

Нейтрофільні позаклітинні пастки при гострому панкреатиті

С.М. Чуклін¹, С.С. Чуклін², Р.В. Баріляк¹

¹Львівська обласна клінічна лікарня;

²Медичний центр Святої Параскеви, Львів; e-mail: chooklin_serger@hotmail.com

Огляд присвячений ролі нейтрофільних позаклітинних пасток (НПП) у патогенезі гострого панкреатиту. Показано, що НПП можуть активувати трипсин, викликати запалення та пошкодження тканини підшлункової залози, закупорювати вивідні протоки. Вони також беруть участь в утворенні жовчних каменів, які є одним з провідних етіологічних чинників гострого панкреатиту. НПП оточують некротичну тканину у пацієнтів із тяжким гострим панкреатитом і сприяють подальшому синдрому системної запальної відповіді. Розглянуті механізми утворення НПП при гострому панкреатиті, зокрема значення молекулярних фрагментів, пов'язаних із пошкодженням, мікрочастинок нейтрофілів і тромбоцитів у цих процесах.

Ключові слова: гострий панкреатит; нейтрофіли; нейтрофільні позаклітинні пастки; тромбоцити.

ВСТУП

Загально визнано, що гострий панкреатит (ГП) ініціює місцеве запалення та пошкодження підшлункової залози (ПЗ), які можуть посилюватися через каскадні реакції, що зрештою призводить до синдрому системної запальної відповіді, синдрому поліорганної дисфункції і поліорганної недостатності [1, 2]. Близько 80% випадків ГП – це легка форма [3], з лише інтерстиціальними змінами ПЗ, які зазвичай можна полегшити протягом 2 тиж. Пацієнти з тяжким ГП асоціюються зі стійкою органною недостатністю [4], з високим рівнем смертності у всьому світі, що вимагає тривалої госпіталізації та дороговартісного лікування [5].

Патогенез ГП досі недостатньо вивчений, що лімітує варіанти лікування за межами підтримуючої терапії, яка включає спокій кишок, рідинну ресусцитацію, знеболювання, харчування [6]. Але ці методи не мають специфічного впливу на запальне ушкодження [7]. Тому важливо вивчати патогенез ГП,

© С.М. Чуклін, С.С. Чуклін, Р.В. Баріляк

особливо механізми запалення та активації імунної відповіді.

ГП характеризується підвищеними концентраціями травних ферментів у крові, пов'язаними зі зміненою секреції ацинарних клітин та/або обструкцією проток, що сприяє аутоотравному пошкодженню в ПЗ [6]. Ці події стимулюють пошкодження тканин і активацію вродженої імунної системи, що призводить до залучення та активації нейтрофілів з подальшим вивільненням прозапальних цитокінів та інших речовин, які спричинюють системне запалення [6, 8].

Нейтрофіли відіграють центральну роль при тяжкому ГП [9], сприяючи активації трипсиногену, залученню імунних клітин до ПЗ та поширенню запалення та пошкодження тканин [8]. Загалом вважається, що активація трипсину, рекрутинг лейкоцитів і порушення мікросудинної перфузії є інтегрованими компонентами патофізіології ГП [10]. Інвазія лейкоцитів (нейтрофілів і моноцитів/макрофагів) тісно пов'язана з тяжкістю ГП і має важливе значення у системній запальній

відповіді та інших ушкодженнях органів, вторинних відносно цього захворювання. Після початку ГП прихід першої хвили нейтрофілів відбувається через різноманітні тригери і є критичним для загострення запалення [11]. Встановлено, що нейтрофіли опосередковують тяжкість ГП. Але основні механізми недостатньо вивчені [12], одним з таких – може бути утворення нейтрофільних позаклітинних пасток (НПП) [13–15].

Дія НПП при ГП

У 2014 р. вперше було повідомлено про наявність НПП при ГП [16]. НПП та їх складові компоненти можуть викликати некроз у щойно виділених ацинарних клітинах ПЗ. Їх могли виявити в експериментальній моделі ГП лише в некротичних сегментах ПЗ. Дослідження було першим, що продемонструвало нову роль НПП при ГП без мікробної інфекції.

При панкреатиті у мишей, спричиненому ін'єкцією таурохолату, НПП були ідентифіковані в тканині ПЗ за допомогою скануючої електронної мікроскопії для візуалізації спільно локалізованої ДНК, гістонів та нейтрофільної еластази (НЕ) [13]. Вплив таурохолату збільшував вміст мієлопероксидази (МПО) та кількість позасудинних нейтрофілів у запаленій ПЗ. Введення ДНази І помітно знижувало активність МПО та кількість позасудинних нейтрофілів у ПЗ. Це свідчило про те, що НПП є визначними регуляторами рекрутменту таких клітин [13]. Додавання НПП і гістонів до ацинарних клітин викликало утворення трипсину та активацію сигнального перетворювача та активатора транскрипції 3 (STAT3 – signal transducer and activator of transcription 3); ці процеси блокувалися полісіаловою кислотою. Пацієнти з тяжким ГП мали підвищений вміст компонентів НПП у плазмі порівняно з контролем [13]. НПП не тільки збільшували експресію Mac-1 (Macrophage-1 antigen), але й посилювали продукцію активних форм кисню (АФК) в ізольованих нейтрофілах.

Більше того, спільна інкубація з ДНазою І послаблювала спровоковану НПП експресію утворення Mac-1 та АФК у нейтрофілах. Ці дані також вказували на те, що НПП можуть безпосередньо активувати нейтрофіли. Можна припустити, що вони регулюють нейтрофільну інфільтрацію на 2 різних рівнях (тобто опосередковано через утворення CXCL2 (C-X-C motif chemokine ligand 2) в ПЗ та безпосередньо через посилення експресії Mac-1 на нейтрофілах [13]. Виявлено, що НПП є потужним індуктором активності STAT3, що відповідає результатам активації трипсину [13]. STAT3 є важливою сигнальною молекулою в ацинарних клітинах [17]. Слід зазначити, що нещодавнє дослідження виявило, що отриманий з нейтрофілів MMP-9 (matrix metalloproteinase 9) є потужним індуктором активації трипсину в ацинарних клітинах [18]. Інгібування генерації НПП знижувало вміст MMP-9 у плазмі, що також може пояснити патологічну роль цих пасток при ГП [13]. Гістон 3 і гістон 4 провокують як збільшення фосфорилування STAT3, так і активацію трипсину в ацинарних клітинах [13]. Показано наявність НПП у тканині ПЗ під час ГП імунофлюоресцентним фарбуванням цитрулінованого гістону H3 [9]. Хоча частина цієї експресії не локалізується спільно з маркером нейтрофілів LybG, це може бути пов'язано з відкладенням цитрулінованих гістонів з НПП у позаклітинному просторі з кліренсом LybG після того, як нейтрофіл загине під час нетозу. Цитрулінування гістону H3 є досить специфічним маркером утворення НПП, тому ці дані свідчать про те, що НПП виникають у тканині ПЗ під час ГП [9].

