

Імунотромбоз як компонент захисту організму

С. М. Чуклін, С. С. Чуклін

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

Імунотромбоз належить до нормального фізіологічного явища організму проти шкідливих патогенів, який може обмежити подальше їх поширення. Він є важливим елементом внутрішньосудинної вродженої імунної системи та виконує принаймні чотири різні фізіологічні функції: допомагає захоплювати та локалізувати патогени; запобігає їх інвазії у тканини через мікротромбоз; сприяє знищенню патогенів; допомагає залученню додаткових імунних клітин до місця інфекції тканини та/або пошкодження. Основними рушійними силами імунотромбозу є тромбоцити, нейтрофіли і система комплементу. У цьому огляді розглядається роль імунотромбозу у захисті організму і його основні механізми.

Ключові слова: імунотромбоз; нейтрофіли; тромбоцити; комплемент.

ВСТУП

Вторгнення патогенів у кров становить смертельну загрозу для організму, який намагається стримати інфекцію всіма доступними засобами. Еволюція позитивно вибрала чотири основні програми реагування на небезпеку: запалення, згортання крові, загоєння епітелію та загоєння мезенхіми, оскільки вони забезпечують виживання після травматичного ушкодження [1]. Згортання створює внутрішній бар'єр для втрати крові, що може запобігти смертельній кровотечі, а разом із запаленням – перепону для проникнення патогенів, яка попереджає летальний сепсис [2]. Система захисту організму включає не тільки виражену імунну відповідь, але і активацію тромботичних механізмів, що призводить до оклюзії судин. У цьому огляді розглядаються сучасні уявлення про взаємодію імунітету і гемостазу в захисних процесах.

Внутрішньосудинний імунітет

Важливу роль у виведенні бактерій та інших патогенів з крові є внутрішньосудинний імунітет, який складається з гуморального та клітинного компонентів.

© Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 2023

© Видавець ВД "Академперіодика" НАН України, 2023

Гуморальна частина вродженої імунної системи формується з різних класів молекул, таких як пентраксини, колекціни та фіколіни, які функціонально діють як попередники антитіл, ініціюючи активацію комплементу, опсонізуючи мікроби та пошкоджені клітини, аглютинуючи або нейтралізуючи мікроби і регулюючи запалення [3]. Опсонізація сприяє поглинанню патогена фагоцитуючими імунними клітинами. Крім того, зв'язування антитіл зі збудником також може активувати систему комплементу, що призводить до лізису мікроорганізмів через введення пор у їхні клітинні стінки за допомогою мембраноатакуючого комплексу [4, 5].

Система комплементу є основним компонентом імунної системи, який призводить до генерації C3a і C5a, також відомих як анафілатоксини, і сприяє опсонізації патогенів, а також хемопривагненню імунних клітин для видалення апоптотичних і некротичних клітин організму. Вироблення C3a і C5a має прозапальну дію, що може посилити залучення тромбоцитів, нейтрофілів і моноцитів до місця пошкодження або запалення [6]. Система комплементу відіграє ключову

роль в імунитеті, полегшуючи елімінацію патогенів опсонізацією, сприянням хемотаксису імунних клітин або безпосереднім пошкодженням поверхонь збудників [7]. Для цього вона активується за допомогою одного з трьох шляхів: класичного, альтернативного, лектинового [8].

Клітинна внутрішньосудинна імунна відповідь діє через різні імунні клітини, включаючи нейтрофіли, різні типи моноцитів, природні клітини-кілери, клітини Kupffer та навіть ендотеліальні клітини, які відіграють важливу роль у кліренсі циркулюючих бактерій і запобіганні їх розповсюдженню на різні органи через кровотік. Молекулярні стратегії, що використовуються клітинною ланкою для визначення мікробних фрагментів і пошкодження тканин, охоплюють асоційовані з клітиною молекули розпізнавання образів, розташовані в різних клітинних компартментах (плазматичній мембрані, ендосомах і цитоплазмі) і належать до різних молекулярних родин, включаючи Toll-подібні рецептори (TLR – toll-like receptors), NOD-рецептори (NOD – nucleotide binding oligomerisation domain), RIG-I-рецептори (RIG-I – retinoic acid-inducible gene I), інфламасоми, стимулятор генів інтерферону (STING), лектини C-типу та рецептори-скавенджери [9]. Активація цих рецепторів призводить до експресії цитокінів (включаючи інтерферони та хемокіни), молекул адгезії та антимікробних ефекторів або до поглинання мікробів через фагоцитоз [3, 10, 11].

Нейтрофіли – це вроджені фагоцитарні клітини, які є одними з перших клітин, які потрапляють до місць колонізації патогенів або пошкодження стінки судини [12, 13]. Виявлення мікробів, що вторглися, відбувається за допомогою патогенно-асоційованих молекулярних структур (PAMP – pathogen associated molecular patterns) через TLR. Нейтрофіли експресують більшість членів родини TLR, позбавлені лише внутрішньоклітинних рецепторів, таких як TLR3 і TLR7. Оскільки основною роллю

нейтрофілів є захист від бактерій, саме TLR, розташовані на поверхні клітини – найкраще вивчені [14]. Однак внутрішньоклітинні TLR можуть і відігравати важливу роль у відповіді на патоген. Вони мають здатність виявляти ендогенні молекули, які називаються молекулярними структурами, пов'язаними з пошкодженням (DAMP – danger associated molecular patterns), які утворюються клітинами у відповідь на нього або інфекцію [15]. Нейтрофіли забезпечують імунний захист під час інфекції через секрецію антимікробних білків, таких як дефензини, еластаза та мієлопероксидаза; випуск позаклітинних пасток; генерацію активних форм кисню (АФК); і фагоцитоз патогенів за допомогою киснезалежних і незалежних механізмів [16, 17]. Наслідком розпізнавання збудника та виконання багатьох ефекторних функцій нейтрофілами є розвиток запального процесу за рахунок секреції цими клітинами прозапальних цитокінів. Важливим цитокіном, що секретується нейтрофілами, який сприяє розвитку запального процесу за допомогою рекрутування та активації запальних клітин, є інтерлейкін 1 β (ІЛ-1 β). Показано, що для його секреції необхідна активація інфламасом – мультимерних комплексів, стимуляція яких запускається патогенними чи непатогенними сигналами [18].

