

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

Гусакова Н.В., Новикова И.А.

УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

Резюме. У 66 пациентов с хронической рецидивирующей герпетической инфекцией тяжелого течения изучены различные проявления реактивности нейтрофилов: супероксид-анион-образующая способность (НСТ-тест), формирование экстрацеллюлярных сетей (NET) и фагоцитоз. Установлено, что в нестимулированных культурах лейкоцитов пациентов вне зависимости от стадии заболевания значения НСТ были выше, а NET — ниже, чем в контрольной группе. В стимулированных культурах параметры НСТ снижались, а NET — увеличивались относительно нормативных значений. Изменения NET, но не НСТ более выражены у пациентов в период обострения заболевания и при сочетанной форме герпесвирусной инфекции.

Ключевые слова: герпетическая инфекция, функциональная активность нейтрофилов

Адрес для переписки:

Гусакова Наталья Викторовна
аспирант кафедры клинической лабораторной
диагностики, аллергологии и иммунологии УО «Го-
мельский государственный медицинский универси-
тет»
246013, Беларусь, г. Гомель, ул. 1-я Техническая,
52/25.
Тел.: +375 (44) 799-26-37.
E-mail: ashatangus@gmail.com

Авторы:

Гусакова Н.В. — аспирант кафедры клинической
лабораторной диагностики, аллергологии и имму-
нологии УО «Гомельский государственный меди-
цинский университет», г. Гомель

Новикова И.А. — д.м.н., профессор, заведующая
кафедрой клинической лабораторной диагности-
ки, аллергологии и иммунологии УО «Гомельский
государственный медицинский университет»,
г. Гомель

Поступила 10.08.2012

Отправлена на доработку 01.10.2012

Принята к печати 02.10.2012

FUNCTIONAL ACTIVITIES OF NEUTROPHILS IN CHRONIC RECURRENT HERPETIC INFECTION

Gusakova N.V., Novikova I.A.

Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Abstract. Various parameters of neutrophil reactivity, i.e., superoxide anion-forming ability (NBT-test), formation of the extracellular networks (NET) and phagocytic function, were studied in sixty-six patients with severe form of chronic recurrent herpetic infection. In resting leukocyte cultures from the patients, regardless of the disease stage, NBT scores were higher, and NET values were lower, than in control group. In stimulated cultures, NBT response was decreased, whereas NET parameters were higher than reference values. The changes in NET, but not NBT scores, were more pronounced in patients during the disease exacerbation and in combined form of herpesvirus infection. (*Med. Immunol.*, 2013, vol. 15, N 2, pp 169-176)

Keywords: herpes infection, functional activity of neutrophils

Address for correspondence:

Gusakova Natalia V.

*PhD candidate, Department of Clinical Laboratory
Diagnostics, Allergy and Immunology, Gomel State
Medical University*

*246013, Belarus, Gomel, Technicheskaya str., 52,
apt. 25.*

Phone: +375 (44) 799-26-37.

E-mail: ashatangus@gmail.com

Authors:

*Gusakova N.V., PhD candidate, Department of Clinical
Laboratory Diagnostics, Allergy and Immunology,
Gomel State Medical University, Gomel*

*Novikova I.A., PhD (Medicine), MD, Professor, Chief,
Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Allergy
and Immunology, Gomel State Medical University,
Gomel*

Received 10.08.2012

Revision received 01.10.2012

Accepted 02.10.2012

Введение

Герпесвирусная инфекция является одной из наиболее актуальных проблем клинической медицины в связи с широким распространением, значительной частотой хронических рецидивирующих форм и высокой резистентностью к проводимой терапии [3]. В настоящее время доказано, что развитие хронической рецидивирующей герпетической инфекции (ХРГИ) и дальнейшее ее прогрессирование напрямую связано с состоянием систем защиты макроорганизма [6].

В ряде исследований продемонстрировано нарушение количественного состава и функциональных свойств иммунокомпетентных клеток при ХРГИ [3, 8, 9], изменение баланса про- и противовоспалительных цитокинов [12], дефекты активации системы комплемента [16]. Имеются данные о снижении у пациентов в момент рецидива герпетической инфекции уровня и/или активности НК-клеток [3], угнетении способности лейкоцитов к синтезу $IFN\gamma$ [3, 5, 6].