Крім того, в інших дослідженнях показано, що утворення НПП регулюється кіназою c-Abelson (c-Abl) [19] і гістонцитрулінізуючим ферментом пептидиларгініндеіміназою 4 (PAD4 – protein arginine deiminase 4) при ГП [20]. Широко визнано, що c-Abl-кіназа є важливою сигнальною молекулою, яка регулює динаміку клітинного актину та перебудову цитоскелета [21, 22]. Вона

регулює пошкодження тканин у запаленій ПЗ залозі як через утворення НПП, так і залучення нейтрофілів [19].

Агрегати компонентів НПП також закупорюють панкреатичні протоки при ІЛ-17-індукованому панкреатиті у мишей для поширення запалення ПЗ [15]. Важливо, що PAD4 – фермент, необхідний для утворення НПП, який цитрулінує гістони для деконденсації, був доконечним для індукції панкреатиту в цій моделі. Розширено попередні висновки про те, що НПП є критичним медіатором ГП у двох додаткових моделях ГП мишей: використання L-аргініну [23] і дієти з дефіцитом холіну, добавками етіоніну (CDE – choline deficient, ethionine supplemented) [24]. Оскільки жодна мишача модель ідеально не повторює множинну етіологію панкреатиту у людини, встановлення значущості НПП є критичним. Агрегати НПП були візуалізовані в протоках ПЗ при добро- та злоякісному панкреатиті людини [15]. Характерні окремі компоненти панкреатичного соку, такі як іони бікарбонату та кристали карбонату кальцію, викликають утворення агрегованих НПП (агНПП). Нейтрофіли можуть екстерналізувати свій хроматин відразу після потраплення у вороже середовище протокової рідини, що характеризується лужним рН, надпороговими концентраціями бікарбонату та кальцію, лізосомним стресом і витоком. Периферичний лейкоцитоз сприяє посиленому проникненню нейтрофілів у протоки ПЗ через ацинус. Екстремальні умови викликають деконденсацію хроматину нейтрофілів незалежно від активності PAD або АФК, однак незначні порушення рН-балансу – pCO_2 сприяють припливу кальцію та опосередкованій PAD-деконденсації хроматину [25]. За аналогією з канонічним утворенням НПП, позаклітинний хроматин має тенденцію агрегуватися і закупорювати протоки ПЗ. Як наслідок, обмеження потоку панкреатичної рідини може спричинити розвиток ГП [15]. Lerpkes і його колеги вису-

нули гіпотезу, що утворення внутрішньопро-токових агНПП і подальша оклюзія, ймовірно, причетні до клінічних симптомів хронічного панкреатиту. Вони помітили, що нейтрофіли потрапляють у протоки при запальних станах і утворюють агНПП, які, у свою чергу, перешкоджають секреторному потоку і тим самим викликають вогнищевий панкреатит і ремоделювання паренхіми [15]. Крім того, автори виявили, що ці внутрішньопро-токові агрегати містили інтерлейкін-17А (ІЛ-17А), прозапальний цитокін, який запускає рекрутинг клітин вродженого імунітету. Ці дослідження призвели до двох різних підходів, трансгенного та векторного, для системної доставки ІЛ-17А мишам. Надмірна його експресія викликала панкреатит, який супроводжувався нейтрофілією, підвищеною мобілізацією нейтрофілів та триптичною активністю гомогенату ПЗ, яскравою мієлоїдною запальною інфільтрацією [15]. Ретельніше спостереження за внутрішньопро-токовими агрегатами виявило сильну спільну локалізацію цитрулінованого гістону H3 (citH3) з позаядерною ДНК, що є характерною ознакою НПП. Більше того, citH3, сурогат активності PAD4, переважно спостерігався всередині протоків ПЗ та в просвіті ацинусів, які зазнали протокової метаплазії [15]. Активність PAD4 має вирішальне значення для деконденсації хроматину нейтрофілів під час нетозу [26]. Важливо, що дефіцит PAD4 істотно захищав мишей від розвитку панкреатиту, спричиненого ІЛ-17А. Ці дані підтверджують, що опосередковане PAD4 цитрулінування аргініну життєво важливе для формуванню агНПП в контексті оклюзії протоків [15]. Здатність НПП закупорювати останні і потенційно викликати панкреатит дає можливість терапевтичного втручання для запобігання надмірної активації нейтрофілів як варіанта лікування. Зменшення продукції та розмірів НПП і агНПП в панкреатичних протоках PAD4-КО мишей запобігали розвитку вогнищевому панкреатиту [20, 27].

Обструкція жовчовивідної системи є однією з основних причин ГП [28]. До теперішнього часу вважалося, що жовчні камені (ЖК) просто утворюються через перенасичення кристалами холестерину, але їх дослідили і на наявність НПП [29]. Після спостереження позаклітинної ДНК та HE в жовчному шламі та ЖК було встановлено, що для утворення конкрементів у мишей потрібна здатність до формування інтактних НПП. В основному, НПП були вирішальними в ініціації та прогресуванні виникнення ЖК, сприяючи агрегації біліарного холестерину та кристалів кальцію. Крім того, у клінічних умовах повідомлялося про позитивну кореляцію між співвідношенням числа нейтрофілів/лімфоцитів і тяжкістю панкреатиту, спричиненого ЖК [30]. Однак клінічні випробування із застосуванням інгібування утворення НПП у пацієнтів із рецидивуючою жовчнокам'яною хворобою все ще потрібні [31].

НПП також оточують некротичну тканину у пацієнтів із тяжким ГП і сприяють подальшому синдрому системної запальної відповіді [32]. Різні стадії нетозів, такі як рання стадія, прогресування нетозів і агНПП були виявлені на гістологічних ділянках межі між життєздатними та некротичними тканинами [32]. Оцінюючи отримані дані, автори припустили, що утворення НПП служить для формування тимчасового бар'єра, який ізолює некротичні тканини під час гострих запальних процесів [32]. НПП утворюються у відповідь на некротичне сміття і забезпечують біологічний поглинач для молекулярних фрагментів, пов'язаних із пошкодженням (DAMP – damage-associated molecular patterns). Потенційно шкідливі DAMP потім розкладаються в НПП, як було показано раніше для запальних цитокінів, через протеолітичне розщеплення [33]. Позаклітинна ДНК та білки, пов'язані з хроматином, потім сприяють коагуляції та зміцненню фібринових згустків, що утворюються на поверхні НПП [34]. Цей бар'єр може бути остаточно трансформований

у фіброзну тканину за рахунок повільно мігруючих і проліферуючих фібробластів [35].