Однак, коли вторгнення патогена перевищує фагоцитарну здатність місцевих нейтрофілів, занадто багато збудників спричинять загибель нейтрофілів (NETosis – нетоз), форму смерті, відмінну від некрозу та апоптозу [19], під час якої підвищується активність еластази нейтрофілів (НЕ), мієлопероксидази (МПО) і нікотинаміаденіндинуклеотидфосфатоксидази (НАДФК). Зрештою це призводить до деградації гістона, деконденсації ДНК, розриву ядер, лізису мембрани та вивільнення внутрішньоклітинних ниток хроматину з утворенням нейтрофільних позаклітинних пасток (НПП) [20, 21]. Останні можуть локалізувати патогени на місці, запобігати їх системному

поширенню і допомагати фагоцитам у знищенні збудників, що вважається ще одним механізмом дії нейтрофілів на вроджений імунітет [17, 22]. НПП складаються з ДНК, гістонів і серинових протеаз і мають сильні мікробіцидні властивості. Два процеси ініціюють утворення НПП, відомих як нетоз: шлях клітинної смерті та нелітичний нетоз. Шлях загибелі клітин включає розкладання ядра, конденсацію хроматину та розрив плазматичної мембрани. Під час нелітичного нетозу гранулярні білки та ядерний хроматин секретуються та накопичуються позаклітинно [23]. Крім того, залишковий без'ядерний цитопласт нейтрофілів усе ще продовжує поглинати мікроорганізми. Вивільнення цих структур призначене для іммобілізації патогенів, включаючи грампозитивні та грамнегативні бактерії, гриби, найпростіші та віруси. Крім того, НПП є фізичним бар'єром, який сприяє деградації бактеріальних і вірусних факторів вірулентності та захищає організм від поширення патогенних мікроорганізмів [24].

Моноцити відіграють роль у клітинному захисті від патогенів, гомеостазі та відновленні тканин. Моноцити людини поділяються на 3 різні підтипи: класичні (C) (CD14⁺⁺, CD16⁻), проміжні (CD14⁺, CD16⁺) і некласичні (NC) (CD14⁺, CD16⁺⁺) [25, 26]. C-моноцити становлять приблизно 80–95% циркулюючих моноцитів. Вони мають високу фагоцитарну здатність і експресують широкий спектр рецепторів-скавенджерів. Проміжні моноцити становлять близько 2–8% циркулюючих моноцитів. Їх функції включають продукцію АФК, презентацію антигена, підтримку проліферації та стимуляцію Т-клітин, запальні реакції та ангіогенез. Моноцити NC становлять приблизно 2–11% циркулюючих моноцитів. Вони рухливі за своєю природою та “повзають” по ендотелію в пошуках ушкоджень у ендотеліальному шарі кровоносних судин [27], а також виділяють прозапальні цитокіни у відповідь на інфекцію.

Клітини Kupffer на відміну від інших типів тканинних макрофагів можуть поглинати циркулюючі бактерії або інші патогени безпосередньо з кровотоку. Патогени поглинаються макрофагами в пов'язані з мембраною вакуолі (фагосоми), які дозрівають і перетворюються на мікробіцидну органеллу, яка називається фаголізосою [28]. Клітини Kupffer є резидентними макрофагами, які сканують чужорідний матеріал, що переноситься зі шлунково-кишкового тракту через ворітну вену в судинну систему печінки. Специфічність фагоцитозу, індукованого цими клітинами, також залежить від опсонізації патогенів антитілами та білками комплементу [29].

За останні роки велика увага приділяється ролі тромбоцитів у захисті від патогенів. За нормальних фізіологічних умов в крові вони існують незалежно від нейтрофілів, і коли патоген проникає в організм, він спочатку викликає локальне запалення. Утворення запалення призведе до відкладення фібриногену в плазмі, і деякі циркулюючі тромбоцити активуються відкладеним фібриногеном і утворюють псевдоподи, які постійно сканують і швидко виявляють місця бактеріальної інфекції в ендотелії судин, згодом залучаючи більше тромбоцитів для активації та швидко рекрутують і мігрують через рецептори інтегрину для накопичення на поверхні ендотеліальних клітин у цьому місці, захоплюючи патоген і запобігаючи його подальшому поширенню [30].

Тромбоцити та бактерії можуть взаємодіяти трьома різними способами: бактерії можуть зв'язуватися безпосередньо з рецептором тромбоцитів, з білком плазми, який буде взаємодіяти з рецептором тромбоцитів, або виділяють токсини, котрі зв'язуються з тромбоцитами [31]. Після активації тромбоцити виділяють велику кількість антимікробних та імуномодельючих молекул, які можуть безпосередньо вбивати патогени та/або посилювати диференціацію та активацію імунних клітин. Зменшення числа тромбоцитів пов'язане з гіршим результатом,

що свідчить про їх захисну роль при сепсисі [32]. У мишачих моделях бактеріального перитоніту рання трансфузія тромбоцитів є захисною через регуляцію активації макрофагів [33]. Було також показано, що переливання тромбоцитів збільшує залучення запальних макрофагів до інфікованої очередини та покращує бактеріальний кліренс через взаємодію GPIb-CD11b [33].

