

Нейтрофільні позаклітинні пастки як терапевтична мішень при системних ускладненнях гострого панкреатиту

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

¹Львівська обласна клінічна лікарня;

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

Огляд присвячений ролі нейтрофільних позаклітинних пасток (НПП) при системних ускладненнях гострого панкреатиту. НПП можуть активувати трипсин, викликати запалення та пошкодження тканини підшлункової залози, закупорювати вивідні протоки. Основні смертельні ускладнення гострого панкреатиту, такі як гостре ураження легень, нирок, пошкодження міокарда і ЦНС, дисфункція кишечника, гемокоагуляційні розлади пов'язані з НПП. Орієнтація на формування та деградацію НПП може бути шляхом для розробки стратегій лікування пошкоджень органів при цьому захворюванні. Розглянуті сучасні дані про використання НПП-цільової терапії при експериментальному тяжкому гострому панкреатиті, яка спрямована на блокування утворення НПП, руйнування каркаса ДНК, інгібування цитотоксичності білків у пастках.

Ключові слова: гострий панкреатит; нейтрофільні позаклітинні пастки; системні ускладнення; анти-НПП терапія.

ВСТУП

Тяжкий гострий панкреатит (ГП) призводить до значної кількості ускладнень і високої смертності у всьому світі, що вимагає тривалої госпіталізації та дороговартісного лікування [1]. Інфузійна терапія, знеболювання, антибіотики та нутриційна підтримка є звичайними лікувальними засобами при цьому захворюванні, але такі методи не мають специфічного впливу на запальне ушкодження [2].

Загально визнано, що при ГП ініціюється місцеве запалення та пошкодження підшлункової залози (ПЗ); потім запалення посилюється через каскадні реакції, що зрештою призводить до синдрому системної запальної відповіді і поліорганної дисфункції [3, 4]. Дані останніх років показують, що нейтрофільні позаклітинні пастки (НПП) також беруть участь у патогенезі ГП, викликаючи

активацію трипсину, запалення та пошкодження тканин [5]. Більше того, вони оточують некротичну тканину у пацієнтів з тяжким ГП і сприяють подальшому синдрому системної запальної відповіді [6]. Основні смертельні ускладнення ГП, такі як гостре ураження легень, нирок, пошкодження міокарда і ЦНС, дисфункція кишечника, гемокоагуляційні розлади пов'язані з НПП. Утворення НПП також індукується компонентами панкреатичного соку або факторами запалення, що виділяються під час ГП. Вони можуть викликати ГП через ацинарне пошкодження ПЗ або блокування її протоків [5, 7]. Тому НПП є ще однією важливою мішенню для лікування тяжкого ГП [8].

Роль НПП при системних ускладненнях ГП

Ушкодження легень. Системна запальна відповідь є основним проявом тяжкого ГП, а дихальна недостатність – найчастішим його

ускладненням. У сироватці крові хворих вміст безклітинної ДНК та комплексів ДНК-гістон були значно підвищеними. Циркулюючі НПП відіграють важливу роль у залученні нейтрофілів у легені, що призводить до їх ураження [5].

Після індукції ГП таурохолатом активність мієлопероксидази (МПО) у легенях та вміст інтерлейкіну 6 (ІЛ-6), ММР-9 (matrix metalloproteinase 9) і CXCL2 (C-X-C motif chemokine ligand 2) у плазмі крові були значно нижчими у мишей з дефіцитом С3-компонента комплементу порівняно з мишами дикого типу, що свідчить про С3-контроль накопичення нейтрофілів у легенях [9]. Важливо також зазначити, що активація комплементу з підвищеною концентрацією компонента С3а спостерігалася лише у щурів із тяжким ГП, а не з легким [10].