Интересные данные получены при исследовании функциональных свойств нейтрофилов (НФ). Открытие экспрессии на НФ Толл-подобных рецепторов, распознающих ДНК вируса герпеса (TLR-9) [20], а также способность НФ продуцировать ряд цитокинов, регулирующих пролиферацию Т-лимфоцитов и естественных киллеров [14], позволило по-новому взглянуть на участие этих клеток в формировании и регуляции защитных реакций при вирусных инфекциях [6, 15]. Установлено, что в период рецидива ХРГИ наблюдается снижение выработки НФ низкомолекулярных катионных белков дефензинов, в норме подавляющих репродукцию вируса простого герпеса [3, 5]. Кислород-продуцирующая активность НФ повышена в период ремиссии герпесвирусной инфекции [11], но по мере усугубления тяжести процесса снижается [3, 13]. Однако в ряде публикаций, напротив, указывается на повышение генерации активных форм кислорода (АФК) с увеличением степени тяжести ХРГИ [20].

Относительно недавно был открыт новый механизм реализации бактерицидных свойств НФ – формирование сетевидных образований (Neutrophil Extracellular Traps, NET), состоящих из нуклеиновых кислот, белков-гистонов и гидролитических ферментов [17, 18]. Роль NET в реализации противовирусного иммунитета пока не совсем ясна, но в экспериментальных исследованиях продемонстрировано увеличение способности к образованию NET НФ животных, инфицированных вирусом лейкемии [22], вирусом гриппа А [17, 21]. Изменение NET-образующих свойств и их взаимосвязь с другими проявления-

ми функциональной активности НФ при герпесвирусной инфекции у человека не изучено.

Целью настоящего исследования являлась комплексная оценка параметров функциональной активности НФ у пациентов с ХРГИ тяжелого течения.

Материалы и методы

Обследовано 66 пациентов (10 мужчин и 56 женщин, возраст 18-46 лет) с ХРГИ тяжелого течения. Критериями тяжелого течения считали более 6 рецидивов в год, распространенный характер высыпаний, наличие симптомов общей интоксикации. На момент обследования 13 пациентов находились в стадии обострения заболевания, 53 – в стадии ремиссии. Продолжительность заболевания варьировала от 1 года до 26 лет. У 33 пациентов диагностирована герпетическая инфекция назолабиальной локализации, у 20 – сочетанная форма (аногенитальная и назолабиальная локализация). Из исследования были исключены пациенты с первичными иммунодефицитами, ВИЧ-инфекцией и сахарным диабетом. Контрольную группу составили 37 сопоставимых по возрасту и полу практически здоровых лиц. Оценивали кислород-, NET-образующую активность и поглотительные свойства НФ. Иммунологические исследования проводили до назначения медикаментозной терапии.

Материалом для исследования служили лейкоциты периферической венозной крови. Лейкоциты получали путем отстаивания гепаринизированной (10 Ед/мл) крови в течение 45 минут при 37 °С, отбирали нижний слой плазмы с лейкоцитарной пленкой, количество НФ в суспензии доводили до концентрации 5×10^6 клеток/мл путем разведения необходимым количеством фосфатно-солевого буфера (рН = 7,4). Жизнеспособность НФ в тесте исключения трипанового синего составляла не менее 95%.

Кислород-продуцирующую активность НФ определяли в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) в спонтанном (НСТсп) и стимулированном (НСТст) вариантах с микроскопической оценкой результата. Дополнительно рассчитывали индекс респираторного резерва ($ИРР = (НСТст - НСТсп) / НСТст$) [19].

Формирование NET оценивали по методике И.И. Долгушина [4] в нашей модификации. Лейкоциты инкубировали в течение 150 минут при 37 °С в среде RPMI-1640 (спонтанный уровень, NETсп) и в присутствии растворимых продуктов *S. aureus* (стимулированный уровень, NETст). Метод получения растворимых продуктов *S. aureus* и возможность использования их, как наиболее высокоактивного и комплексного стимулятора функциональных свойств НФ,

описан нами ранее [2]. Далее клеточную суспензию наносили на предметное стекло, окрашивали 0,04% раствором акридинового оранжевого с последующей люминесцентной микроскопией. Ядра НФ флуоресцировали ярко-зеленым цветом, NET были представлены тонкими свободнoleжащими ярко-зелеными нитями, занимающими пространство, в 2-3 раза превосходящее диаметр неизменного НФ. Учитывали четко дифференцируемые NET, подсчитывая не менее 200 НФ. Дополнительно рассчитывали индекс стимуляции (ИС_{NET}) по формуле: $ИС_{NET} = (NET_{ст} - NET_{сп}) / NET_{ст}$, позволяющий охарактеризовать функциональный резерв образования NET.