Тромбоцити можуть зв'язуватися із фагоцитозними опсонізованими мікроорганізмами та імуноглобуліном G (IgG) імуних комплексів. IgG-опсонізовані мікроорганізми приєднуються до тромбоцитарних FcγRІІА, що викликає активацію тромбоцитів. Останні також можуть фагоцитувати мікроорганізми та вивільняти антимікробні білки, що допомагають контролювати інфекцію [34]. Дослідження показали, що тромбоцити вивільняють біоактивні антимікробні пептиди та кіноцидини та виявляють антимікробні захисні властивості, маючи однозначні структурні та функціональні характеристики імуних клітин [35]. Таким чином, тромбоцити відіграють центральну роль як частина внутрішньосудинної вродженої імуної системи та координують адаптивний антимікробний захист організму, поєднуючи протиінфекційний вроджений і адаптивний імунітет. Активовані тромбоцити можуть безпосередньо підтримувати вроджену імунову відповідь на патогени за допомогою секреції антимікробних пептидів [36]. Наприклад, продукт *Staphylococcus aureus* α-токсин, який проникає в клітинні мішені, стимулює тромбоцити вивільняти β-дефензини – антимікробні пептиди, які пригнічують активність мікробів і погіршують ріст бактерій. Тромбоцити можуть мігрувати в судинній системі – процес, відмінний від адгезії, агрегації або скорочення тромбу – і функціонувати як механопоглиначі, які збирають бактерії на своїй поверхні та репрезентують їх нейтрофілам [30, 37]. Вони також здатні розпізнавати патогени через експресію

TLR, вивільняти різні цитокіни, хемокіни та фактори росту, що зберігаються в їх гранулах, і експресувати молекули клітинної адгезії на їх поверхні, що дає змогу взаємодіяти як з судинною системою, так і з імуними клітинами, головним чином нейтрофілами та моноцитами [38]. Тромбоцити людини експресують усі 10 TLR [39]. Взаємодія патогена з певним TLR сприяє активації цих клітин, вивільненню гранул і взаємодії з лейкоцитами, даючи можливість діяти як тромботичні та імуни клітини [40].

Імунотромбоз та його молекулярні механізми

Запалення та коагуляція є системами захисту першої лінії від інфекції [41]. Існують численні реципрокні зв'язки між запальними шляхами та протромботичними механізмами, які діють синергічно, щоб стримувати бактерії. Ця захисна система обмежує поширення бактерій за межі місця входу або підтримує їх усунення із кровообігу при системних інфекціях через секвестрацію в судинах печінки та легень [42].

Тромбоз із залученням тромбоцитів до місця пошкодження судини та імуна відповідь із залученням лейкоцитів у запалених тканинах традиційно вважалися двома різними шляхами. Це був «домінуючий науковий погляд», поки не було введено нове поняття «імунотромбоз» для опису вродженої імуної відповіді, спричиненої утворенням внутрішньосудинного тромбу, що призводить до розпізнавання, локалізації та знищення патогенів [43]. Engelmann і Massberg ввели термін «імунотромбоз», щоб пояснити складну взаємодію, за якої, з одного боку, активація каскаду коагуляції запускає імунову систему, яка співпрацює з ідентифікацією, стримуванням і знищенням патогенів [43], тоді як, з іншого боку, клітини вродженого імунітету сприяють розвитку тромбів [44]. Імунотромбоз включає локальну платформу, що складається з фібрину, моноцитів, нейтрофілів і тромбоцитів, які разом сприяють розпізнаванню збудника. Цей процес допомагає пригнічувати вторгнення

в тканини та розповсюдження патогенів і зменшити їх виживання. Локальний характер імунотромбозу та його виникнення лише в обмеженій кількості мікросудин, імовірно, гарантує, що серйозно не порушиться загальна перфузія органів [43]. Він виникає, щоб знерухомити та запобігти системному поширенню патогенів, реакція, яка „жертвує” тканинною циркуляцією з мікротромбозом та локалізованим ушкодженням [45]. Тому важлива точна та інтегрована регуляція для підтримки кровотоку та ефективності вродженого імунітету.

Процес імунотромбозу є основним елементом внутрішньосудинної вродженої імунної системи та виконує принаймні чотири різні фізіологічні функції [31, 43]. По-перше, він допомагає захоплювати та локалізувати патогени, що циркулюють у крові, і таким чином обмежує розповсюдження патогенів утриманням мікроорганізмів всередині фібринової сітки. По-друге, він запобігає їх інвазії у тканини через утворення мікротромбів у мікросудинах. По-третє, внутрішньосудинні тромби створюють окремий компартмент, який концентрує антимікробні чинники та їхні мішені для патогенів і, таким чином, сприяє знищенню патогенів. Це усунення включає антимікробні фактори, які постачаються клітинами вродженого імунітету, і антимікробні пептиди, які генеруються під час активації згортання крові та/або вивільняються активованими тромбоцитами у місцях іммобілізації патогена. По-четверте, мікросудинне накопичення та відкладення фібриногену або фібрину сприяє залученню додаткових імунних клітин до місця інфекції тканини та/або пошкодження, додатково підтримуючи розпізнавання патогенів і координуючи імунну відповідь. Дійсно, було показано, що утворення фібрину у відповідь на кілька асоційованих із кров'ю патогенів, включаючи *E. coli* [46] і *Yersinia enterocolitica* [47], відіграє роль у захисті господаря.