НПП викликають ураження легень за допомогою різних механізмів [11]. Волокна ДНК функціонують як каркаси для утворення харкотиння з надмірною кількістю муцину, що виробляється НЕ(нейтрофільна еластаза)-індукованими епітеліальними клітинами дихальних шляхів, який блокує останні для створення відповідного середовища, котрий сприяє росту та колонізації бактерій [12, 13]. НЕ уповільнює частоту ударів вії, що призводить до очевидного руйнування епітеліальних клітин і розщеплює ендотеліальний актиновий цитоскелет, Е-кадгерин і VE-кадгерин, порушуючи формування слизового бар'єра для підвищення проникності альвеолярно-капілярного бар'єра [14, 15]. Крім того, НЕ індукує апоптоз епітеліальних клітин і секрецію прозапальних цитокінів через PAR-1 (protease-activated receptor 1) разом з подальшою активацією шляху NF-κB (nuclear factor κB) [16]. МПО та НЕ посилюють пошкодження легень, руйнуючи прилеглу тканину і гепарансульфатні протеоглікани в матриксі ендотеліальних клітин [17]. МПО, яка виявлена в структурах НПП, має цитотоксичні та проапоптотичні

властивості в ендотеліальних і бронхіальних епітеліальних клітинах, індукуючи розриви ланцюгів ДНК [18]. Ін'єкція гістону викликає вакуолізацію ендотеліальних клітин легневих судин і альвеолярних епітеліальних клітин, крововилив у альвеолах та утворення мікротромбів, що спричиняє пошкодження альвеолярно-капілярних судин і порушує мікроциркуляцію [19].

Пошкодження нирок. Ушкодження ниркової паренхіми, викликане НПП, захоплює переважно судини клубочка та систему реабсорбції. Ендотеліально-мезенхімальний перехід, індукований НПП, зумовлює нефроангіосклероз і призводить до дисфункції нирок [20]. Загибель епітеліальних клітин канальців також індукується НПП через секрецію гістонів з ішемізованих тубулярних клітин, що змінює функцію системи реабсорбції [21].

Пошкодження серця. Позаклітинні гістони в НПП можуть активувати нуклеотидзв'язуючий домен (NOD)-подібного рецептора білка 3 (NLRP3 – (NOD)-like receptor protein 3) інфламасоми; таким чином, позаклітинні гістони стимулюють NLRP3 у міокарді і призводять до кардіоміопатії та серцевої дисфункції [22]. Гістони також знижують вміст SERCA2 (sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase) і NCX (sodium/calcium exchanger), ключових білків, які регулюють передачу сигналів Ca²⁺- і Na⁺/K⁺-АТФаз у кардіоміоцитах, що призводить до дефектних потенціалів дії та аритмії [23]. Пов'язані з НПП тромби в коронарних артеріях часто викликають інфаркт міокарда, який спостерігався у пацієнтів з тяжким ГП [24].

Пошкодження кишечника. У кишечнику НПП порушують мікроекологічний баланс і призводять до пошкодження і навіть апоптозу епітеліальних клітин, що зумовлює підвищення проникності слизової оболонки кишків, збільшення вироблення ендотоксинів і дисбаланс кишкової флори [25]. При ендотоксемії високі концентрації ендотоксину можуть зберігатися і аномально розташовува-

тися в цитоплазмі. Потім активований TLR4 (toll like receptor 4) індукує інтерферонову відповідь типу I та комплементарну вісь C3-C3aR (complement component 3a receptor 1), щоб підвищити експресію каспази-11. Це призводить до високого ступеня піроптозу та сприяння вивільненню НПП, тим самим посилюючи пов'язане з ГП пошкодження легень [26, 27].

Пошкодження ЦНС. Після утворення в кровоносних судинах НПП можуть викликати ушкодження гематоенцефалічного бар'єра, що, зокрема, пов'язано з гранульованим білком, який вони містять [28]. Внутрішньосудинні НПП посилюють коагуляційну активність і діють як збірна платформа для сприяння тромбозу. Після перенесення в паренхіму мозку зміною фенотипу нейтрофіли вивільняють НПП, які можуть безпосередньо пошкоджувати нейрони через цитотоксичні білки або посилювати нейрозапалення, активуючи запальні клітини.

Пошкодження судин і гемокоагуляційні розлади. Зміни в гемодинаміці пацієнтів з тяжким ГП, такими як гіповолемія, гіперкоагуляція та інфільтрація факторами запалення, потенційно призводять до низки патологічних змін у судинах. Було показано, що НПП та їх компоненти беруть участь у пошкодженні кровоносних судин і сприяють утворенню внутрішньосудинного тромбу [29]. Вони руйнують судинний ендотелійний VE-кадгерин (VE-cadherin; CD144) і активують передачу сигналів β -катеніну, що сприяє витоку із судин [20]. Генеруючи протеїназу 3 і МПО, НПП індукують васкуліт, пов'язаний з антинейтрофільними цитоплазматичними антитілами, який також стимулює утворення НПП, які призводять до прогресуючого пошкодження судин [30].

