанЭко”, Россия), затем дважды отмывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ) (400 г, 3 мин), остаточные эритроциты лизировали 0.9%-ным раствором NH₄Cl (4 °С, 12 мин). Жизнеспособность клеток оценивали по окрашиванию 1 мкг/мл пропидиума йодида (Sigma-Aldrich, США). В экспериментальных процедурах использовали нейтрофилы, жизнеспособность которых была не менее 98%. Анализ

проводили на проточном цитометре CytoFLEX S (Beckman Coulter International S.A., США). Для детекции флуоресценции пропидиума йодида использовали канал 690/50. В эксперимент брали нейтрофилы в концентрации 1×10^6 клеток/мл, ресуспендирование проводили в растворе Хенкса с добавлением 2 мМ L-глутамина и забуференного 10 мМ HEPES (pH 7.3–7.4). Эта среда была выбрана нами ранее как обеспечивающая максимальную жизнеспособность и функциональную активность обоих типов клеток (нейтрофилов и эндотелиоцитов) при проведении длительных наблюдений [7].

Работа с бактериальными клетками

Штаммы бактерий: два вида грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus* 2879M и *Enterococcus faecalis* 645-p2) и два вида грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli* 321 и *Proteus mirabilis* 649-2) выращивали (37 °С, 20 ч) на ГРМ-агаре (Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболensk), трижды отмывали центрифугированием стерильным ФСБ (450 g, 5 мин), ресуспендировали в ФСБ и на спектрофотометре (СПЕКС ССП 705, Спектроскопические системы, Москва) измеряли оптическую плотность ($\lambda = 670$ нм), доводя ее до 10^9 клеток/мл. В эксперименты брали количество суспензии, соответствовавшее 20 MOI относительно нейтрофилов – концентрации, используемой для загрузки контейнера [8].

Моделирование проточной системы

Принципиальная схема модели проточной системы для исследования процессов циркуляции и миграции нейтрофилов в присутствии бактериальных хемоаттрактантов представлена на рис. 1.

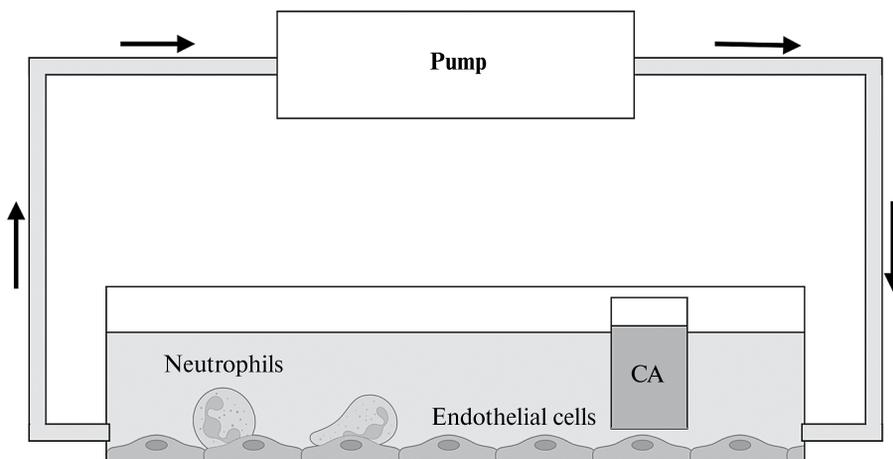


Рис. 1. Принципиальная схема проточной модели. В клеточном отсеке – монослой EA.hy926, на который помещали нейтрофилы. Контейнер с хемоаттрактантом (CA- chemoattractant) располагался у приточной трубки (справа), наблюдения вели со стороны вытяжной трубки (слева). Перистальтический насос создавал ток в замкнутом контуре.

Для создания градиента хемоаттракции использовали контейнер, стенки которого были проницаемы только для низкомолекулярных веществ. Для изготовления контейнеров использовали нижние части полипропиленовых трубок (GenFollower, КНР), что позволяло сохранить постоянный диаметр раструба. Для удержания хемоаттрактантов

раструб закрывали диализными мембранами с отсечкой по молекулярной массе (MWCO) 14 кДа (Solarbio, КНР).