Захисна функція взаємодії тромбоцитів і нейтрофілів була показана на мишачих

моделях гострого респіраторного дистрес-синдрому та постішемичного реперфузійного ушкодження в брижовій артерії через вивільнення медіаторів розрешення, таких як марезин-1 (maresin-1) і ліпоксин A4 відповідно [48, 49].

Основними клітинними компонентами імунотромбозу є тромбоцити та вроджені імунні клітини, насамперед нейтрофіли, моноцити та макрофаги [50]. Зв'язування тромбоцитів і бактерій може ініціювати утворення тромбу через кластеризацію бактерій і активацію як тромбоцитів, так і каскаду коагуляції, тим самим полегшуючи захоплення патогенів і безпосередньо підтримуючи їх знищення за допомогою секреції антимікробних пептидів [51]. У зростаючому згустку тромбоцити також регулюють залучення та ефекторні функції клітин вродженого імунітету. Вони вивільняють численні медіатори, які підтримують накопичення лейкоцитів і сприяють їх мікробіцидній активності. Такі медіатори включають ліганд СХС-хемокіну 1 (CXCL1), CXCL4, CXCL5, CXCL7, ліганд СС-хемокіну 3 (CCL3), CCL5, CCL7, ліганд CD40 CD154 та ліганд для запуску рецептора, експресованого на мієлоїдних клітинах 1 (TREM1) [52]. Крім того, тромбоцити фізично взаємодіють з клітинами вродженого імунітету через Р-селектин і ліганд селектину PSGL-1, таким чином безпосередньо впливаючи на ефекторні функції, такі як міграція клітин і нетоз [53].

Фізичний контакт між нейтрофілами та завантаженими бактеріями мігруючими тромбоцитами викликає активацію нейтрофілів і утворення позаклітинної пастки нейтрофілів [37]. Взаємодія тромбоцитів і нейтрофілів посилює їхні імунні функції збільшенням генерації АФК, фагоцитозу та утворення НПП. Наявність активованих тромбоцитів є важливою для формування НПП [54]. Ця взаємна активація між нейтрофілами і тромбоцитами відповідає за таку зовнішнього шляху згортання крові, що призводить до утворення фібрину [46].

Основним центром у двонаправленій взаємодії запалення і тромбозу є система комплементу [55], яка активується декількома шляхами залежно від антитіл або поверхневих молекул патогенів і безпосередньо лізує або опсонізує проникаючі патогени. Декілька факторів комплементу (C1q і C3), анафілатоксини (C3a і C5a) і мембраноатакуючий комплекс можуть стимулювати тромбоцити [55]. І, навпаки, тромбоцити також забезпечують поверхню для активації комплементу при інфекційних захворюваннях, і тоді посилюються прозапальні функції клітин вродженого імунітету, таких як нейтрофіли [56]. Крім того, вони захоплюють бактерії в кровотоці C3-залежним і тромбоцитарним глікопротеїном І_ba-залежним способом (GPIIb – platelet glycoprotein І_ba) і переміщують їх до антигенпрезентуючих дендритних клітин, які ініціюють опосередковану Т-клітинами адаптивну імунну відповідь [57]. Тромбоцити людини також вважаються імунними клітинами через їх здатність взаємодіяти з системою комплементу. α -Гранули тромбоцитів містять комплемент C3, C4a, C1-інгібітор (C1-I) і фактор комплементу Н, які вивільняються при активації тромбоцитів [58]. Тромбоцити можуть стимулювати як класичний шлях комплементу відкладенням C1q і C4d на своїй поверхні [56], так і альтернативний – через секрецію C3 [59]. Важливо, що C1-I не тільки інгібує класичний шлях каскаду комплементу взаємодією з активованим C1, але також пригнічує фактор XIa і XIIa з каскаду коагуляції [60], забезпечуючи додаткове перекриття між імунітетом і згортанням крові.

Утворення тромбоцитарно-нейтрофільного кон'югату сприяє ранній активації нейтрофілів, що призводить до дегрануляції, посилення експресії тканинного фактора і тим самим стимулює утворення тромбу [61]. Було показано, що нейтрофільні протеази катепсин G і HE, які є частиною антимикробного механізму лейкоцитів, викликають згортання крові [46]. Механізм їхньої дії в ос-

новному включає протеолітичну інактивацію ендогенного антикоагулянта TFPI (Tissue factor pathway inhibitor, інгібітор шляху тканинного фактора), який виділяється активованими тромбоцитами під час утворення тромбу. Крім того, нейтрофіли можуть розщеплювати та змінювати інші природні антикоагулянти, включаючи тромбомодулін, який розщеплюється нейтрофільною еластазою, а також може бути неактивним під дією нейтрофільних оксидаз [46]. Цікаво, що НПП, у свою чергу, повертаються до тромбоцитів і сприяють їх рекрутуванню, активації та прокоагулянтній активності, презентуючи гістони H3 і H4 TLR2 і TLR4 тромбоцитів, тим самим сприяючи тромбозу [62].

Утворення НПП може зробити організм стійкішим до патогенних мікроорганізмів, які вторгаються в організм, таким чином посилюючи імунну функцію нейтрофілів в організмі, але водночас нетоз також активує тромбоцити та фактори згортання крові, сприяє утворенню тромбу в організмі [63].