DAMP і НПП при ГП

eCIRP. Нещодавно дослідники вивчили роль при тяжкому ГП позаклітинного індукованого холодом РНК-зв'язуючого білка (*eCIRP* – extracellular cold-inducible RNA-binding protein), нової DAMP-молекули [36]. Пацієнти мали підвищений вміст *eCIRP* у плазмі порівняно з контролем. *CIRP* є ядерним білком, який зазвичай регулює цитоплазматичну трансляцію РНК [37]. Під час клітинного стресу та запалення він вивільняється у позаклітинний простір [38]. Зокрема, підвищення вмісту позаклітинного *CIRP* (*eCIRP*) спостерігається в кровообігу пацієнтів із сепсисом, артритом та панкреатитом [39, 40]. Потрапляючи в позаклітинний простір, цей білок діє як DAMP-молекула [39, 41]. Таким чином, *eCIRP* може індукувати активацію ендотеліальних клітин, секрецію прозапальних медіаторів із макрофагів та утворення НПП [38, 42]. *CIRP* з високою спорідненістю зв'язується з рецепторним комплексом TLR4-MD2 (Toll-like receptor 4/myeloid differentiation factor 2 complex) [38]. Було визначено, що *eCIRP* наявний на НПП і що НПП-асоційований *eCIRP* активує ацинарні клітини [36]. При цьому пацієнти з ГП середньої тяжкості або з тяжким перебігом мали вищий вміст *eCIRP* у плазмі порівняно зі здоровими особами, що підтверджує його роль при запаленні ПЗ у людей [36]. Таке уявлення узгоджується з даними дослідження, яке показало, що вміст *eCIRP* у плазмі крові корелює з тяжкістю захворювання і може використовуватися як біомаркер у пацієнтів з ГП [43]. НПП, які індуковані стимуляцією РМА (phorbol 12-myristate 13-acetate), містять *eCIRP* у великій кількості. Це вказує на те, що *eCIRP* можна додати до списку відомих білків, асоційованих з НПП [36]. Крім того, НПП, що містять *eCIRP*, збільшують секрецію амілази із ізольованих ацинарних клітин. Водночас інгібування *eCIRP* значно

зменшило НПП-індуковану секрецію амілази з ацинарних клітин. Ці дані доводять участь НПП-асоційованого eCIRP у протеолітичній активації у запаленій ПЗ [36].

LAMP. Згідно з останніми дослідженнями, панкреатит також пов'язаний зі зниженням вмісту лізосомних мембранних білків (LAMP – lysosome-associated membrane proteins), які потрібні для аутофагії та підтримки гомеостазу ацинарних клітин ПЗ та послаблення панкреатиту [44, 45]. Таким чином, ацинарна аутофагія може бути ключовим фактором у лікуванні панкреатиту. Проте було також показано, що антитіло проти LAMP-2 викликає утворення НПП; таким чином, LAMP, отримані в результаті аутофагії, можуть викликати пошкодження тканин, сприяючи утворенню НПП [46]. Отже, наявність НПП гальмує одужання від панкреатиту не тільки через пошкодження тканини, а й через порушення гомеостазу, що підтримується аутофагією.

HMGB1. Модель ГП у мишей підтвердила HMGB1 (high-mobility group box protein-1)-опосередковані молекулярні механізми у живому організмі і показала, що цей білок необхідний для активації НПП [47]. Було виявлено, що інгібування НПП змінює стимульовану HMGB1-активацію запалення та продукцію ІЛ-1 β . Таким чином, протеїн призводить до пошкодження ПЗ через активування НПП і згодом індукує процесинг ІЛ-1 β з нейтрофілів до тканин ПЗ. Ці результати демонструють, що HMGB1 і НПП є новими терапевтичними цілями для придушення запалення при тяжкому ГП [47].

HMGB1 є одним з найвивченіших медіаторів запалення. Виявлено, що вміст цього циркулюючого білка значно підвищений у пацієнтів з ГП [48]. Внутрішньоклітинно він запобігає ядерній катастрофі та вивільненню запальних нуклеосом для блокування запалення у мишей [49]. Його інгібування може зменшити пошкодження ПЗ у щурів [50]. Більше того, HMGB1, отриманий з макрофагів, відіграє роль на ранніх стадіях ГП у мишей [48, 51].

Amini зі співавт. [52] також повідомили, що синтез АТФ у клітинах потрібний для складання сітки мікротрубочок і утворення НПП. Крім того, було надано переконливі докази, що введення HMGB1 викликало широке відкладення ДНК у нейтрофілах і тканинах ПЗ, а також збільшення безклітинної ДНК у супернатантах клітин [47]. Цікаво, що інгібування АТФ або інкубація з ДНазою I помітно знизило відкладення ДНК і вміст безклітинної ДНК у супернатантах. Експериментальне дослідження на мишах із ГП показало, що нейтрофіли можуть бути джерелом позаклітинної ДНК при цьому захворюванні [47].

На клітинному рівні одним з основних сигналів, потрібних для активації передачі сигналів ІЛ-1 β , є інфламасома NLRP3 (NLR family pyrin domain containing 3), мультибілковий олігомер, який відповідає за активацію запальних реакцій [53]. Встановлено, що міжклітинні стимуляції сприяють залученню інфламасомного комплексу NLRP3, експресії про-ІЛ-1 β і активації каспази-1, а також подальшому біологічно активному вивільненню ІЛ-1 β і загибелі клітин запалення [54]. Є багато даних, що HMGB1 бере участь в активації запалення [55, 56]. Автори виявили, що він як у штучних умовах, так і в живому організмі, чудово сприяє експресії мРНК генів ІЛ-1 β , ASC, CASP1 і NLRP3, які кодують білки комплексу інфламасоми. Крім того, HMGB1 посилював експресію ASC, NLRP3, про-ІЛ-1 β і прокаспази-1, водночас знижував вміст білка ІЛ-1 β або каспази-1 в моноцитах/макрофагах [47]. HMGB1 постійно сприяє активації інфламасоми NLRP3, що призводить до процесингу та дозрівання ІЛ-1 β і викликає пошкодження тканин при ГП [47].