НПП сприяють утворенню тромбу за допомогою кількох різних механізмів [31]. Волокниста структура НПП служить каркасом, який зв'язує компоненти тромбу, включаючи тромбоцити, еритроцити, фібриноген і фібронектин. Гістони сприяють

утворенню і збільшенню тромбу, викликають пошкодження ендотелію. Нарешті, нейтрофільні серинові протеази, що містяться в НПП, допомагають активації як внутрішнього, так і зовнішнього шляхів коагуляції. Волокна ДНК, отримані з НПП, слугують каркасом для зв'язування фібрину, клітин крові та фактора von Willebrand (VWF), що призводить до утворення тромбу [32].

Блокування НПП при ГП

Виходячи з доказів того, що НПП є критичними для патогенезу ГП та тісно пов'язаними з його тяжким перебігом у людей, було оцінено їх пригнічення як нову терапевтичну ціль для покращення результатів лікування хворих.

Хлорохін – доступний для перорального прийому та недорогий препарат, який історично використовувався для лікування малярії, а також пригнічує аутофагію [33]. Підвищена аутофагія сприяє генерації НПП [34], а хлорохін запобігає їх утворенню [35]. Деякі дослідники вивчали на мишачих моделях, чи може цілеспрямоване інгібування НПП покращити перебіг ГП за його допомогою. Пригнічуючи НПП, хлорохін зменшує тяжкість ГП та сприяє виживанню мишей [36].

Стратегії зменшення кількості нейтрофілів або блокування молекул адгезії для обмеження інфільтрації лейкоцитами можуть лімітувати пошкодження тканин при ГП [37]. Тому розуміння молекулярних механізмів, відповідальних за утворення НПП, дає змогу розробляти методи лікування, спрямовані на цей процес. Виснаження нейтрофілів запобігало індукованому таурохолатом відкладенню НПП в ПЗ. Введення ДНази1 мишам зменшувало інфільтрацію нейтрофілами і пошкодження тканин у запаленій ПЗ та легнях, а також знижувало активність амілази в крові, макрофагального запального білка-2, ІЛ-6 та НМGB1 (high-mobility group protein B1). У мишей, яким вводили таурохолат, призначення ДНази1 та-

кож пригнічувало експресію інтегрину М (антиген макрофагу-1) на циркулюючих нейтрофілах. Подібні результати були у мишей з L-аргінініндукованим ГП [5]. ДНАза лізує позаклітинну ДНК, що вивільняється з нейтрофілів, щоб не накопичувалися агрегати НПП. Як «пізній» інгібітор утворення НПП, лікування ДНАзою не запобігає утворенню НПП і мало протидіє ефектам вивільнення інших компонентів НПП, включаючи гістони, HMGB1, еластазу та інші фактори [38].

Опубліковані дані щодо С1-амідину показали, що нейтрофіли є основними імунними клітинами, на які впливає цей інгібітор PAD (peptidyl arginine deiminase) [39]. Попереднє лікування С1-амідином помітно зменшило утворення НПП у запаленій ПЗ [40]. Крім того, інгібування PAD за допомогою С1-амідину знижувало активність амілази в крові, а також набряк, некроз ацинарних клітин, крововилив та нейтрофільну інфільтрацію в ПЗ тварин з ГП [40]. Введення С1-амідину зменшувало активність МПО в ПЗ та легенях мишей, які піддалися впливу таурохолату. Крім того, знижувався вміст хемокінів СХС, ІЛ-6 і MMP-9 у мишей з тяжким ГП [40]. За допомогою електронної мікроскопії було показано, що застосування С1-амідину ефективно зменшує структури ДНК, колокалізовані з еластазою гранул нейтрофілів, і цитрулінованим гістоном 3. Це свідчить про те, що PAD регулює утворення НПП при тяжкому ГП [40]. Лікування С1-амідином помітно послаблювало індуковане таурохолатом збільшення вмісту гістону 3 і гістону 4, що, ймовірно, допоможе пояснити частину сприятливого ефекту пригнічення генерації НПП при ГП [40].