Крім того, позаклітинні везикули, отримані з нейтрофілів, беруть участь у перехресних взаємодіях тромбоцитів та нейтрофілів, переміщуючи субстрат арахідонової кислоти циклооксигеназу 1 з нейтрофілів у тромбоцити, тим самим сприяючи утворенню тромбоксану A2 [64]. Активація нейтрофілів також індукує тромбоз, опосередкований запаленням, різними шляхами, включаючи регуляцію тканинного фактора, нетозу і вивільнення катепсину G і еластази, і підтримує стабільність тромбу через взаємодію GPIIb- α і MAC-1 або CD40L [65]. Незважаючи на те, що вони конститутивно не експресують тканинний фактор (ТФ), нейтрофіли можуть набути цієї здатності, а також вивільняти мікрочастинки з ТФ [66]. Таким чином, експресія останніх у сітках НПП сприятиме адгезії тромбоцитів і посиленню каскаду коагуляції. До того ж, компоненти НПП проявляють прокоагулянтні властивості. Дійсно, ДНК підсилює активність серинової протеази, еластаза нейтрофілів розщеплює

та інактивує інгібітор тканинного фактора, тоді як гістони є потужними медіаторами тромбозу *in vitro* та пригнічує активований протеїн С [67]. НПП, що вивільняються після розпізнавання патогена, дають змогу фізично захопити мікроорганізми в сітці фібрину та ДНК [68].

Утворення імунотромбозу належить до нормального фізіологічного явища організму проти шкідливих подразників (таких, як патогени), яке може обмежити подальше поширення патогенів, що, безсумнівно, корисно для організму. Після виконання імунної функції невелика кількість НПП, імовірно буде очищена макрофагами та ферментом ДНКазою [69, 70], а під дією пов'язаних фібринолітичних ферментів патогени та імунотромбоз ліквідовані вчасно для відновлення гомеостазу. Отримані дані свідчать про те, що взаємодія тромбоцитів і нейтрофілів також сприяє зникненню запалення через секрецію молекул для відновлення. Інструменти господаря, які обмежують токсичність нетозу під час імунотромбозу, включають ДНКазу I та ДНКазу I-подібну 3, які мають захисну дію при сепсисі, запобігаючи неконтрольованій та шкідливій мікросудинній обструкції на тваринних моделях [71]. Також було показано, що НПП розкладаються протягом 6 год *in vitro* сироваткою здорових людей-донорів [72].

Якщо імунотромбоз не контролювати, він може сприяти значній системній патології і призвести до супутнього пошкодження органів через надмірне утворення тромбів [73, 74]. Коли велика кількість патогенів проникає в організм, імунотромбоз не усувається вчасно, що активує ендотеліальні клітини, тромбоцити, фактори згортання крові, пригнічує антикоагулянти, утворюючи шкідливий цикл, який постійно посилюється та зрештою спричинює неконтрольований імунотромбоз [75]. Це може призвести до серйозних захворювань, таких як інфаркт міокарда, інсульт, венозна емболія, ДВЗ-синдром та ішемічні

пошкодження інших життєво важливих органів, що часто призводить до летальних наслідків [50]. Надмірний і неконтрольований імунотромбоз створює катастрофічні побічні пошкодження, що порушують функції органів через мікросудинний тромбоз, який називається запаленням тромбу. При системних інфекціях і наступному сепсисі імунотромботична дисрегуляція призводить до системної коагулопатії та поліорганної недостатності, спричиненої мікросудинними обструкціями, що позбавляють тканини кровопостачання.

Патогени підривають імунотромбоз

Еволюція наділила кілька патогенів складними стратегіями, що дають їм змогу уникати антимікробних механізмів, викликаних коагуляцією, і допомагають використовувати імунотромбоз. Наприклад, стрептококи груп А, С і G експресують стрептокіназу, яка активує плазіноген організму з утворенням плазіну – головної серинової протеази, котра розчиняє фібрин [76]. Як наслідок, стрептококи групи А використовують стрептокіназу для проникнення та поширення в тканинах організму [77], можливо через їх здатність запобігати імунотромбозу. Крім того, кілька збудників прийняли еволюційну стратегію, щоб уникнути протромботичних НПП. Яскравими прикладами є *Streptococcus pyogenes* і *Streptococcus pneumoniae*, які викликають інвазійні інфекції, включаючи некротичний фасциїт і пневмонію [78, 79]. Обидва патогени експресують ДНКазу, яка руйнує НПП та інгібує опосередковану НПП смерть.

Деякі мікроорганізми використовують утворення фібрину та імунотромбоз, щоб уникнути виявлення імунною системою. Наприклад, стафілокоагулаза та білок, що зв'язує фактор von Willebrand, є вірулентними білками *S. aureus*, котрі можуть стимулювати утворення фібрину через активацію протромбіну. *S. aureus* використовує фібрин для створення багаточарового бар'єра проти вторгнення імунних клітин, який утворює

частину псевдокапсули абсцесу, яка зазвичай індукується цим патогеном [80]. На додаток до активації згортання крові, *S. aureus* сприяє агрегації тромбоцитів вивільненням фактора злипання А (CLFA – clumping factor A) і CLFB (clumping factor B), які захищають цей збудник від очищення організмом.

ВИСНОВОК

Запалення і коагуляція є вроджено пов'язаними еволюційно збереженими процесами. Ця взаємодія була названа імунотромбозом, яка спрямована на обмеження і ліквідацію патологічного процесу, спричиненого інфікуванням і пошкодженням. Провідну роль у цьому відіграють перехресні взаємозв'язки імунних клітин, у першу чергу нейтрофілів, факторів згортання крові, тромбоцитів і системи комплементу. Водночас імунотромботична дисрегуляція призводить до тяжких ускладнень, таких як системна коагулопатія і поліорганна недостатність. Визначення значення імунотромбозу в нормі і патології потребує подальших досліджень для покращення результатів лікування серйозних інфекційних і серцево-судинних захворювань.