На чашку Петри с выращенным монослоем эндотелиальных клеток устанавливали сконструированную из полистирола притертую прямоугольную камеру с закрытым верхом и двумя отверстиями для полистироловых трубок, куда крепили контейнер с хемоаттрактантом. В контейнер загружали суспензию одного из четырех штаммов бактериальных клеток (20 MOI). Наблюдения проводили в растворе Хенкса с 2 mM L-глутамина и 10 mM HEPES (pH 7.3–7.4). Контейнер располагали со стороны приточной трубки таким образом, чтобы ток жидкости равномерно распределял хемоаттрактант. В систему вносили нейтрофилы (10^6 клеток/мл), через 10 мин создавали ток жидкости со скоростью 1 мл/ч на 30 мин, что примерно соответствует скорости кровотока в капиллярах сосудов, и устанавливали наблюдение с помощью инвертированного оптического микроскопа Микромед И (“Наблюдательные приборы”, Россия/КНР) через Видеоокуляр TourCam UA1000CA (Tourtek, КНР): объектив ($\times 20$) позиционировали со стороны вытяжной трубки. Затем ток жидкости ускоряли до 20 мл/ч для моделирования кровотока в венах и проводили наблюдение в течение еще 30 мин. Для создания тока жидкости использовали перистальтический насос Microperex 2132-001 (Pharmacia LKB, Швеция).

Количество агрегатов нейтрофилов (за агрегат принималось скопление 3 и более клеток с непосредственным контактом между ними) оценивали визуально в начале эксперимента и через каждые 10 мин моделирования тока жидкости. Во второй повторности подсчет проводили со смещением времени от начальной точки экспозиции на 5 мин. Результаты исследования выражались в количестве образующихся агрегатов (pieces – pcs).

Для подсчета количества “нейтрофильных привязей” проводился визуальный анализ, в ходе которого за клетку, образующую привязь, принимался нейтрофил, формирующий выпячивание клеточной мембраны, в потоке, соответствующем скорости тока в капиллярах, на протяжении 1 ч 20 мин. Результаты выражали в количестве образующихся агрегатов (pieces – pcs). Учитывались как нейтрофилы, изначально находившиеся в поле зрения, так и клетки, появляющиеся с током жидкости и образующие адгезионные контакты с эндотелиоцитами. Контрольный эксперимент и эксперименты с каждой модельной системой (бактериями в контейнере) были проведены в четырех повторностях.

Статистический анализ

Для обработки данных использовали программу Origin 8.0 (Origin Lab Corporation, США). Определяли границы нормального распределения количественных показателей выборок с использованием критерия Шапиро – Уилка. В случае анализа «нейтрофильных привязей» распределения соответствовали критериям нормальности, поэтому определяли среднее и среднеквадратичное отклонение ($M \pm SD$), а сравнение между двумя выборками проводили с использованием критерия Стьюдента. Для сравнения количества формируемых нейтрофилами агрегатов использовали критерий Фридмана, сравнения проводили попарно с использованием теста Данна. Различия считали статистически значимыми при значении $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наблюдения за контрольными (без хемоаттрактанта) и опытными (с одним из видов бактериальных хемоаттрактантов) образцами проводили в течение 20–70 мин с видеofиксацией и частотой кадров не ниже 3 кадров/с, не менее, чем в трех повторностях.

В контроле при создании проточной системы наблюдали образование фибрилл эндотелиальными клетками (рис. 2).

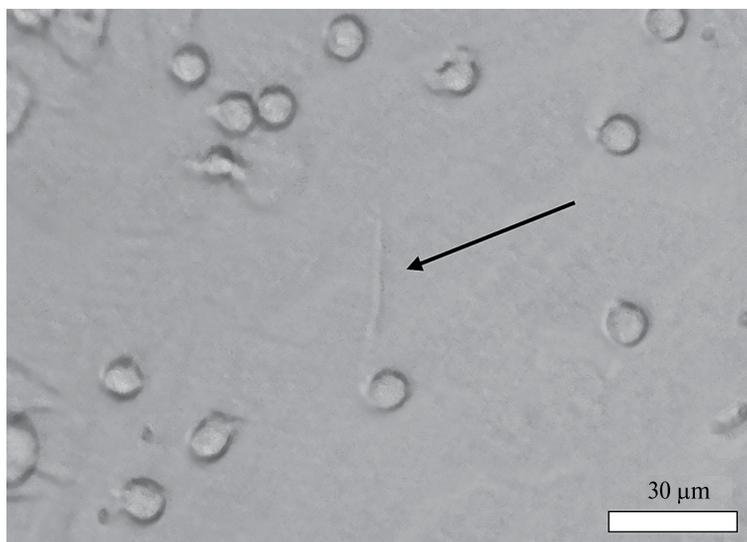


Рис. 2. В камере без хемоаттрактанта при продолжительном наблюдении отмечалось формирование длинных фибрилл эндотелиальными клетками линии EA.hy 926. Местоположение фибриллы отмечено стрелкой.

Для подавляющего числа нейтрофилов отмечена стандартная гемодинамика – движение по направлению потока. Однако наблюдалась и стохастическая миграция клеток, расположенных в маргинальном пуле, как по направлению потока, так и против него. В случае миграционных процессов движение было ассоциировано с поверхностью эндотелиальных клеток: нейтрофилы передвигались преимущественно в зоне контактов между ними (рис. 3а, б). В остальном движение клеток было классическим: нейтрофил формировал ламеллоподию, к которой подтягивалась вся клетка. При миграции нейтрофилы часто формировали агрегаты или кластеры (преимущественно по 2–3 клетки). В агрегатах нейтрофилов наблюдали коммуникацию между клетками (рис. 3с).