eCIRP (extracellular cold-inducible RNA-binding protein) може бути ефективною мішенню для ослаблення пошкодження ПЗ у пацієнтів з ГП [41]. Qiang зі співавт. [42] створили антагоніст CIRP, C23, який має високу спорідненість до комплексу TLR4/MD2 (Toll-like receptor 4/myeloid

differentiation factor 2) і зменшує запалення та пошкодження тканин, спричинені сепсисом, шоком та ішемією–реперфузією. Однак потенційний послаблюючий його вплив на утворення НПП, запалення та пошкодження тканин у контексті ГП ніколи не вивчався. Попереднє лікування C23 знижувало індукований таурохолатом вміст eCIRP у ПЗ та у плазмі крові та пошкодження тканин ПЗ [41]. Блокування eCIRP зменшувало вміст цитрулінованого гістону 3 і утворення НПП у ПЗ, а також комплексів ДНК–гістон у плазмі [41]. Крім того, введення C23 знижувало активність МПО в ПЗ та легенях мишей, підданих впливу таурохолату. Інгібування eCIRP зменшувало вміст СХС-хемокінів у ПЗ та концентрації ІЛ-6, HMGB-1 та MMP-9 у плазмі мишей з тяжким ГП [41].

Виявлено, що введення олігопептиду C23, отриманого з CIRP, помітно знижувало вміст eCIRP у ПЗ та в плазмі у тварин із ГП, перериваючи цикл позитивного зворотного зв'язку eCIRP при його власному вивільненні [41]. Враховуючи, що C23, як відомо, блокує функцію CIRP зв'язуванням з комплексом TLR4/MD2 [42], пригнічувальна його дія на вміст eCIRP у плазмі, швидше за все, пов'язана з тканинним захисним ефектом при ГП. Тим не менш ці результати показують, що запалення ПЗ однозначно підвищує вміст eCIRP і що C23 ефективний у зменшенні вивільнення CIRP при ГП [41].

Системне лікування протектином D1 (PD1 – protectin D1) знижувало активність амілази та ліпази в сироватці крові, а також концентрацію фактора некрозу пухлин α (ФНП- α) та ІЛ-6 у сироватці та захищало від клітинного ураження ПЗ у трьох моделях ГП. Він також подовжив виживання в моделі перев'язування протоки ПЗ. Крім того, інфільтрація ПЗ нейтрофілами і експресія нейтрофілами CitH3 (citrullinated histone H3) були знижені після введення PD1. Дослідження в пробірці показали, що останній зменшував вміст безклітинної ДНК і CitH3 у супернатанті та пригнічував

експресію PAD4 (peptidyl arginine deiminase 4) у нейтрофілах, отриманих з кісткового мозку мишей. Однак у мишей після введення церулеїну, попередньо оброблених гідрохлоридом GSK484, інгібітором PAD4, лікування PD1 не мало більшого захисного ефекту. PD1 послаблював тяжкість ГП, зменшуючи ранню інфільтрацію нейтрофілів у ПЗ та утворення НПП через PAD4. Це дає підставу розглядати його як засіб для лікування ГП [43]. Дослідження також показали, що PD1 має протизапальну дію при гострих ураженнях легень, нирок [44, 45]. Він може знижувати сироваткову активність амілази, ліпази, концентрації ІЛ-6 та ФНП- α [43]. Експресія МПО в ПЗ також значно пригнічувалася при введенні PD1 [43].

PD1 є біологічно активним продуктом, який утворюється з докозагексаєнової кислоти (ДГК) під час фази усунення гострого запалення [46]. Омега-3 поліненасичені жирні кислоти (ω -3 ПНЖК), включаючи ейкозапентаєнову кислоту та ДГК, у великій кількості містяться в риб'ячому жирі [47]. У пацієнтів з тяжким ГП парентеральне харчування, доповнене ω -3 ПНЖК, зменшувало гіперзапальну відповідь та ослаблювало системні ураження органів [48]. Дослідження також підтвердили, що ДГК має антиоксидантну та протизапальну дію у щурів з ГП, індукованих церулеїном [49].