Отримані результати в експерименті на мишах продемонстрували, що вісь HMGB1/NLRP3/ASC/caspase-1/ІЛ-1 β регулює порушений імунний каскад, який виникає під час розвитку ГП. Враховуючи, що опосередковане HMGB1 пошкодження ПЗ вимагає

залучення НПП, ці результати підтвердили, що інгібування НПП може нівелювати пошкодження тканин, спричинене цим білком [47]. HMGB1 призводить до активації канонічних інфламасом NLRP3 і процесингу IL-1 β в НПП-залежній формі. Він сприяє активації НПП у нейтрофілах, а також моноцитах/макрофагах, індукуючи вивільнення IL-1 β в ПЗ. Разом ці результати ілюструють, що HMGB1 і НПП є важливими молекулярними медіаторами при панкреатиті і можуть служити новими терапевтичними мішенями для пригнічення запалення при тяжкому ГП [47].

Мікрочастинки нейтрофілів і НПП при ГП

Активовані нейтрофіли виділяють мікрочастинки (МЧ), тобто сфероподібні інтактні везикули, що вивільняються з клітинних мембран розміром менше ніж 1 мкм [57], однак невідомо, чи МЧ зв'язані з НПП і сприяють запаленню та пошкодженню тканин при ГП [58]. Нещодавно було продемонстровано, що МЧ, що утворюються під час активації нейтрофілів, можуть зв'язуватися з НПП і формувати комплекси НПП-МЧ, які важливі для продукування тромбіну при сепсисі [59]. Дія таурохолату збільшує кількість агрегатів НПП-МЧ у ПЗ, а виснаження тромбоцитів зменшує агрегати НПП-МЧ у запаленій ПЗ [58]. Крім того, було виявлено, що МЧ, пов'язані з НПП, експресують Мас-1 або CD41. Це свідчить про те, що МЧ, отримані з нейтрофілів і тромбоцитів, утворюють комплекси з НПП у запаленій ПЗ [58]. Використовуючи електронну мікроскопію, було підтверджено, що спільна інкубація інгібіторів каспази та кальпаїну скасовує формування МЧ, що призводить до утворення НПП без них [58]. Примітно, що збіднені МЧ НПП були значно менш ефективними щодо запуску секреції амілази, фосфорилування STAT-3 та експресії генів IL-6 та TGFB1 (transforming growth factor beta-1) в ацинарних клітинах порівняно з агрегатами НПП-МЧ. У цьому контексті слід зазначити, що коінкубація

з інгібіторами каспази та кальпаїну не впливала на кількість утворення НПП або вміст гістонів у НПП, збіднених МЧ. Таким чином, НПП є функціональним каркасом складання для МЧ при ГП [58].

Нейтрофіли-тромбоцити і НПП при ГП

Взаємодія нейтрофілів та тромбоцитів у тканині ПЗ також відіграє важливу роль у механізмі, що лежить в основі збільшення тяжкості ГП [60]. Активовані тромбоцити зв'язуються з нейтрофілами та індукують утворення НПП. Останні та їх компоненти потім зв'язують більше тромбоцитів, утворюючи тромб і пошкоджуючи ендотелій мікросудин ПЗ [61]. Оскільки кровопостачання часточки ПЗ забезпечується лише однією артерією, вона дуже чутлива до ішемії, і НПП можуть легко викликати ішемічне пошкодження та некроз ПЗ [62]. Уражені ацинуси ПЗ виділяють DAMP у кровообіг при серйозному локальному запаленні, що потенційно може призвести до системного запалення і органної дисфункції [63].

Тромбоцити є основним джерелом неорганічних поліфосфатів у клітинах ссавців і можуть секретувати короткі полімери PolyP (60–100 залишків) з потужним впливом на коагуляцію [64]. Попереднє дослідження показало, що інозитолгексакісфосфаткіназа 1 (IP6K1 – inositol hexakisphosphate kinase 1) є важливим ферментом, який регулює гомеостаз поліфосфатів у тромбоцитах [65]. Крім того, повідомляється, що IP6K1 тромбоцитів регулює утворення тромбоцитарно-нейтрофільних агрегатів (ТНА) при ендотоксиніндукованому запаленні легенів, що свідчить про прозапальну роль у системному запаленні [66]. Тромбоцитарна IP6K1 може не тільки брати участь у формуванні НПП, але й регулювати подальше запалення та пошкодження органів при ГП. Було показано, що IP6K1 тромбоцитів контролює системне запалення. За допомогою електронної мікроскопії спостерігали рясне утворення НПП у запаленій ПЗ [58]. Ці НПП містили численні

МЧ, що експресують CD41 або Mac-1 [58]. Виснаження тромбоцитів зменшило відкладення комплексів НПП-МЧ у запаленій ПЗ. Циркулюючі агрегати тромбоцитів-нейтрофілів (ТНА) були збільшені, а інгібування Р-селектину не тільки порушило їх утворення, але й зменшило формування НПП у запаленій ПЗ [58]. НПП, збіднені МЧ, мали меншу здатність провокувати секрецію амілази та фосфорилування STAT-3 в ацинарних клітинах. Утворення таурохолатіндукованих НПП, запалення та пошкодження тканин ПЗ були пригнічені у мишей з дефіцитом IP6K1 [58]. Стимуляція тромбіну сумішами тромбоцитів мишей дикого типу та нейтрофілів призводила до утворення НПП, а при дефіциті IP6K1 відновлення їх формування відбувалося при порятунку поліфосфатів [58]. Тромбоцитарна IP6K1 регулює утворення комплексу НПП-МЧ у ПЗ мишей під час індукції ГП. Націлювання на IP6K1 тромбоцитів може бути корисним для зменшення НПП-залежного запалення та пошкодження тканин ПЗ у пацієнтів з ГП [58].