Наблюдали также явление, недавно описанное в исследованиях Cugno с соавт., которое называется “нейтрофильные привязи” (Neutrophil Tethers), когда связь “рецептор нейтрофила – лиганд эндотелиоцита” сохраняется достаточно долго [9], микроворсинки лейкоцитов удлинняются и в конечном итоге образуют тонкие “привязи” (рис. 4).

Внесение в контейнер хемоаттрактанта существенно изменяет характер гемодинамики нейтрофилов в потоке и их миграции в маргинальном пуле. В частности, из рис. 5 следует, что формирование агрегатов в контроле (без бактериального хемоаттрактанта) постепенно нарастает со временем, однако это нарастание не выходит за пределы статистической значимости, тогда как в присутствии *S. aureus* 2879М, *E. faecalis* 645-p2 и *P. mirabilis* 649-2 наблюдали пиковые значения формирования агрегатов (максимальная провокация нейтрофилов к агрегации отмечена для *S. aureus* 2879М), после чего вновь начинала превалировать одиночная миграция клеток. При этом показано, что, начиная с 60-й мин, агрегация значимо отличалась от контрольной для *E. faecalis* 645-p2 (60 мин, 70 мин, $p < 0.05$). Таким образом, максимально провоцируют агрегацию нейтрофилов штаммы грамположительных бактерий, преимущественно в диапазоне временных отрезков 10–40 мин.

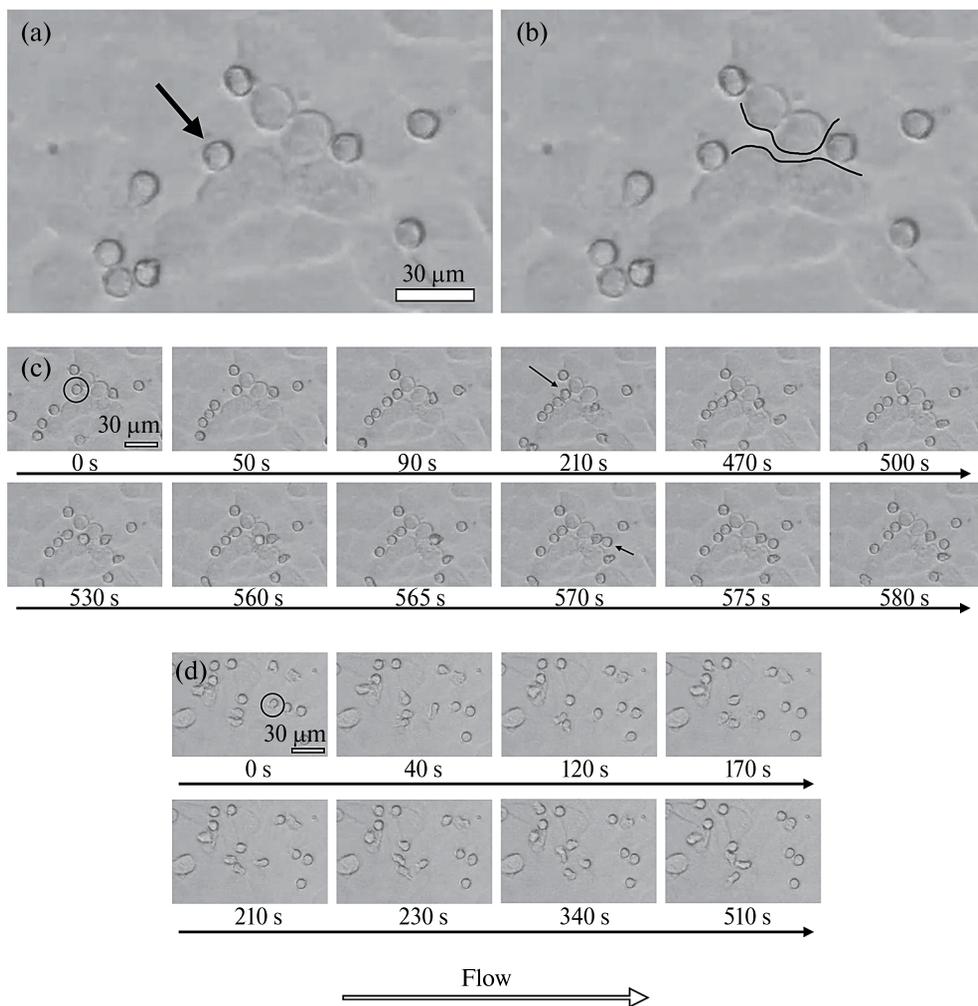


Рис. 3. Характер миграции нейтрофилов в потоке, имитирующем капиллярный. (а) – Переход нейтрофилов в маргинальный пул и их миграция по направлению потока. (б) – Движение нейтрофилов строго по направлению, сформированным контактами между эндотелиальными клетками (направляющие для двух нейтрофилов выделены на рисунке черным цветом). (с) – Формирование нейтрофилами агрегатов при движении. (д) – Движение нейтрофила против капиллярного тока.