Поглотительную способность НФ определяли в реакции фагоцитоза *S. aureus*, оценивая фагоцитарный индекс (ФИ, процент фагоцитирующих НФ) и фагоцитарное число (ФЧ, среднее число частиц в одном фагоците) [10].

Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов, результаты выражали в виде Me (25%; 75%), где Me – медиана, 25% – нижний квартиль, 75% – верхний квартиль. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты комплексной оценки параметров функциональной активности НФ представлены в таблице 1. Как видно из приведенной таблицы 1, у пациентов с ХРГИ, в сравнении с контрольной группой, отмечалось значимое увеличение показателей НСТ_{сп} ($p < 0,001$) на фоне снижения НСТ_{ст} ($p = 0,010$). В отличие от кислород-продуцирующей активности, спонтанная NET-образующая способность НФ пациентов оказалась ниже, чем у здоровых лиц ($p = 0,002$), тогда как показатели NET_{ст} превышали значения контрольной группы ($p < 0,001$). Изме-

нения параметров резерва респираторной (ИРР) и NET-образующей активности НФ (ИС_{NET}) у пациентов с герпесвирусной инфекцией носили разнонаправленный характер. Так, обнаружено снижение ИРР и увеличение ИС_{NET} относительно здоровых лиц ($p < 0,001$). Показатели поглотительной активности НФ значимо не изменялись. Выявленная нами разнонаправленность изменений кислород- и NET-образующей способности лейкоцитов, с одной стороны, может быть связана с функциональной неоднородностью НФ, обусловливающей особенности их активации, на что указывают некоторые авторы [1]. Вероятно, одна субпопуляция НФ интенсивно генерирует активные формы кислорода (АФК), тогда как другая реализует свой потенциал преимущественно путем формирования NET. С другой стороны, оба процесса – генерация АФК и образование NET – являются НАДФ-зависимыми [18, 19], поэтому между данными проявлениями функциональной активности НФ возможна конкуренция за ферментные системы. Исходя из этого предположения, мы провели корреляционный анализ изучаемых показателей. Была выявлена отрицательная корреляция показателей ИРР и NET_{ст} как в группе здоровых лиц ($r_s = 0,44$; $p = 0,007$), так и в группе пациентов ($r_s = 0,35$; $p = 0,011$).

При индивидуальном анализе результатов мы обратили внимание на существенные различия показателей функциональной активности НФ у отдельных пациентов и предположили, что это обусловлено клиническими особенностями течения ХРГИ.

Учитывая литературные данные о том, что нарушение функциональных свойств фагоцитирующих клеток может усугубляться по мере увеличения давности патологического процесса [3, 8], мы сравнили параметры функционального статуса НФ у пациентов в зависимости от длительности герпесвирусной инфекции. Обследованных пациентов разделили на три группы: с длительно-

ТАБЛИЦА 1. ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРГИ В СТАДИИ РЕМИССИИ В СРАВНЕНИИ СО ЗДОРОВЫМИ ЛИЦАМИ

Показатель, единицы изменения	Здоровые лица, n = 37	ХРГИ (ремиссия), n = 53
НСТ _{сп} , %	7,0 (5,0; 10,0)	18,0 (17,0; 21,0)*
НСТ _{ст} , %	54,0 (47,0; 58,0)	48,0 (46,0; 52,0)*
ИРР	0,86 (0,83; 0,91)	0,62 (0,58; 0,67)*
NET _{сп} , %	5,0 (4,0; 7,0)	4,0 (2,0; 5,0)*
NET _{ст} , %	9,0 (8,0; 11,0)	15,0 (13,0; 18,0)*
ИС _{NET}	0,46 (0,33; 0,56)	0,75 (0,68; 0,86)*
ФИ, %	69,0 (64,0; 74,0)	70,0 (63,0; 73,0)
ФЧ	7,0 (6,0; 8,0)	6,0 (5,0; 7,0)

Примечание. * – различие статистически значимо ($p < 0,05$) в сравнении с группой здоровых лиц.