Знаючи, що тромбоцити сприяють активації та залученню нейтрофілів [67], було виявлено, що їх виснаження помітно зменшило відкладення ДНК, локалізованої спільно з нейтрофільним гранулярним білком еластазою і гістоном 4. Це свідчить про те, що тромбоцити регулюють утворення НПП у запаленій ПЗ [58]. Примітно, що їх функціональне послаблення значно зменшувало ДНК-гістонові комплекси в плазмі та вміст гістонів у ПЗ тварин, яким вводили таурохолат, що додатково підтверджує думку про те, що тромбоцити регулюють утворення НПП при ГП [58]. Знаючи, що НПП-похідні гістони можуть безпосередньо викликати пошкодження епітеліальних клітин [68] і активацію трипсиногену в ацинарних клітинах [13], результати деяких досліджень показують, що зниження вмісту гістону 3 і гістону 4 в ПЗ може пояснити частину сприятливого ефекту виснаження тромбоцитів при ГП у тварин [58]. Було також

повідомлено, що TLR4 регулює тромбоцитарний нетоз при ендотоксемії [69]. З огляду на те, що TLR4 відіграє важливу роль у залученні нейтрофілів та пошкодженні тканин при ГП [70], у майбутніх дослідженнях потрібно розглянути його участь у формуванні НПП у запаленій ПЗ.

Відсоток тромбоцит-нейтрофільних комплексів збільшується в 7 разів у мишей з панкреатитом [58]. Крім того, було помічено, що інгібування Р-селектину не тільки припиняє утворення ТНА, але й значно зменшує утворення НПП у запаленій ПЗ, а стимуляція тромбіном сумішей тромбоцитів і нейтрофілів призводить до їх чіткого формування [58]. Ці дані вказують на те, що фізичний контакт між тромбоцитами та нейтрофілами важливий для опосередкованого тромбоцитами нетозу [58]. Цікаво зазначити, що у нещодавньому дослідженні продемонстровано ключову роль IP6K1 в опосередкованій тромбоцитами активації нейтрофілів і рекрутменті в легенях при системному запаленні через утворення агрегатів нейтрофілів і тромбоцитів [66]. Було також виявлено, що індукований таурохолатом комплекс НПП-МЧ, утворення гістону 3 і гістону 4 у ПЗ, а також генерація ДНК-гістонових комплексів у плазмі були помітно знижені у мишей без IP6K1. Це вперше показало, що IP6K1 є ключовим регулятором утворення НПП [58].

Пацієнти з ГП мали підвищений вміст тромбоцитарних мікрочастинок (ТМЧ) у плазмі порівняно з контролем; крім того, значно вищий вміст ТМЧ визначався при тяжкому ГП, ніж при легкому та середньої тяжкості. Нейтрофіли здорових осіб стимулювали ТМЧ від пацієнтів з ГП для вивільнення НПП. Помічено, що НПП утворилися при ГП, але не в контрольній групі. Відповідно, активність МПО, HE та вміст гістону H3 у групі ГП були вищими, ніж у здорових людей [71].

Численні дослідження продемонстрували, що взаємодія тромбоцитів та нейтрофілів керує запальною відповіддю при захворю-

ваннях, спричинених таким запаленням, як сепсис. Їх взаємодія регулюється поверхневими молекулами і рецепторами. TLR4 тромбоцитів індукує утворення НПП, зв'язуючись із фіксованими нейтрофілами в синусоїдах [72]. Клінічні дані вказують на те, що активація тромбоцитів відіграє важливу роль у патогенезі ГП та розвитку ускладнень при тяжкій формі [73]. Однак вісь тромбоцити–НПП–запалення при ГП досі невідома. Останні результати продемонстрували, що ТМЧ є важливим індикатором активації тромбоцитів [74]. Вони виділяються з тромбоцитів, містять антиген батьківської клітини та велику кількість DAMP-молекул, таких як HMGB-1, Р-селектин та GРІЬ (CD41). Було показано, що вміст ТМЧ значно підвищуються у пацієнтів з гострим інфарктом міокарда, ревматоїдним артритом та хронічною хворобою нирок [75–77]. Вони легко проникають у струму органа і важко елімінуються; таким чином стають сприйнятливішими до запалення ПЗ. ТМЧ допомагають адгезії та трансміграції запальних клітин, дозріванню моноцитів і виробленню протеолітичних ферментів і АФК у багатьох моделях запалення [75].

Wetterholm зі співавт. [78] виявили, що CXCL4 (chemokine (C-X-C motif) ligand 4) може брати участь у залежному від тромбоцитів накопиченні нейтрофілів при ГП, а виснаження тромбоцитів знижує вміст CXCL4, рекрутмент нейтрофілів, секрецію ІЛ-6 та пошкодження тканин ПЗ.

ТМЧ використовуються як важливий маркер активації тромбоцитів [79]. Відомо, що вони та активовані тромбоцити мають подібні функції, які сприяють залученню запальних клітин до органів-мішеней [80]. Вміст ТМЧ у пацієнтів з ГП був підвищений, виявлено позитивну кореляцію між ТМЧ з оцінками APACHE II, BISAP та Ranson у пацієнтів з ГП. Отже, кількість ТМЧ можна використовувати як індикатор для оцінки тяжкості ГП [71]. Це дослідження демонструє, що вміст ТМЧ підвищується при ГП і відіграє важливу роль у ГП через

сприяння утворенню НПП [71]. Зменшення здатності ТМЧ стимулювати утворення НПП може сприяти пригніченню запалення та пошкодження ПЗ [71].

Нейтрофіли та тромбоцити в тканині ПЗ показали подібну схему міграції. Спочатку вони поширюються між часточками, а потім всередину них. Активність МПО поступово збільшувалася у запаленій ПЗ до 24 год, а також з часом підвищувалася концентрація тромбоксану В2 (ТХВ2), інгібітора активатора плазміногену 1 та CD41. Концентрація цитрулінованого гістону Н3 та HMGB1 збільшувалася з часом [60]. Крім того, у ПЗ підвищилася експресія маркерів тромбоцитів, таких як PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) і CD41. Це узгоджується з тканинним нетозом, що виникає на ранній стадії панкреатиту. Вважається, що вітальний нетоз, що включає утворення комплексу тромбоцити–нейтрофіли, є ключовим компонентом цього місцевого запалення. Крім того, активовані тромбоцити індукують секрецію ТХВ2, який є потужним судинозвужувальним засобом, що викликає ішемію ПЗ та посилює ГП [60].