В то же время склонность к агрегации под воздействием *E. coli* 321 выражена в гораздо меньшей степени, динамика формирования агрегатов отличается от контроля только на первых и на финальных минутах наблюдения (рис. 5).

Интересным фактом является и то, что за счет “нейтрофильных привязей” клетки не только сопротивляются смещению током жидкости, но и получают возможность мигрировать против тока жидкости (рис. 6).

Внесение в систему хемоаттрактанта увеличивает образование таких структур, хотя статистически значимые различия с контролем были выявлены только в случае использования в качестве хемоаттрактанта *S. aureus* 2879M и *P. mirabilis* 649-2 (рис. 7).

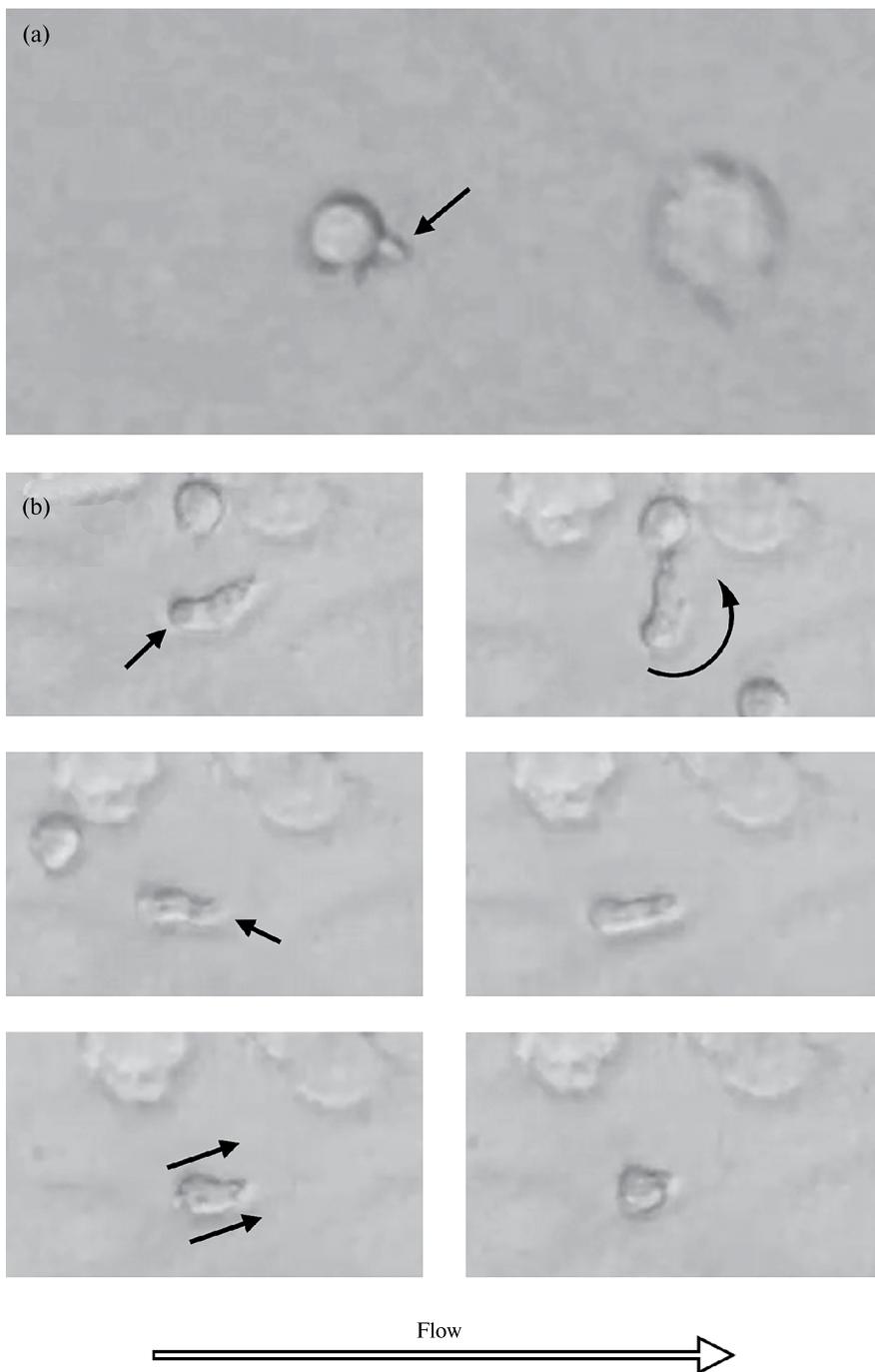


Рис. 4. Образование “нейтрофильных привязей”, удерживающих клетки. (а) – Формирование прочной связи “рецептор нейтрофила – лиганд эндотелиоцита” с вытягиванием клетки и ее удержанием от движения в потоке – стрелка указывает на neutrophil tethers. (б) – Удержание клетки за счет “нейтрофильной привязи” с последующим ее растягиванием из-за потока, в результате чего клетка получает возможность двигаться против потока.

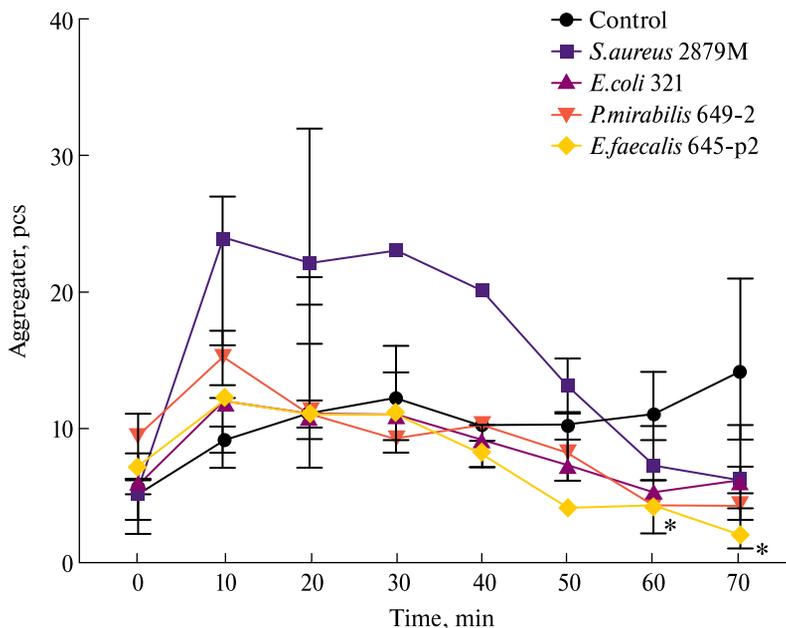