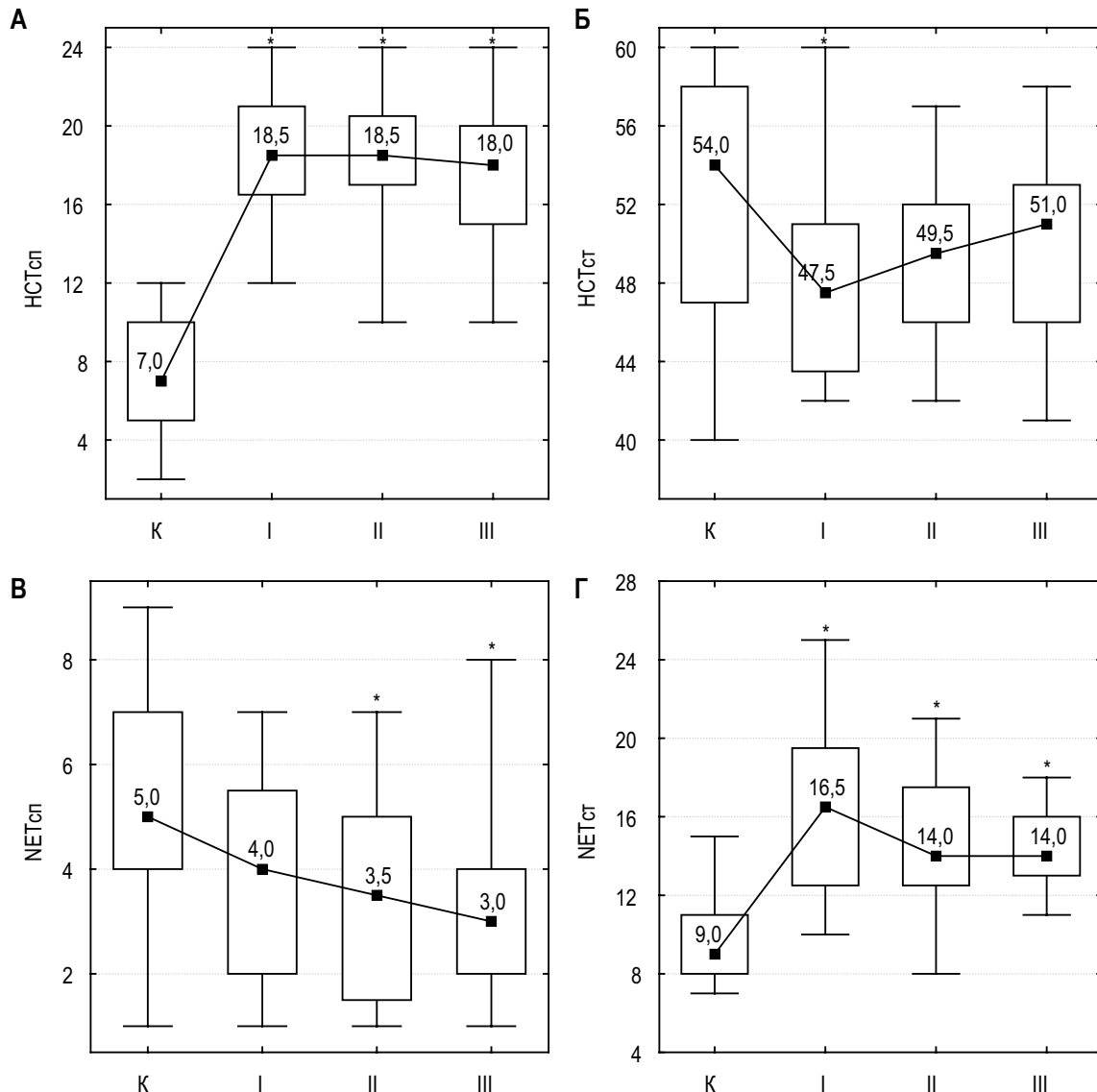


Рисунок 1. Показатели спонтанной и стимулированной кислород-продуцирующей (А, Б) и NET-образующей (В, Г) способности НФ пациентов ХРГИ с различной длительностью заболевания

Примечание. К – контрольная группа;

I – пациенты с длительностью ХРГИ менее до 2 лет;

II – пациенты с длительностью ХРГИ от 3 до 5 лет;

III – пациенты с длительностью ХРГИ более 5 лет.