ВИСНОВОК

За останні роки традиційне уявлення про нейтрофіли як про прості елімінатори патогенів різко змінилося після того, як виявилось, що вони беруть участь у багатьох інших фізіологічних і патологічних процесах. Найцікавіше, що багато з цих нещодавно відкритих функцій нейтрофілів, пов'язані з їх здатністю утворювати НПП. Однак вивільнення НПП – це палка з двома кінцями. З одного боку, «погані» НПП беруть участь у закупорці судин і протоків, а також утворенні тромбів і гострому запаленні; з іншого боку, «хороші» НПП здатні сприяти вирішенню запалення. Також стало очевидним, що потрібен певний зсув у балансі, щоб нейтрофіли діяли про- або протизапально. Як цей баланс підтримується на фізіологічному рівні, і те, що йому заважає при ГП, є пред-

метом подальших досліджень. Це особливо важливо, оскільки механізми, які порушують баланс і призводять до утворення «поганих» НПП, є потенційними терапевтичними цілями при ГП.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

S. Chooklin¹, S. Chuklin², R. Barylyak¹

NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS IN ACUTE PANCREATITIS

¹Lviv Regional Clinical Hospital;

²St. Paraskeva Medical Center, Lviv;

e-mail: chooklin_serge@hotmail.com

The review focuses on the role of neutrophilic extracellular traps (NETs) in the pathogenesis of acute pancreatitis. It is shown that NETs can activate trypsin, cause inflammation and pancreatic tissue damage, and clog the excretory ducts. NETs are involved in the formation of gallstones, which are one of the leading etiological factors of acute pancreatitis. NETs also surround necrotic tissue in patients with severe acute pancreatitis and contribute to further systemic inflammatory response syndrome. The mechanisms of NETs formation in acute pancreatitis, in particular, the importance of damage-associated molecular patterns, neutrophil microparticles, and platelets in these processes are considered.

Key words: acute pancreatitis; neutrophils; neutrophil extracellular traps; platelets.

REFERENCES

- Xiao AY, Tan ML, Wu LM, Asrani VM, Windsor JA, Yadav D, Petrov MS. Global incidence and mortality of pancreatic diseases: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression of population-based cohort studies. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2016;1:45-55.
- Crockett SD, Wani S, Gardner TB, Falck-Ytter Y, Barkun AN. American Gastroenterological Association Institute Guideline on Initial Management of Acute Pancreatitis. *Gastroenterology*. 2018;154:1096-1010.
- van Dijk SM, Hallensleben NDL, van Santvoort HC, Fockens P, van Goor H, Bruno MJ, Besselink MG. Dutch pancreatitis study group. Acute pancreatitis: recent advances through randomized trials. *Gut*. 2017;66:2024-32.
- Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsiotos GG, Vege SS, Acute Pancreatitis Classification Working Group. Classification of acute pancreatitis-2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut*. 2013;62:102-11.
- Lee PJ, Papachristou GI. New insights into acute pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019;16:479-96.
- Lankisch PG, Apte M, Banks PA. Acute pancreatitis. *Lancet*. 2015;386:85-96.
- Gliem N, Ammer-Herrmenau C, Ellenrieder V, Nesses A. management of severe acute pancreatitis: an update. *Digestion*. 2021;102:503-7.
- Yang ZW, Meng XX, Xu P. Central role of neutrophil in the pathogenesis of severe acute pancreatitis. *J Cell Mol Med*. 2015;19:2513-20.
- Murthy P, Singhi AD, Ross MA, Loughran P, Paragomi P, Papachristou GI, et al. Enhanced neutrophil extracellular trap formation in acute pancreatitis contributes to disease severity and is reduced by chloroquine. *Front Immunol*. 2019 Jan 24;10:28.
- Regner S, Manjer J, Appelros S, Hjalmarsson C, Sadic J, Borgström A. Protease activation, pancreatic leakage, and inflammation in acute pancreatitis: differences between mild and severe cases and changes over the first three days. *Pancreatol*. 2008;8:600-7.
- Wan J, Ren Y, Yang X, Li X, Xia L, Lu N. The role of neutrophils and neutrophil extracellular traps in acute pancreatitis. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Jan 21;8:565758.
- Gukovsky I, Li N, Todoric J, Gukovskaya A, Karin M. Inflammation, autophagy, and obesity: common features in the pathogenesis of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology*. 2013;144:1199-209.
- Merza M, Hartman H, Rahman M, Hwaiz R, Zhang E, Renström E, et al. Neutrophil extracellular traps induce trypsin activation, inflammation, and tissue damage in mice with severe acute pancreatitis. *Gastroenterology*. 2015;149:1920-31.
- Korhonen JT, Dudeja V, Dawra R, Kubes P, Saluja A. Neutrophil extracellular traps provide a grip on the enigmatic pathogenesis of acute pancreatitis. *Gastroenterology*. 2015;149:1682-5.
- Leppkes M, Maueroeder C, Hirth S, Nowecki S, Günther C, Billmeier U, et al. Externalized decondensed neutrophil chromatin occludes pancreatic ducts and drives pancreatitis. *Nat Commun*. 2016 Mar 11;7:10973.
- Szatmary P, Liu T, Wen L, Huang W, Awais M, Wang G, Toh CH, Sutton R. The role of neutrophil extracellular traps in acute pancreatitis. *Pancreas*. 2014;43:1413.
- Gupta AK, Joshi MB, Philippova M, Erne P, Hasler P, Hahn S, Resink TJ. Activated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps and are susceptible to NETosis-mediated cell death. *FEBS Lett*. 2010;584:3193-7.
- Awla D, Abdulla A, Syk I, Jeppsson B, Regner S, Thorlacius H. Neutrophil-derived matrix metalloproteinase-9 is a potent activator of trypsinogen in acinar cells in acute pancreatitis. *J Leukoc Biol*. 2012;91:711-9.
- Madhi R, Rahman M, Mörgelin M, Thorlacius H. c-Abl kinase regulates neutrophil extracellular trap formation,