Інозитолгексафосфатаза 1 тромбоцитів (IP6K1 – inositol hexakisphosphate kinase 1) є ключовим геном утворення НПП, а стимуляція тромбіном IP6K1-дефіцитних тромбоцитів за наявності нейтрофілів не призводить до їх формування. Водночас виникнення НПП, спричинене таурохолатом, зменшило запалення ПЗ та пошкодження тканин у мишей з дефіцитом IP6K1 [50]. Таким чином, НПП відіграють певну роль у посередництві запалення та тромбозу, усуваючи перехід між гіперкоагуляцією та важким запаленням на ранніх стадіях патофізіології панкреатиту. Нещодавно було показано, що

дабігатран, антикоагулянт і антитрипсиновий препарат являє собою багатообіцяючий синергетичний ефект у мишей з тяжким ГП [51].

C3-компонент комплементу має велике значення у патогенезі ГП, оскільки потрібен для залучення нейтрофілів у ПЗ та забезпечення утворення НПП. Таким чином, орієнтація на C3 може бути потенційною стратегією для зменшення локального пошкодження, а також дисфункції віддалених органів при ГП [9]. Отримані дані свідчать про важливу роль C3 у запаленій ПЗ, а також про націлювання на його активацію за допомогою таких препаратів, як компстатин [53], може пригнічувати запальні процеси при ГП [9]. Linders зі співавт. [9] виявили, що C3 регулює ключові ланки патогенезу ГП, зокрема, сприяє залученню нейтрофілів та забезпеченню утворення НПП у запаленій ПЗ. Більше того, C3 бере участь у системному запаленні та легеневій нейтрофілії при тяжкому ГП. Таким чином, це дослідження не тільки окреслює потенційні механізми C3-залежного запалення в ПЗ, але і припускає, що фармакологічне націлювання на функцію C3 може бути корисною стратегією для протидії локальному пошкодженню тканин і дисфункції віддалених органів у пацієнтів з тяжким ГП [9].

Такі інгібітори НЕ, як сівелестат, зменшують утворення НПП, обмежують токсичність НЕ та функціонують як терапевтичний препарат для лікування ушкодження дихальних шляхів та гострого респіраторного дистрес-синдрому, пов'язаного із системними запальними захворюваннями, зокрема з тяжким ГП [52].

Висока концентрація глюкози пригнічує утворення НПП і модулює опосередкований ІЛ-6 імунний гомеостаз [54]. Додавання термоінактивованої фетальної телячої сироватки, 0,5%-го сироваткового альбуміну людини або 0,5%-го бичачого сироваткового альбуміну до культурального середовища ефективно зменшує вироблення НПП нейтрофілами

людини, стимульованими ліпополісахаридом і іонофорами кальцію [55]. Отже, терапія добавками альбуміну не тільки підтримує осмотичний тиск плазми та зменшує частоту тромбозу, але й покращує запальне ураження, пригнічуючи утворення НПП у пацієнтів з тяжким ГП з гіпопротеїнемією.

Каркаси ДНК відіграють ключову роль у руйнуванні тканин, опосередкованому НПП; таким чином, руйнування скелета ДНК може захистити тканини від НПП. Два типи ДНаз організму – ДНаза1 і ДНаза1L3 – руйнують НПП та захищають організм від шкідливого впливу внутрішньосудинних НПП [56]. Крім того, ДНаза та інші ферменти, що знищують ДНК, пригнічують утворення агрегованих НПП, щоб зменшити обструкцію [57]. Після введення ДНази1 пошкодження тканин ПЗ та легень у мишей з тяжким ГП зменшувалося разом з активністю МПО [5]. Нуклеази бактерій, котрі перешкоджають захопленню НПП-ДНК, такі як стафілококова нуклеаза, ефективно руйнують НПП, покращуючи бар'єрну функцію кишечника [58]. Гепарин також ламає комплекс НПП-ДНК і знижує активність гістонів для індукування агрегації тромбоцитів, таким чином запобігаючи утворенню тромбу [32]. І дисфункція кишкового бар'єра, і тромбоз нерозривно пов'язані з тяжким ГП; тому лікування, спрямоване на ці фактори, може відігравати життєво важливу роль у терапії цієї патології.