Данные представлены в виде (Me; 25%-75%; Min-Max). * – различия значимы ($p < 0,05$) в сравнении с аналогичным показателем контрольной группы.

стью заболевания до 2 лет (I группа, $n = 20$), от 3 до 5 лет включительно (II группа, $n = 16$) и более 5 лет (III группа, $n = 17$) (рис. 1).

Анализ показателей функциональной активности НФ выявил во всех группах пациентов увеличение значений НСТсп (рис. 1А) и, как следствие, уменьшение ИРР в сравнении со здоровыми лицами ($p < 0,001$). В то время как снижение параметров НСТст (рис. 1Б) наблюдалось только у пациентов с давностью ХРГИ до 2 лет ($p = 0,010$) с дальнейшей нормализацией по мере увеличения длительности

заболевания. При сопоставлении параметров NET-образующей активности НФ в группах пациентов с различной длительностью ХРГИ, нами была выявлена закономерность изменения уровня NETсп. Как видно из рисунка 1В, способность НФ к спонтанному формированию NET уменьшалась по мере увеличения давности заболевания, при этом у пациентов I группы показатели NETсп имели лишь тенденцию к снижению ($p = 0,070$), тогда как у пациентов II-III групп были значимо ниже относительно значений здоровых лиц ($p = 0,020$; $p = 0,005$ со-

ответственно). Уровень NETст (рис. 1Г) и ИС_{NET} у пациентов с герпесвирусной инфекцией, независимо от длительности заболевания, был значимо выше по отношению к группе контроля ($p < 0,001$) и соответствовал приведенным нами ранее в таблице 1.

У всех обследованных нами пациентов частота рецидивов составляла ≥ 6 раз в год (как критерий включения в исследование), однако у 25 из них отмечалось непрерывно рецидивирующее течение (количество обострений ≥ 12 раз в год). Показатели функциональных свойств НФ у этих пациентов значимо не отличались от лиц с меньшей частотой рецидивов, а в сравнении с контрольной группой обнаруживались те же изменения изучаемых показателей, что и для всей группы пациентов (табл. 1).

При оценке параметров функциональной активности НФ в зависимости от локализации герпетических высыпаний было установлено, что у пациентов с сочетанной формой ($n = 20$) способность к образованию NETст превышала аналогичные значения в группе с назолабиальным герпесом ($n = 33$, $p < 0,001$) (рис. 2). Полученные данные дополнительно подтверждают наличие прямой взаимосвязи между уровнем NETст и локализацией герпетических высыпаний у обследованных лиц ($r_s = 0,62$; $p < 0,001$). По другим параметрам функциональных свойств НФ различий между пациентами не было выявлено.

Известно, что течение ХРГИ часто сочетается с другими проявлениями иммунологической недостаточности, прежде всего с хроническими воспалительными заболеваниями различной этиологии [7]. Среди обследованных нами пациентов сопутствующие хронические инфекции респираторного и урогенитального тракта вне фазы обострения отмечались у 21 человека (39%). По параметрам функционального статуса НФ эти

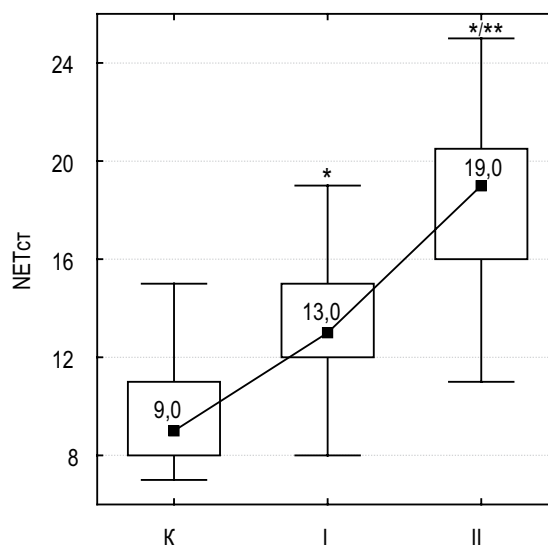


Рисунок 2. Стимулированная NET-образующая способность НФ пациентов с ХРГИ в зависимости от локализации герпетических высыпаний

Примечание. К – контрольная группа;

I – пациенты с назолабиальной формой ХРГИ;

II – пациенты с сочетанной формой ХРГИ.