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. Chooklin, S. Chuklin

IMMUNOTHROMBOSIS AS A COMPONENT OF HOST DEFENCE

*Saint Paraskeva Medical Center, Lviv;
e-mail: chooklin_serge@hotmail.com*

Immunothrombosis is a normal physiological phenomenon against harmful pathogens that can limit their further spread. It is an important element of the intravascular innate immune system and performs at least four different physiological

functions: it helps to capture and localize pathogens; it prevents the invasion of pathogens into tissues by microthrombosis; it contributes to the destruction of pathogens; it helps to recruit additional immune cells to the site of tissue infection and/or damage. The main driving forces of immunothrombosis are platelets, neutrophils and the complement system. This review examines the role of immunothrombosis in protecting the host and its main mechanisms.

Key words: immunothrombosis; neutrophils; platelets; complement.

REFERENCES

1. Hagemann JH, Haegele H, Müller S, Anders HJ. Danger control programs cause tissue injury and remodeling. *Int J Mol Sci.* 2013;14(6):11319-46.
2. Shi C, Yang L, Braun A, Anders HJ. Extracellular DNA-A danger signal triggering immunothrombosis. *Front Immunol.* 2020;11:568513.
3. Bottazzi B, Doni A, Garlanda C, Mantovani A. An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Annu Rev Immunol.* 2010;28:157-83.
4. Casadevall A, Dadachova E, Pirofski LA. Passive antibody therapy for infectious diseases. *Nat Rev Microbiol.* 2004;2(9):695-703.
5. Menny A, Serna M, Boyd CM, Gardner S, Joseph AP, Morgan BP, et al. CryoEM reveals how the complement membrane attack complex ruptures lipid bilayers. *Nat Commun.* 2018;9(1):5316.
6. Shao Z, Nishimura T, Leung LL, Morser J. Carboxypeptidase B2 deficiency reveals opposite effects of complement C3a and C5a in a murine polymicrobial sepsis model. *J Thromb Haemost.* 2015;13(6):1090-102.
7. Rawish E, Sauter M, Sauter R, Nording H, Langer HF. Complement, inflammation and thrombosis. *Br J Pharmacol.* 2021;178(14):2892-904.
8. Trouw LA, Pickering MC, Blom AM. The complement system as a potential therapeutic target in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2017;13(9):538-47.
9. Mantovani A, Garlanda C. Humoral innate immunity and acute-phase proteins. *N Engl J Med.* 2023;388(5):439-52.
10. Medzhitov R. The spectrum of inflammatory responses. *Science.* 2021;374(6571):1070-5.
11. Nathan C. Nonresolving inflammation redux. *Immunity.* 2022;55(4):592-605.
12. Hidalgo A, Chilvers ER, Summers C, Koenderman L. The Neutrophil Life Cycle. *Trends Immunol.* 2019;40(7):584-97.
13. Silvestre-Roig C, Braster Q, Ortega-Gomez A, Soehnlein O. Neutrophils as regulators of cardiovascular inflammation. *Nat Rev Cardiol.* 2020;17(6):327-40.
14. Hayashi F, Means TK, Luster AD. Toll-like receptors stimulate human neutrophil function. *Blood.* 2003;102(7):2660-9.
15. El Kebir D, József L, Filep JG. Neutrophil recognition of bacterial DNA and Toll-like receptor 9-dependent and