Інгібування білків у НПП потенційно являє собою іншу стратегію для зменшення пошкодження тканин, спричиненого НПП. Було показано, що деякі антитіла, спрямовані на білки НПП, захищають тканини від утворення пасток. Як засіб клінічного лікування антитіла проти гістонів та активованого протеїну С пригнічують опосередковане ними пошкодження та захищають клітини організму [19]. Полісіалова кислота перериває утворення НПП та запобігає цитотоксичності гістонів зв'язуванням з гістоном 28 [14]. Тканинний інгібітор металопротеїнази-1 (TIMP-1 – tissue inhibitor of

metalloproteinases-1) зменшує утворення НПП та обмежує НПП-опосередковану цитотоксичність під час печінкової ішемії/реперфузії, блокуючи активність ММР-9 [59]. Інгібітори МПО, такі як дапсон і триптаміни, котрі пригнічують її окиснювальну дію, захищають тканини від запальних ушкоджень [60]. Показано, що вміст гістонів у сироватці крові пов'язаний з тяжкістю ГП, і лікування антигістоном покращує функцію органів і виживаність хворих на ГП [61]. Активна МПО, що виділяється під час нетозу, викликає серйозні пошкодження ПЗ та навколишніх тканин, посилюючи системні запальні реакції [62]. Інгібування токсичних ефектів білків є ще однією стратегією збереження функції органів у пацієнтів з ГП.

Виходячи з взаємозв'язку НПП і ГП, медикаментозний вплив, спрямований на НПП, може відігравати ключову роль у лікуванні ГП. Інгібування утворення пасток призводить до легшої форми захворювання в моделі ГП. Як миші з дефіцитом PAD4, так і миші, які отримували інгібітор PAD, демонструють м'яке запалення та пошкодження тканин у запаленій ПЗ у моделі ГП [63, 64]. ДНаза1, яка розкладає ДНК-основу НПП, зменшує активність МПО та пошкодження тканин ПЗ та легень у мишей з ГП [5]. В осіб з дисфункціональним утворенням НПП завжди виявлявся легкий перебіг захворювання після індукції ГП, що підкреслює їх важливість при цій патології.

Введення інгібітора НМGB1 гліциризину або інгібітора АТФ А438079 скасовує активацію НПП [65]. Дія інгібітора кінази c-Abelson (c-Abl) GZD824 не тільки ліквідує її активацію, але й знижує вміст цитрулінованого гістону 3 у ПЗ та комплексів ДНК-гістон у плазмі крові тварин з ГП. Крім того, він зменшував активність амілази, концентрації ІЛ-6 та ММР-9 у плазмі крові, а також набряк, некроз ацинарних клітин, крововилив, утворення СХС хемокінів та інфільтрацію нейтрофілів у запаленій ПЗ. Сприятливий ефект інгібування c-Abl-кі-

нази був підтверджений при панкреатиті, спричиненому L-аргініном. Поза організмом пригнічення c-Abl-кінази зменшувало викликане дією ФНП- α утворення активних форм кисню, цитрулінування гістону 3 та НПП в ізольованих нейтрофілах кісткового мозку, c-Abl-кіназа регулює утворення НПП у запаленій ПЗ. Крім того, інгібування зменшувало запалення тканини ПЗ та пошкодження при ГП. Таким чином, націлювання на c-Abl-кіназу може бути корисним способом захисту ПЗ при тяжкому ГП [64]. Вона є важливою сигнальною молекулою, яка регулює динаміку клітинного актину та перебудову цитоскелета [66, 67]. Інгібування c-Abl-кінази знижує експресію Mac-1 (macrophage-1 antigen) нейтрофілів і утворення СХС хемокінів при тяжкому ГП, зменшує рекрутмент нейтрофілів і пошкодження тканин ПЗ. Нарешті, блокування активності c-Abl-кінази пригнічує системне запалення та легенеvu нейтрофілію у мишей з панкреатитом [64].

ВИСНОВОК

НПП можуть служити терапевтичними мішенями, а анти-НПП-препарати специфічно пригнічують запальне ураження у пацієнтів з ранньою стадією тяжкого ГП. Однак не виявлення та не ефективний терапевтичний підхід обмежують клінічне застосування НПП-цільової терапії. Для прискорення клінічної трансляції слід використовувати нові технології для виявлення НПП. Це полегшить клініцистам надавати персоналізоване лікування.