Данные представлены в виде (Me; 25%-75%; Min-Max).

* – различия значимы ($p < 0,05$) в сравнении с аналогичным

показателем контрольной группы; ** – различия значимы ($p < 0,05$)

в сравнении с аналогичным показателем II группы.

пациенты не имели каких-либо особенностей в сравнении с лицами, не имеющими других хронических инфекций (данные не приведены).

По данным различных авторов, функциональная активность НФ у пациентов с ХРГИ значительно различается в зависимости от того, в стадии ремиссии либо обострения заболевания проводилось обследование [6, 8]. Поэтому на следующем этапе работы у 13 пациентов мы проследили изменения параметров функционального

ТАБЛИЦА 2. ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРГИ В ДИНАМИКЕ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Показатель, единицы изменения	Контрольная группа, n = 37	Пациенты с ХРГИ, n = 13	
		ремиссия	обострение
НСТсп, %	7,0 (5,0; 10,0)	18,0 (17,0; 19,0)*	20,0 (19,0; 24,0)*
НСТст, %	54,0 (47,0; 58,0)	50,0 (44,0; 54,0)	50,0 (46,0; 53,0)
ИРР	0,86 (0,83; 0,91)	0,60 (0,59; 0,69)*	0,58 (0,52; 0,64)*
NETсп, %	5,0 (4,0; 7,0)	4,0 (2,0; 5,0)*	5,0 (3,0; 7,0)*/**
NETст, %	9,0 (8,0; 11,0)	13,0 (12,0; 19,0)*	18,0 (15,0; 23,0)*/**
ИС _{NET}	0,46 (0,33; 0,56)	0,75 (0,69; 0,85)*	0,72 (0,68; 0,80)*
ФИ, %	69,0 (64,0; 74,0)	69,0 (63,0; 72,0)	70,0 (64,0; 74,0)
ФЧ	7,0 (6,0; 8,0)	6,0 (5,0; 6,0)*	5,0 (4,0; 5,0)*

Примечание. * – различия статистически значимы ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой;

** – различия статистически значимы ($p < 0,05$) в сравнении пациентами в ремиссии.

статуса НФ в динамике процесса. Группа включала 11 женщин, 2 мужчин в возрасте 33 (28; 42) лет, продолжительность заболевания составляла от 2 до 15 лет с частотой рецидивирования 6 и более раз в год. Первое обследование было проведено в ремиссии заболевания, а повторное (через 1-2 месяца после первого) у этих же пациентов – в период клинического обострения, сопровождающегося наличием везикулярных высыпаний на коже и слизистых оболочках с характерными жалобами на зуд и жжение пораженных областей, общее недомогание, слабость, субфебрильную температуру. Следует отметить, что у обследованных в динамике пациентов, несмотря на наличие герпетических высыпаний, в момент обострения ХРГИ отсутствовали лабораторные признаки воспаления, такие как увеличение СОЭ, лейкоцитоз, повышение острофазных белков. За время наблюдения пациенты иммуномодулирующих препаратов не получали. Данные динамического исследования приведены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, изменения функциональной активности НФ, выявляемые у пациентов при обострении герпетической инфекции, в целом идентичны таковым в стадии ремиссии заболевания, но степень отклонений параметров спонтанной и стимулированной NET-образующей способности НФ значимо выше ($p = 0,010$; $p = 0,001$ соответственно) при обострении. Дополнительно к этому, у лиц в стадии обострения была выявлена прямая корреляция между значениями NETсп и NETст ($r_s = 0,84$; $p < 0,001$), отсутствующая при обследовании в стадии ремиссии. Полученные результаты продемонстрировали, что изменения функциональной активности НФ у пациентов с ХРГИ выявляются как в ремиссии процесса, так и при обострении, но степень отклонения NET-образующих свойств в период рецидива инфекции выше.