- inflammation, and tissue damage in severe acute pancreatitis. *J Leukoc Biol.* 2019;106: 455-66.
20. Madhi R, Rahman M, Taha D, Mörgelin M, Thorlacius H. Targeting peptidylarginine deiminase reduces neutrophil extracellular trap formation and tissue injury in severe acute pancreatitis. *J Cell Physiol.* 2019; 234:11850-60.
 21. Woodring PJ, Litwack ED, O'Leary DD, Lucero GR, Wang JY, Hunter T. Modulation of the F-actin cytoskeleton by c-Abl tyrosine kinase in cell spreading and neurite extension. *J Cell Biol.* 2002;156:879-92.
 22. Woodring PJ, Hunter T, Wang JY. Regulation of F-actin-dependent processes by the Abl family of tyrosine kinases. *J Cell Sci.* 2003;116:2613-26.
 23. Dawra R, Sharif R, Phillips P, Dudeja V, Dhaulakhandi D, Saluja AK. Development of a new mouse model of acute pancreatitis induced by administration of L-arginine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007;292:G1009-18.
 24. Niederau C, Luthen R, Niederau MC, Grendell JH, Ferrell LD. Acute experimental hemorrhagic-necrotizing pancreatitis induced by feeding a choline-deficient, ethionine-supplemented diet. *Methodology and standards. Eur Surg Res.* 1992;24 (Suppl. 1):40-54.
 25. Maueroeder C, Mahajan A, Paulus S, Gosswein S, Hahn J, Kienhofer D, et al. Menage-a-Trois: the ratio of bicarbonate to CO₂ and the pH regulate the capacity of neutrophils to form NETs. *Front Immunol.* 2016;7:583.
 26. Wang Y, Li M, Stadler S, Correll S, Li P, Wang D, et al. Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *J Cell Biol.* 2009;184:205-13.
 27. Daniel C, Leppkes M, Muñoz LE, Schley G, Schett G, Herrmann M. Extracellular DNA traps in inflammation, injury and healing. *Nat Rev Nephrol.* 2019;15:559-75.
 28. Shaffer EA. Gallstone disease: Epidemiology of gallbladder stone disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2006;20:981-96.
 29. Muñoz LE, Boeltz S, Bilyy R, Schauer C, Mahajan A, Widulin N, et al. Neutrophil extracellular traps initiate gallstone formation. *Immunity.* 2019;51:443-50.
 30. Cho SK, Jung S, Lee KJ, Kim JW. Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio can predict the severity of gallstone pancreatitis. *BMC Gastroenterol.* 2018;18:18.
 31. O'Neil LJ, Kaplan MJ. NETched in stone. *Immunity.* 2019;51:413-4.
 32. Bilyy R, Fedorov V, Vovk V, Leppkes M, Dumych T, Chopyak V, Schett G, Herrmann M. Neutrophil extracellular traps form a barrier between necrotic and viable areas in acute abdominal inflammation. *Front Immunol.* 2016;7:424.
 33. Schauer C, Janko C, Munoz LE, Zhao Y, Kienhofer D, Frey B, et al. Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines. *Nat Med.* 2014;20:511-7.
 34. Longstaff C, Varju I, Sotonyi P, Szabo L, Krumrey M, Hoell A, et al. Mechanical stability and fibrinolytic resistance of clots containing fibrin, DNA, and histones. *J Biol Chem.* 2013;288:6946-56.
 35. Mercer PF, Chambers RC. Coagulation and coagulation signalling in fibrosis. *Biochim Biophys Acta.* 2013; 1832:1018-27.
 36. Linders J, Madhi R, Rahman M, Mörgelin M, Regner S, Brenner M, Wang P, Thorlacius H. Extracellular cold-inducible RNA-binding protein regulates neutrophil extracellular trap formation and tissue damage in acute pancreatitis. *Lab Invest.* 2020;100:1618-30.
 37. De Leeuw F, Zhang T, Wauquier C, Huez G, Kruijs V, Gueydan C. The cold-inducible RNA-binding protein migrates from the nucleus to cytoplasmic stress granules by a methylation-dependent mechanism and acts as a translational repressor. *Exp Cell Res.* 2007;313:4130-44.
 38. Qiang X, Yang WL, Wu R, Zhou M, Jacob A, Dong W, et al. Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) triggers inflammatory responses in hemorrhagic shock and sepsis. *Nat Med.* 2013;19:1489-95.
 39. Zhou Y, Dong H, Zhong Y, Huang J, Lv J, Li J. The cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) level in peripheral blood predicts sepsis outcome. *PLoS One.* 2015;10:e0137721.
 40. Yoo IS, Lee SY, Park CK, Lee JC, Kim Y, Yoo SJ, et al. Serum and synovial fluid concentrations of cold-inducible RNA-binding protein in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis.* 2018;21:148-54.
 41. Zhang F, Brenner M, Yang WL, Wang P. A cold-inducible RNA-binding protein (CIRP)-derived peptide attenuates inflammation and organ injury in septic mice. *Sci Rep.* 2018;8:3052.
 42. Ode Y, Aziz M, Jin H, Arif A, Nicastro JG, Wang P. Cold-inducible RNA-binding protein induces neutrophil extracellular traps in the lungs during sepsis. *Sci Rep.* 2019;9:6252.
 43. Gong JD, Qi XF, Zhang Y, Li HL. Increased admission serum cold-inducible RNA-binding protein concentration is associated with prognosis of severe acute pancreatitis. *Clin Chim Acta.* 2017;471:135-42.
 44. Mareninova OA, Sandler M, Malla SR, Yakubov I, French SW, Tokhtaeva E, et al. Lysosome associated membrane proteins maintain pancreatic acinar cell homeostasis: LAMP-2 deficient mice develop pancreatitis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2015;1:678-94.
 45. Fortunato F, Bürgers H, Bergmann F, Rieger P, Büchler MW, Kroemer G, Werner J. Impaired autolysosome formation correlates with Lamp-2 depletion: role of apoptosis, autophagy, and necrosis in pancreatitis. *Gastroenterology.* 2009;137:350-60.
 46. Tang S, Zhang Y, Yin SW, Gao XJ, Shi WW, Wang Y, et al. Neutrophil extracellular trap formation is associated with autophagy-related signalling in ANCA-associated vasculitis. *Clin Exp Immunol.* 2015;180:408-18.
 47. Wu X, Yang Z, Wang H, Zhao Y, Gao X, Zang B. High-mobility group box protein-1 induces acute pancreatitis through activation of neutrophil extracellular trap and subsequent production of IL-1 β . *Life Sci.* 2021; 286:119231.