Рис. 5. Динамика формирования агрегатов нейтрофилов (3 и более клетки) в процессе миграции в проточной системе с хемоаттрактантом (штаммом *S. aureus* 2879M, *E. faecalis* 645-p2, *E. coli* 321 или *P. mirabilis* 649-2) и без него (контроль). * – различия статистически значимы по сравнению с контролем ($p < 0.05$).

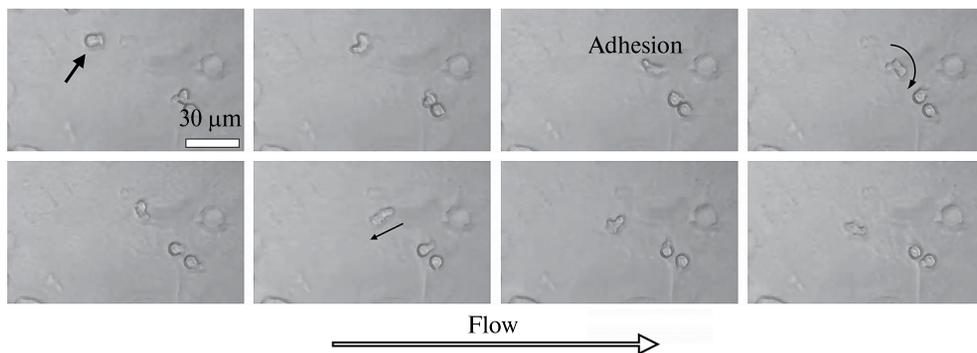


Рис. 6. Динамика формирования “нейтрофильных привязей”: на первых двух кадрах – переход нейтрофилов в маргинальный пул, затем формирование прочных адгезионных контактов с поверхностью эндотелиоцитов и разворот клетки против тока жидкости благодаря “нейтрофильной привязи”, затем целенаправленная миграция против направления потока, по направлению к контейнеру с хемоаттрактантом *E. coli* 321.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При трансэндотелиальной миграции неоднократно описан феномен роения нейтрофилов в случае присутствия в системе хемоаттрактанта [8]. Нейтрофилы способны к самоусилению роения по принципу положительной обратной связи, секретирова хемоаттрактанты и хемокины, чтобы обеспечить межклеточную коммуникацию и увеличить самоорганизацию в сложной воспалительной среде [10]. Мы полагаем, что склонность к образованию агрегатов в проточной системе в присутствии