Таким образом, проведенная нами комплексная оценка различных проявлений реактивности НФ (NET-образующие свойства, кислород-продуцирующая и поглощательная активность) позволила установить, что у пациентов с ХРГИ в период клинической ремиссии отмечаются выраженные изменения кисло-

род- и NET-образующей способности, которые носят разнонаправленный характер. Выявлено повышение значений НСТсп, снижение НСТст и, как следствие, подавление резерва образования АФК (ИРР). В то же время изменения NET-образующей способности НФ имели противоположный характер – снижение NETсп на фоне увеличения значений NETст и резерва образования NET (ИС_{NET}). Обнаруженные изменения носят стойкий характер и выявляются у пациентов вне зависимости от клинических особенностей течения герпесвирусной инфекции. При переходе процесса из ремиссии в стадию обострения выявленные нарушения сохраняются, но степень выраженности NET-образующих свойств значимо выше. Дальнейшее изучение NET-образующей способности НФ пациентов с ХРГИ может быть использовано в качестве дополнительного диагностического и прогностического критерия тяжести и выраженности патологического процесса.

Выводы

1. У пациентов с ХРГИ в стадии ремиссии в сравнении со здоровыми лицами выявлены разнонаправленные изменения параметров кислород- и NET-образующей способности нейтрофилов: повышение спонтанной и снижение стимулированной активности в НСТ-тесте на фоне подавления резерва продукции АФК, с одновременным увеличением показателей стимулированной и уменьшением спонтанной NET-образующей способности на фоне повышения функционального резерва формирования NET.

2. Направленность выявленных изменений показателей функциональной активности нейтрофилов не зависит от длительности ХРГИ, частоты рецидивирования, наличия сопутствующих инфекционно-воспалительных процессов. В период обострения ХРГИ повышается только степень выраженности имеющихся изменений, но не их направленность.

3. Способность нейтрофилов к образованию NET в условиях стимуляции (NETст) у пациентов с сочетанной формой герпесвирусной инфекции выше в сравнении с лицами с назолабиальной локализацией герпетических высыпаний.

Список литературы

1. Гусакова Н.В., Новикова И.А. Образование экстрацеллюлярных сетей нейтрофилами периферической крови // Проблемы здоровья и экологии. – 2011. – № 3. – С. 27-31.
2. Дидковский Н.А., Малашенкова И.К. Актуальные вопросы тяжелой герпетической инфекции у взрослых // Лечащий врач. – 2006. – № 9. – С. 8-12.
3. Долгушин И.И., Шишкова Ю.С., Савочкина А.Ю., Рыжкова А.И., Курносенко И.В., Евтушенко В.П. Технологии определения и роль нейтрофильных внеклеточных ловушек в антимикробной защите // Вестник РАМН. – 2010. – № 4. – С. 26-30.
4. Фримель Г. Иммунологические методы. – М.: Медицина, 1987. – 476 с.

Ссылки 5-8 см. в References (стр. 176). See References for numbers 5-8 at p. 176.

References

1. Gusakova N.V., Novikova I.A. Obrazovanie ekstratsellyulyarnykh setey neytrofilami perifericheskoy krovi [Neutrophil extracellular traps formation in peripheral blood]. *Problemy zdorov'ya i ekologii – Problems of Health and Ecology*, 2011, no. 3, pp. 27-31.
2. Didkovsky N.A. Malashenkova I.K. Aktual'nye voprosy tyazheloy gerpeticheskoy infektsii u vzroslykh [Actual questions severe herpes infections in adults]. *Lechashchiy vrach – The Practitioner*, 2006, no. 9, pp. 8-12.
3. Dolgushin I.I., Shishkova Yu.S., Savochkina A.Yu. Tekhnologii opredeleniya i rol' neytrofil'nykh vnekletochnykh lovushek v antimikrobnoy zashchite [Technology of detection and role of extracellular neutrophil traps in antimicrobial protection]. *Vestnik RAMN – Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2010, no. 4, pp. 26-30.
4. Friemel H. Immunologicheskie metody [Immunological methods]. *Moscow, Meditsina – Medicine*, 1987. 476 p.
5. Duerst R. Innate Immunity to Herpes Simplex Virus Type 2. *Viral Immunology*, 2003, vol. 16, no. 4, pp. 475-490.
6. Hung S.L., Chiang H.H., Chen Y.T. Effects of herpes simplex virus type 1 infection on immune functions of human neutrophils. *J. Periodontal Res.*, 2012, no. 4, pp. 1600-1665.
7. Papayannopoulos V., Zychlinsky A. NETs: a new strategy for using old weapons. *Trends in Immunology*, 2009, no. 30, pp. 513-521.
8. Park B.H., Seoul National M.D., Fikrig S.M., Istanbul M.D., Smithwick E.M., Wisconsin M.D. Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils. *The Lancet*, 1968, vol. 292, pp. 532-534.