- independent regulation of neutrophil function. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2008;56(1):41-53.
16. Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, Metzler KD, Zychlinsky A. Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:459-89.
 17. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol*. 2018;18(2):134-47.
 18. Bakele M, Joos M, Burdi S, Allgaier N, Pöschel S, Fehrenbacher B, et al. Localization and functionality of the inflammasome in neutrophils. *J Biol Chem*. 2014;289(8):5320-9.
 19. Demarco B, Chen KW, Broz P. Cross talk between intracellular pathogens and cell death. *Immunol Rev*. 2020;297(1):174-93.
 20. Noubouossie DF, Reeves BN, Strahl BD, Key NS. Neutrophils: back in the thrombosis spotlight. *Blood*. 2019;133(20):2186-97.
 21. Döring Y, Libby P, Soehnlein O. Neutrophil extracellular traps participate in cardiovascular diseases: recent experimental and clinical insights. *Circ Res*. 2020;126(9):1228-41.
 22. Castanheira FVS, Kubes P. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation. *Blood*. 2019;133(20):2178-85.
 23. Kapoor S, Opneja A, Nayak L. The role of neutrophils in thrombosis. *Thromb Res*. 2018;170:87-96.
 24. Almyroudis NG, Grimm MJ, Davidson BA, Röhm M, Urban CF, Segal BH. NETosis and NADPH oxidase: at the intersection of host defense, inflammation, and injury. *Front Immunol*. 2013;4:45.
 25. Sampath P, Moideen K, Ranganathan UD, Bethunaickan R. Monocyte Subsets: Phenotypes and Function in Tuberculosis Infection. *Front Immunol*. 2018;9:1726.
 26. Geissmann F, Auffray C, Palframan R, Wirrig C, CioCCA A, Campisi L, Narni-Mancinelli E, Lauvau G. Blood monocytes: distinct subsets, how they relate to dendritic cells, and their possible roles in the regulation of T-cell responses. *Immunol Cell Biol*. 2008;86(5):398-408.
 27. Carlin LM, Stamatiades EG, Auffray C, Hanna RN, Glover L, Vizcay-Barrena G, Hedrick CC, Cook HT, Diebold S, Geissmann F. Nr4a1-dependent Ly6C(low) monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal. *Cell*. 2013;153(2):362-75.
 28. Flanagan RS, Kuiack RC, McGavin MJ, Heinrichs DE. *Staphylococcus aureus* uses the GraXRS regulatory system to sense and adapt to the acidified phagolysosome in macrophages. *mBio*. 2018;9(4):e01143-18.
 29. Hickey MJ, Kubes P. Intravascular immunity: the host-pathogen encounter in blood vessels. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(5):364-75.
 30. Nicolai L, Schiefelbein K, Lipsky S, Leunig A, Hoffknecht M, Pekayvaz K, et al. Vascular surveillance by haptotactic blood platelets in inflammation and infection. *Nat Commun*. 2020;11(1):5778.
 31. Carestia A, Godin LC, Jenne CN. Step up to the platelet: Role of platelets in inflammation and infection. *Thromb Res*. 2022 Oct 14:S0049-3848(22)00411-X. Online ahead of print.
 32. de Stoppelaar SF, van 't Veer C, Claushuis TA, Albersen BJ, Roelofs JJ, van der Poll T. Thrombocytopenia impairs host defense in gram-negative pneumonia-derived sepsis in mice. *Blood*. 2014;124(25):3781-90.
 33. Carestia A, Mena HA, Olexen CM, Ortiz Wilczyński JM, Negrotto S, Errasti AE, Gómez RM, Jenne CN, Carrera Silva EA, Schattner M. Platelets promote macrophage polarization toward pro-inflammatory phenotype and increase survival of septic mice. *Cell Rep*. 2019;28(4):896-908.e5.
 34. Hottz ED, Bozza FA, Bozza PT. Platelets in immune response to virus and immunopathology of viral infections. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:121.
 35. Aquino-Domínguez AS, Romero-Tlalolini MLA, Torres-Aguilar H, Aguilar-Ruiz SR. Recent advances in the discovery and function of antimicrobial molecules in platelets. *Int J Mol Sci*. 2021;22(19):10230.
 36. Cox D, Kerrigan SW, Watson SP. Platelets and the innate immune system: mechanisms of bacterial-induced platelet activation. *J Thromb Haemost*. 2011;9(6):1097-107.
 37. Gaertner F, Ahmad Z, Rosenberger G, Fan S, Nicolai L, Busch B, et al. Migrating platelets are mechanoscavengers that collect and bundle bacteria. *Cell*. 2017;171(6):1368-82.e23.
 38. Kral JB, Schrottmaier WC, Salzmann M, Assinger A. Platelet Interaction with Innate Immune Cells. *Transfus Med Hemother*. 2016;43(2):78-88.
 39. Niklaus M, Klingler P, Weber K, Koessler A, Boeck M, Kobsar A, Koessler J. The involvement of toll-like receptors 2 and 4 in human platelet signalling pathways. *Cell Signal*. 2020;76:109817.
 40. Guo L, Rondina MT. The era of thromboinflammation: platelets are dynamic sensors and effector cells during infectious diseases. *Front Immunol*. 2019;10:2204.
 41. Opal SM. Phylogenetic and functional relationships between coagulation and the innate immune response. *Crit Care Med*. 2000;28(9 Suppl):S77-80.
 42. Yipp BG, Petri B, Salina D, Jenne CN, Scott BN, Zbytnik LD, et al. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo. *Nat Med*. 2012;18(9):1386-93.
 43. Engemann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(1):34-45.
 44. Khan F, Tritschler T, Kahn SR, Rodger MA. Venous thromboembolism. *Lancet*. 2021;398(10294):64-77.
 45. Martinod K, Deppermann C. Immunothrombosis and thromboinflammation in host defense and disease. *Platelets*. 2021;32(3):314-24.
 46. Massberg S, Grahl L, von Bruehl ML, Manukyan D, Pfeiler S, Goosmann C, et al. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat Med*. 2010;16(8):887-96.
 47. Luo D, Szaba FM, Kummer LW, Plow EF, Mackman N, Gailani D, Smiley ST. Protective roles for fibrin, tissue