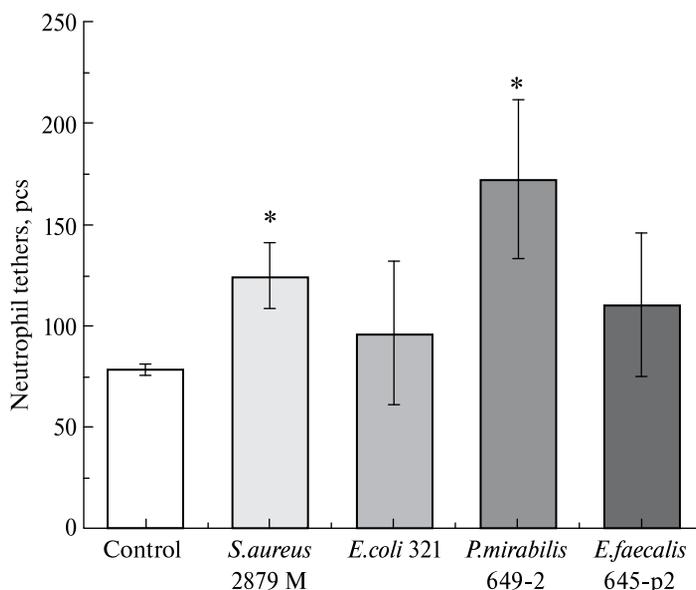


Рис. 7. Количество «нейтрофильных привязей», формируемых клетками в процессе миграции в контроле (в отсутствие хемоаттрактанта) и в опыте (присутствие в контейнере одного из штаммов бактерий), * – различия статистически значимы по сравнению с контролем ($p \leq 0.05$).

хемоаттрактантов является аналогом такого роения. Подобное явление описано в литературе только однократно в системе *in vivo* на мышинной модели и только в отношении *Candida albicans*. В работе Lee с соавт. наблюдали формирование кластеров (роение) нейтрофилов внутри легочного микроциркуляторного русла, при секвестрации дрожжеподобных грибов в просвет сосудов [11]. Авторы показали явление обструкции кластерами нейтрофилов микрососудов легких у мышей и считают роение нейтрофилов в таких условиях уникальным для грибковой инфекции. Однако в наших экспериментах воспроизводится явление септицемии, т.е. нахождения бактериальных хемоаттрактантов в просвете сосудов. Таким образом, агрегаты нейтрофилов (по три и больше) формируются и на бактериальную инфекцию – максимально в случае со *S. aureus*. Ранее нами был описан уникальный феномен, когда нейтрофилы при формировании агрегатов реализовали разделение функций: одни клетки поглощали квантовые точки и упаковывали их в кластеры, после чего передавали “упаковки квантовых точек” другим нейтрофилам [12]. С учетом последних данных о функциональной неоднородности нейтрофилов [13] это явление может быть свидетельством клеточной кооперации внутри сосудистого русла при любой интраваскулярной инфекции. Таким образом, мы считаем, что формирование агрегатов нейтрофилами в системе, моделирующей кровотоки, может расцениваться как защитная реакция. Обструкция микрососудов роящимися агрегатами/кластерами нейтрофилов может ограничивать очаг инфекции, когда кровотоки перенаправляется по микрососудам, не имеющим градиента хемоаттрактанта. Интересным является и тот факт, что сами бактерии не присутствовали в кровотоке, т.е. формирование агрегатов происходило под воздействием низкомолекулярных бактериальных хемоаттрактантов (до 14 кДа), что обусловлено условиями проведения экспериментов (использованием диализных мембран, препятствующих поступлению бактерий и их высокомолекулярных дериватов в кровотоки). Со временем количество агрегатов, сформированных в кровотоке под воздействием бактериальных хемоаттрактантов, уменьшалось. В работе Kienle

с соавт. описан возможный механизм “разборки” агрегатов, возникших в результате роения нейтрофилов [14]. Это самоограничение к формированию роения за счет десенсibilизации G-протеин-связанных рецепторов (G protein-coupled receptors) за счет хемоаттрактантов (LTB4 и CXCL2), которые экспрессируются самими нейтрофилами и первоначально, напротив, вызывают вовлечение в механизм роения новых нейтрофилов. В контрольных экспериментах с начала эксперимента и до 40 мин формирование агрегатов было на уровне плато, однако затем наблюдалось несущественное увеличение склонности к образованию кластеров, которое, однако, не было статистически значимым ($p > 0.05$). Вероятно, это можно связать с феноменом, который не наблюдался в экспериментах с хемоаттрактантами, а именно с формированием фибрилл эндотелиальными клетками, которые задерживали нейтрофилы, способствуя их агрегации. Кроме того, в контроле отмечается не только наличие агрегатов, но и частично адгезия к поверхности эндотелиоцитов, имитирующих *tunica intima*, вероятно, обусловленная отсутствием поляризации и потенциалов к миграции у непраймированных клеток. Замедление движения нейтрофилов и их вращение после наличия первичной адгезии уже были описаны в литературе. В частности, гемодинамика нейтрофилов в посткапиллярных венулах характеризуется скоростью более 1000 мкм/с, тогда как связывание нейтрофилов и их вращение в маргинальном пуле способствуют резкому сбросу скорости до 100–200 или иногда даже до 20 мкм/с [15]. При этом, если сила, действующая на нейтрофил в этот момент, превышает 35–55 пН, то сформируются “нейтрофильные привязи” [16, 17].