48. Yang, R., J. Tenhunen, Tonnessen TI. HMGB1 and histones play a significant role in inducing systemic inflammation and multiple organ dysfunctions in severe acute pancreatitis. *Int J Inflam*. 2017;2017:1817564.
49. Kang R, Zhang Q, Hou W, Yan Z, Chen R, Bonaroti J, et al. Intracellular Hmgb1 inhibits inflammatory nucleosome release and limits acute pancreatitis in mice. *Gastroenterology*. 2014;146:1097-107.
50. Zhang ZW, Zhang QY, Zhou MT, Liu NX, Chen TK, Zhu YF, Wu L. Antioxidant inhibits HMGB1 expression and reduces pancreas injury in rats with severe acute pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2010;55:2529-36.
51. Irie Y, Tsubota M, Ishikura H, Sekiguchi F, Terada Y, Tsujiuchi T, Liu K, Nishibori M, Kawabata A. Macrophage-derived HMGB1 as a pain mediator in the early stage of acute pancreatitis in mice: Targeting RAGE and CXCL12/CXCR4 axis. *J Neuroimmun Pharmacol*. 2017;12:693-707.
52. Amini P, Stojkov D, Felser A, Jackson CB, Courage C, Schaller A, et al. Neutrophil extracellular trap formation requires OPA1-dependent glycolytic ATP production. *Nat Commun*. 2018;9:2958.
53. Rabolli V, Lison D, Huaux F. The complex cascade of cellular events governing inflammasome activation and IL-1beta processing in response to inhaled particles. *Part Fibre Toxicol*. 2016;13:40.
54. Petrilli V, Dostert C, Muruve DA, Tschopp J. The inflammasome: a danger sensing complex triggering innate immunity. *Current Opin Immunol*. 2007;19:615-22.
55. Plazyo O, Romero R, Unkel R, Balancio A, Mial TN, Xu Y, Dong Z, Hassan SS, Gomez-Lopez N. HMGB1 induces an inflammatory response in the chorioamniotic membranes that is partially mediated by the inflammasome. *Biol Reprod*. 2016;95:130.
56. Kim EJ, Park SY, Baek SE, Jang MA, Lee WS, Bae SS, Kim K, Kim CD. HMGB1 Increases IL-1beta production in vascular smooth muscle cells via NLRP3 inflammasome. *Front Physiol*. 2018;9:313.
57. Hess C, Sadallah S, Hefti A, Landmann R, Schifferli JA. Ectosomes released by human neutrophils are specialized functional units. *J Immunol*. 1999;163:4564-73.
58. Madhi R, Rahman M, Taha D, Linders J, Merza M, Wang Y, Mörgelin M, Thorlacius H. Platelet IP6K1 regulates neutrophil extracellular trap-microparticle complex formation in acute pancreatitis. *JCI Insight*. 2021 6:e148169.
59. Wang Y, L Luo, OÖ Braun, Westman J, Madhi R, Herwald H, Mörgelin M, Thorlacius H. Neutrophil extracellular trap-microparticle complexes enhance thrombin generation via the intrinsic pathway of coagulation in mice. *Sci Rep*. 2018;8:4020.
60. Tokoro T, Makino I, Harada S, Okamoto K, Nakanuma S, Sakai S, et al. Interactions between neutrophils and platelets in the progression of acute pancreatitis. *Pancreas*. 2020;49:830-6.
61. Phillipson M, Kubes P. The neutrophil in vascular inflammation. *Nature Med*. 2011;17:1381-90.
62. Sunamura M, Yamauchi J, Shibuya K, Chen HM, Ding L, Takeda K, Kobari M, Matsuno S. Pancreatic microcirculation in acute pancreatitis. *J Hepatobiliar Pancreat Surg*. 1998;5:62-8.
63. Hoque R, Sohail M, Malik A, Sarwar S, Luo Y, Shah A, Barrat F, Flavell R, Gorelick F, Husain S, Meha W. TLR9 and the NLRP3 inflammasome link acinar cell death with inflammation in acute pancreatitis. *Gastroenterology*. 2011;141:358-69.
64. Kumble KD, Kornberg A. Inorganic polyphosphate in mammalian cells and tissues. *J Biol Chem*. 1995;270: 5818-22.
65. Ghosh S, Shukla D, Suman K, Lakshmi BJ, Manorama R, Kumar S, Bhandari R. Inositol hexakisphosphate kinase 1 maintains hemostasis in mice by regulating platelet polyphosphate levels. *Blood*. 2013;122:1478-86.
66. Hou Q, Liu F, Chakraborty A, Jia Y, Prasad A, Yu H, Zhao L, Ye K, Snyder SH, Xu Y, Luo HR. Inhibition of IP6K1 suppresses neutrophil-mediated pulmonary damage in bacterial pneumonia. *Sci Transl Med*. 2018 Apr 4;10(435):eaal4045.
67. Kim SJ, Jenne CN. Role of platelets in neutrophil extracellular trap (NET) production and tissue injury. *Semin Immunol*. 2016;28:546-54.
68. Saffarzadeh M, Juenemann C, Queisser MA, Lochnit G, Barreto G, Galuska SP, Lohmeyer J, Preissner KT. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones. *PLoS One*. 2012;7:e32366.
69. Clark SR, Ma AC, Tavener SA, McDonald B, Goodarzi Z, Kelly MM, et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med*. 2007;13:463-9.
70. Awla D, Abdulla A, Regner S, Thorlacius H. TLR4 but not TLR2 regulates inflammation and tissue damage in acute pancreatitis induced by retrograde infusion of taurocholate. *Inflamm Res*. 2011;60:1093-8.
71. Qi Q, Yang B, Li H, Bao J, Li H, Wang B, Mei Q. Platelet microparticles regulate neutrophil extracellular traps in acute pancreatitis. *Pancreas*. 2020;49:1099-103.
72. Abdulla A, Awla D, Hartman H, Rahman M, Jeppsson B, Regner S, Thorlacius H. Role of platelets in experimental acute pancreatitis. *Br J Surg*. 2011;98:93-103.
73. Pieterse E, Rother N, Yanginlar C, Hilbrands LB, van der Vlag J. Neutrophils discriminate between lipopolysaccharides of different bacterial sources and selectively release neutrophil extracellular traps. *Front Immunol*. 2016;7:484.
74. Jiang L, Ding W, Zhang M. The progressive increase of the platelet count in a patient with acute severe pancreatitis. *Am J Emerg Med*. 2017;35:191. e1-191.e2.
75. Morel O, Toti F, Jesel L, Freyssinet JM. Mechanisms of microparticle generation: on the trail of the mitochondrion. *Semin Thromb Hemost*. 2010;36:833-44.
76. Nomura S, Ozaki Y, Ikeda Y. Function and role of microparticles in various clinical settings. *Thromb Res*. 2008;123:8-23.

77. Martínez MC, Tesse A, Zobairi F. Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;288:H1004-09.
78. Wetterholm E, Linders J, MerzaM, Regner S, Thorlacius H. Platelet-derived CXCL4 regulates neutrophil infiltration and tissue damage in severe acute pancreatitis. *Transl Res.* 2016;176:105-18.
79. Puddu P, Puddu GM, Cravero E, Muscari S, Muscari A. The involvement of circulating microparticles in inflammation, coagulation and cardiovascular diseases. *Can J Cardiol.* 2010;26:140-5.
80. Prokopi M, Mayr M. Proteomics: a reality-check for putative stem cells. *Circ Res.* 2011;108:499-511.

*Матеріал надійшов
до редакції 30.05.2022*