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 AS A THERAPEUTIC TARGET IN SYSTEMIC COMPLICATIONS OF 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 systemic complications of acute pancreatitis. NETs can activate trypsin, cause inflammation and pancreatic tissue damage, and clog the excretory ducts. The main fatal complications of acute pancreatitis, such as acute lung injury, kidney, myocardial and CNS damage, intestinal dysfunction, hemocoagulation disorders are associated with NETs. Focusing on the formation and degradation of NETs may be a way to develop strategies for treating organ damage in severe acute pancreatitis. Current data on the use of NET-targeted therapy in experimental severe acute pancreatitis, which is aimed at blocking the NETs formation and disassembly of the DNA scaffold, inhibition of proteins toxicity in NETs, are considered. Key words: acute pancreatitis; neutrophilic extracellular traps; systemic complications; anti-NET therapy.

REFERENCES

1. Lee PJ, Papachristou GI. New insights into acute pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16: 479-96.
2. Gliem N, Ammer-Herrmenau C, Ellenrieder V, Neesse A. Management of severe acute pancreatitis. An Update. 2021;102(4):503-7.
3. 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 Sep 1(1):45-55.
4. Crockett SD, Wani S, Gardner TB, Falck-Ytter Y, Barkun AN. American gastroenterological association institute guideline on initial management of acute pancreatitis. *Gastroenterology.* 2018;154:1096-101.
5. 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.
6. 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 Oct 10;7:424.
7. 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;7:10973.