Мы наблюдали формирование “нейтрофильных привязей” как в контрольных, так и в опытных экспериментах. Согласно Marki с соавт., длина “нейтрофильных привязей” может варьировать от 16 до 22 мкм [18]. Интересно, что после разрыва связей “молекулярных привязей” формируются *elongated neutrophil-derived structures* (ENDS) – удлиненные нейтрофил-производные структуры, которые могут отсоединяться от эндотелия и поступать в плазму крови. В работе показано, что содержание таких бактерицидных компонентов, как лактоферрин, альбумин, актин, миелопероксидаза, кальций-связывающие гетеродимеры (S100A8, S100A9), α -энолаза, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, аннексин-A3 и каталаза, в ENDS соответствует количеству (в эквивалентных объемах), содержащемуся в цельном нейтрофиле [18]. Таким образом, наряду с бактерицидными эффектами досконально изученных к настоящему времени “нейтрофильных ловушек” (NETs – neutrophil extracellular traps) и эктосом (внеклеточных везикул), формируемых нейтрофилами, ENDS могут рассматриваться также в качестве мощного бактерицидного инструмента. В той же работе приводятся сведения о существенном увеличении числа ENDS в плазме крови мышей с экспериментальным сепсисом. Можно отметить, что наши данные также свидетельствуют об увеличении числа «нейтрофильных привязей» в случае присутствия в системе низкомолекулярных продуктов *S. aureus* и *P. mirabilis*, что свидетельствует о защитной функции этих структур (остановка для адгезии и образования ENDS с бактерицидным содержанием). Однако в наших экспериментах, во-первых, был исключен прямой контакт цельных бактерий с нейтрофилами, а во-вторых, формирование “нейтрофильных привязей” предшествует образованию ENDS, и они могут быть источником нескольких таких структур.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю признательность заведующему отделом иммунологии и межклеточных взаимодействий проф. С.А. Селькову и заведующему лабораторией межклеточных взаимодействий, д.б.н. Д.И. Соколову НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отто за предоставление клеточной линии EA.hy926.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (С. Н. П., Н. А. Б. и Д. В. Н.), сбор данных (Н. А. Б., Е. В. О., Е. Н. Г.), обработка данных (Н. А. Б., Е. В. О., Е. Н. Г.), написание и редактирование манускрипта (С. Н. П., Н. А. Б.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-74-00004).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием людей, соответствуют этическим стандартам национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие. Исследование одобрено комитетом по биоэтике Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского (созданного 11 ноября 2016 г.), протокол № 9 от 17 июля 2017 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kolaczowska E, Kubes P* (2013) Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nature reviews. Immunology* 13: 159–175.
<https://doi.org/10.1038/nri3399>
2. *Voisin M-B, Nourshargh S* (2019) Neutrophil trafficking to lymphoid tissues: physiological and pathological implications. *J Pathol* 247: 662–671.
<https://doi.org/10.1002/path.5227>
3. *Li Y, Wang W, Yang F, Xu Y, Feng C, Zhao Y* (2019) The regulatory roles of neutrophils in adaptive immunity. *Cell Commun Signal* 17: 147.
<https://doi.org/10.1186/s12964-019-0471-y>
4. *Ley K, Hoffman HM, Kubes P, Cassatella MA, Zychlinsky A, Hedrick CC, Catz SD* (2018) Neutrophils: New insights and open questions. *Sci Immunol* 3: eaat4579.
<https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aat4579>
5. *Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S* (2007) Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol* 7: 678–689.
<https://doi.org/10.1038/nri2156>
6. *Buffone A, Hammer DA, Kim SHJ, Anderson NR, Mochida A, Lee DH, Guin S* (2023) Not All (Cells) Who Wander Are Lost: Upstream Migration as a Pervasive Mode of Amoeboid Cell Motility. *Front Cell Dev Biol* 11: 1291201.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1291201>
7. *Pleskova SN, Bezrukov NA, Gorshkova EN, Bobyk SZ, Lazarenko EV* (2024) A Study of EA.hy926 Endothelial Cells Using Atomic Force and Scanning Ion Conductance Microscopy. *Cell Tiss Biol* 18: 36–44.
<https://doi.org/10.1134/S1990519X24010073>
8. *Pleskova SN, Bezrukov NA, Gorshkova EN, Bobyk SZ, Lazarenko EV* (2023) Exploring the Process of Neutrophil Transendothelial Migration Using Scanning Ion-Conductance Microscopy. *Cells* 12: 1806.
<https://doi.org/10.3390/cells12131806>