- factor, plasminogen activator inhibitor1, and thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, but not factor XI, during defense against the Gram-negative bacterium *Yersinia enterocolitica*. *J Immunol*. 2011;187(4):1866-76.
48. Abdunnour RE, Dalli J, Colby JK, Krishnamoorthy N, Timmons JY, Tan SH, et al. Maresin 1 biosynthesis during platelet-neutrophil interactions is organ-protective. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(46):16526-31.
 49. Brancaleone V, Gobetti T, Cenac N, le Faouder P, Colom B, Flower RJ, et al. A vasculo-protective circuit centered on lipoxin A4 and aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A4 operative in murine microcirculation. *Blood*. 2013;122(4):608-17.
 50. Stark K, Massberg S. Interplay between inflammation and thrombosis in cardiovascular pathology. *Nat Rev Cardiol*. 2021;18(9):666-82.
 51. Yeaman MR. Platelets: at the nexus of antimicrobial defence. *Nat Rev Microbiol*. 2014;12(6):426-37.
 52. Semple JW, Italiano JE Jr, Freedman J. Platelets and the immune continuum. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(4):264-74.
 53. Sreeramkumar V, Adrover JM, Ballesteros I, Cuartero MI, Rossaint J, Bilbao I, et al. Neutrophils scan for activated platelets to initiate inflammation. *Science*. 2014;346(6214):1234-8.
 54. 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(4):463-9.
 55. Verschoor A, Langer HF. Crosstalk between platelets and the complement system in immune protection and disease. *Thromb Haemost*. 2013;110(5):910-9.
 56. Peerschke EI, Yin W, Ghebrehiwet B. Complement activation on platelets: implications for vascular inflammation and thrombosis. *Mol Immunol*. 2010;47(13):2170-5.
 57. Verschoor A, Neuenhahn M, Navarini AA, Graef P, Plaumann A, Seidlmeier A, et al. A platelet-mediated system for shuttling blood-borne bacteria to CD8 α ⁺ dendritic cells depends on glycoprotein GPIb and complement C3. *Nat Immunol*. 2011;12(12):1194-201.
 58. Maynard DM, Heijnen HF, Horne MK, White JG, Gahl WA. Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry. *J Thromb Haemost*. 2007;5(9):1945-55.
 59. Koupnova M, Corkrey HA, Vitseva O, Manni G, Pang CJ, Clancy L, et al. The role of platelets in mediating a response to human influenza infection. *Nat Commun*. 2019;10(1):1780.
 60. Cugno M, Cicardi M, Bottasso B, Coppola R, Paonessa R, Mannucci PM, Agostoni A. Activation of the coagulation cascade in C1-inhibitor deficiencies. *Blood*. 1997;89(9):3213-8.
 61. Ramirez GA, Rovere-Querini P, Sabbadini MG, Manfredi AA. Parietal and intravascular innate mechanisms of vascular inflammation. *Arthritis Res Ther*. 2015;17(1):16.
 62. Gould TJ, Vu TT, Swystun LL, Dwivedi DJ, Mai SH, Weitz JI, Liaw PC. Neutrophil extracellular traps promote thrombin generation through platelet-dependent and platelet-independent mechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(9):1977-84.
 63. Pfeiler S, Stark K, Massberg S, Engelmann B. Propagation of thrombosis by neutrophils and extracellular nucleosome networks. *Haematologica*. 2017;102(2):206-13.
 64. Rossaint J, Kühne K, Skupski J, Van Aken H, Looney MR, Hidalgo A, Zarbock A. Directed transport of neutrophil-derived extracellular vesicles enables platelet-mediated innate immune response. *Nat Commun*. 2016;7:13464.
 65. Wang Y, Gao H, Shi C, Erhardt PW, Pavlovsky A, A Soloviev D, et al. Leukocyte integrin Mac-1 regulates thrombosis via interaction with platelet GPIIb/IIIa. *Nat Commun*. 2017;8:15559.
 66. Maugeri N, Brambilla M, Camera M, Carbone A, Tremoli E, Donati MB, de Gaetano G, Cerletti C. Human polymorphonuclear leukocytes produce and express functional tissue factor upon stimulation. *J Thromb Haemost*. 2006;4(6):1323-30.
 67. Ammollo CT, Semeraro F, Xu J, Esmon NL, Esmon CT. Extracellular histones increase plasma thrombin generation by impairing thrombomodulin-dependent protein C activation. *J Thromb Haemost*. 2011;9(9):1795-803.
 68. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, Weinrauch Y, Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532-5.
 69. de Buhr N, Bonilla MC, Pfeiffer J, Akhdar S, Schwennen C, Kahl BC, et al. Degraded neutrophil extracellular traps promote the growth of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Cell Death Dis*. 2019;10(9):657.
 70. Monteith AJ, Miller JM, Maxwell CN, Chazin WJ, Skaar EP. Neutrophil extracellular traps enhance macrophage killing of bacterial pathogens. *Sci Adv*. 2021;7(37):eabj2101.
 71. Jiménez-Alcázar M, Rangaswamy C, Panda R, Bitterling J, Simsek YJ, Long AT, et al. Host DNases prevent vascular occlusion by neutrophil extracellular traps. *Science*. 2017;358(6367):1202-6.
 72. Hakkim A, Fürnrohr BG, Amann K, Laube B, Abed UA, Brinkmann V, Herrmann M, Voll RE, Zychlinsky A. Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(21):9813-8.
 73. Nicolai L, Massberg S. Platelets as key players in inflammation and infection. *Curr Opin Hematol*. 2020;27(1):34-40.
 74. Mereweather LJ, Constantinescu-Bercu A, Crawley JTB, Salles-Crawley II. Platelet-neutrophil crosstalk in thrombosis. *Int J Mol Sci*. 2023;24(2):1266.
 75. Xu P, Xin L, Xiao X, Huang Y, Lin C, Liu X, Wei H, Xu R, Chen Y. Neutrophils: As a key bridge between inflammation and thrombosis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2022;2022:1151910.
 76. Bergmann S, Hammerschmidt S. Fibrinolysis and host response in bacterial infections. *Thromb Haemost*. 2007;98(3):512-20.

77. Sun H, Ringdahl U, Homeister JW, Fay WP, Engleberg NC, Yang AY, et al. Plasminogen is a critical host pathogenicity factor for group A streptococcal infection. *Science*. 2004;305(5688):1283-6.
78. Buchanan JT, Simpson AJ, Aziz RK, Liu GY, Kristian SA, Kotb M, Feramisco J, Nizet V. DNase expression allows the pathogen group A *Streptococcus* to escape killing in neutrophil extracellular traps. *Curr Biol*. 2006;16(4):396-400.
79. Beiter K, Wartha F, Albiger B, Normark S, Zychlinsky A, Henriques-Normark B. An endonuclease allows *Streptococcus pneumoniae* to escape from neutrophil extracellular traps. *Curr Biol*. 2006;16(4):401-7.
80. Guggenberger C, Wolz C, Morrissey JA, Heesemann J. Two distinct coagulase-dependent barriers protect *Staphylococcus aureus* from neutrophils in a three dimensional in vitro infection model. *PLoS Pathog*. 2012;8(1):e1002434.

*Матеріал надійшов
до редакції 15.05.2023*