9. *Cugno A, Marki A, Ley K* (2021) Biomechanics of Neutrophil Tethers. *Life* (Basel) 11: 515. <https://doi.org/10.3390/life11060515>
10. *Lammermann T, Afonso PV, Angermann BR, Wang JM, Kastenmüller W, Parent CA, Germain RN* (2013) Neutrophil swarms require LTB4 and integrins at sites of cell death in vivo. *Nature* 498: 371–375. <https://doi.org/10.1038/nature12175>
11. *Lee EKS, Gillrie MR, Li L, Arnason JW, Kim JH, Babes L, Lou Y, Sanati-Nezhad A, Kyei SK, Kelly MM, Mody CH, Ho M, Yipp BG* (2018) Leukotriene B4-Mediated Neutrophil Recruitment Causes Pulmonary Capillaritis during Lethal Fungal Sepsis. *Cell Host Microbe* 23: 121–133.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.11.009>
12. *Pleskova SN, Kriukov RN, Gorshkova EN, Boryakov AV* (2019) Characteristics of quantum dots phagocytosis by neutrophil granulocytes. *Heliyon* 5: e01439. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01439>
13. *Yang P, Li Y, Xie Y, Liu Y* (2019) Different Faces for Different Places: Heterogeneity of Neutrophil Phenotype and Function. *J Immunol Res* 2019: 8016254. <https://doi.org/10.1155/2019/8016254>
14. *Kienle K, Glaser KM, Eickhoff S, Mihlan M, Knopper K, Reategui E, Epple MW, Gunzer M, Baumeister R, Tarrant TK, Germain RN, Irimia D, Kastenmuller W, Lammermann T* (2021) Neutrophils self-limit swarming to contain bacterial growth in vivo. *Science* 372: eabe7729. <https://doi.org/10.1126/science.abe7729>
15. *Kunkel EJ, Dunne JL, Ley K* (2000) Leukocyte Arrest During Cytokine-Dependent Inflammation In Vivo. *J Immunol* 164: 3301–3308. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.6.3301>
16. *Girdhar G, Shao JY* (2007) Simultaneous Tether Extraction from Endothelial Cells and Leukocytes: Observation, Mechanics, and Significance. *Biophys J* 93: 4041–4052. <https://doi.org/10.1529/biophysj.107.109298>
17. *Chen Y, Yao DK, Shao JY* (2010) The Constitutive Equation for Membrane Tether Extraction. *Ann Biomed Eng* 38: 3756–3765. <https://doi.org/10.1007/s10439-010-0117-0>
18. *Marki A, Gutierrez E, Mikulski Z, Groisman A, Ley K* (2016) Microfluidics-based side view flow chamber reveals tether-to-sling transition in rolling neutrophils. *Sci Rep* 6: 28870. <https://doi.org/10.1038/srep28870>

The peculiarities of neutrophils migration processes in the flow system**S. N. Pleskova^{a, b, *}, N. A. Bezrukov^a, E. N. Gorshkova^a, D. V. Novikov^{a, c},
and E. V. Otstavnova^{a, b}**^a*Lobachevsky Nizhny Novgorod State University, Nizhny Novgorod, Russia*^b*Nizhny Novgorod State Technical University named after R.E. Alekseev, Nizhny Novgorod, Russia*^c*Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology**named after Academician I.N. Blokhina", Nizhny Novgorod, Russia**e-mail: pleskova@mail.ru*

A flow system model simulating the hemodynamic process in capillaries was created to study neutrophil migration. It was found that the general patterns of neutrophil behavior (aggregate formation, formation of neutrophil tethers and migration of neutrophils along intercellular contacts of endothelial cells) are reproduced both in the control (system without chemoattractants) and in the experiment (system with low-molecular chemoattractants of bacteria), however, in the case of *S. aureus* and *P. mirabilis* using as a chemoattractant, the number of aggregates and neutrophil tethers increases statistically significantly ($p < 0.05$). Aggregates correspond to the swarming phenomenon in the transendothelial migration system and help limit the zone of bacterial damage. And neutrophil tethers cause a stop in hemodynamic movement and can cause either a transition to migration or be precursors to the formation of elongated neutrophil-derived structures with high antibacterial potential. Thus, all the observed phenomena contribute to the implementation of the protective function in case of bacteremia.

Keywords: migration, neutrophils, chemoattractants, endothelial cells, blood flow, neutrophil tethers, aggregation