8. Li HY, Lin YJ, Zhang L, Zhao J, Xiao DY, Huang ZZ, Li PW. Progress of pyroptosis in acute pancreatitis. *Chin Med J (Engl)*. 2021;134(18): 2160-2.
9. Linders J, Madhi R, Mörgelin M, King BC, Blom AM, Rahman M. Complement component 3 is required for tissue damage, neutrophil infiltration, and ensuring NET formation in acute pancreatitis. *Eur Surg Res*. 2020;61(6):163-76.
10. Hartwig W, Klafs M, Kirschfink M, Hackert T, Schneider L, Gebhard MM, et al. Interaction of complement and leukocytes in severe acute pancreatitis: potential for therapeutic intervention. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006 Nov 29;291(5):G844-50.
11. Pastor CM, Matthay MA, Frossard JL. Pancreatitis-associated acute lung injury: new insights. *Chest*. 2003;124:2341-51.
12. Fischer BM, Cuellar JG, Diehl ML, deFreytas AM, Zhang J, Carraway KL, Voynow JA. Neutrophil elastase increases MUC4 expression in normal human bronchial epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003;284:L671-9.
13. Rose MC, Voynow JA. Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol Rev*. 2006;86:245-78.
14. Saffarzadeh M, Juenemann C, Queisser MA, Lochnit G, Barreto G, Galuska SP, et al. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones. *PLoS One*. 2012;7(2):e32366.
15. Benthani FA, Herrmann D, Tran PN, Pangon L, Lucas MC, Allam AH, et al. 'MCC' protein interacts with E-cadherin and beta-catenin strengthening cell-cell adhesion of HCT116 colon cancer cells. *Oncogene*. 2018;37:663-72.
16. Wang T, Zou W, Niu C, Ding F, Wang Y, Cai S, et al. Brg1 inhibits E-cadherin expression in lung epithelial cells and disrupts epithelial integrity. *J Mol Med (Berl)*. 2017;95:1117-26.
17. Lögters T, Margraf S, Altrichter J, Cinatl J, Mitzner S, Windolf J, Scholz M. The clinical value of neutrophil extracellular traps. *Med Microbiol Immunol*. 2009;198:211-9.
18. Grommes J, Soehnlein O. Contribution of neutrophils to acute lung injury. *Mol Med*. 2011;17:293-307.
19. Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammollo CT, Semeraro F, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med*. 2009;15:1318-21.
20. Pieterse E, Rother N, Garsen M, Hofstra JM, Satchell SC, Hoffmann M, et al. Neutrophil extracellular traps drive endothelial-to-mesenchymal transition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37:1371-9.
21. Nakazawa D, Kumar SV, Marschner J, Desai J, Holderied A, Rath L, et al. Histones and neutrophil extracellular traps enhance tubular necrosis and remote organ injury in ischemic AKI. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28:1753-68.
22. Kalbitz M, Fattahi F, Grailer JJ, Jajou L, Malan EA, Zetoune FS, et al. Complement-induced activation of the cardiac NLRP3 inflammasome in sepsis. *FASEB J*. 2016;30:3997-4006.
23. Fattahi F, Frydrych LM, Bian G, Kalbitz M, Herron TJ, Malan EA, et al. Role of complement C5a and histones in septic cardiomyopathy. *Mol Immunol*. 2018;102:32-41.
24. Sanghvi S, Waqar F, Effat M. Coronary thrombosis in acute pancreatitis. *J Thromb Thrombolysis*. 2019;47:157-61.
25. Gao X, Hao S, Yan H, Ding W, Li K, Li J. Neutrophil extracellular traps contribute to the intestine damage in endotoxemic rats. *J Surg Res*. 2015;195:211-8.
26. Oh C, Verma A, Aachoui Y. Caspase-11 non-canonical inflammasomes in the lung. *Front Immunol*. 2020;11:1895.
27. Wu XB, Sun HY, Luo ZL, Cheng L, Duan XM, Ren JD. Plasma-derived exosomes contribute to pancreatitis-associated lung injury by triggering NLRP3-dependent pyroptosis in alveolar macrophages. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866:165685.
28. Guo Y, Zeng H, Gao C. The role of neutrophil extracellular traps in central nervous system diseases and prospects for clinical application. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:9931742.
29. Phillipson M, Kubes P. The neutrophil in vascular inflammation. *Nature Med*. 2011;17:1381-90.
30. Söderberg D, Segelmark M. Neutrophil extracellular traps in ANCA-Associated vasculitis. *Front Immunol*. 2016;7:256.
31. Hilscher MB, Shah VH. Neutrophil Extracellular traps and liver disease. *Semin Liver Dis*. 2020;40(2):171-9.
32. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, Schatzberg D, Monestier M, Myers DD Jr, et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:15880-5.
33. Livesey KM, Tang D, Zeh HJ, Lotze MT. Autophagy inhibition in combination cancer treatment. *Curr Opin Investig Drugs*. 2009;10:1269-79.
34. Pham DL, Ban GY, Kim SH, Shin YS, Ye YM, Chwae YJ, Park HS. Neutrophil autophagy and extracellular DNA traps contribute to airway inflammation in severe asthma. *Clin Exp Allerg*. 2017;47:57-70.
35. Boone BA, Murthy P, Miller-Ocun J, Doerfler WR, Ellis JT, Liang X, et al. Chloroquine reduces hypercoagulability in pancreatic cancer through inhibition of neutrophil extracellular traps. *BMC Cancer*. 2018;18:678.
36. 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;10:28.
37. Abdulla A, Awla D, Thorlacius H, Regner S. Role of neutrophils in the activation of trypsinogen in severe acute pancreatitis. *J Leukoc Biol*. 2011;90:975-82.
38. Kolaczowska E, Jenne CN, Surewaard BG, Thanabalasuriar A, Lee WY, Sanz MJ, et al. Molecular mechanisms of NET formation and degradation revealed by intravital imaging in the liver vasculature. *Nat Commun*. 2015;6:6673.
39. Knight JS, Zhao W, Luo W, Subramanian V, O'Dell

- AA, Yalavarthi S, et al. Peptidylarginine deiminase inhibition is immunomodulatory and vasculoprotective in murine lupus. *J Clin Invest*. 2013 Jul;123(7):2981-93.
40. 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(7):11850-60.
41. 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(12):1618-30.
42. 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.
43. Wu Z, Lu G, Zhang L, Ke L, Yuan C, Ma N, et al. Protectin D1 decreases pancreatitis severity in mice by inhibiting neutrophil extracellular trap formation. *Int Immunopharmacol*. 2021;94:107486.
44. Li X, Li C, Liang W, Bi Y, Chen M, Dong S. Protectin D1 promotes resolution of inflammation in a murine model of lipopolysaccharide-induced acute lung injury via enhancing neutrophil apoptosis. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127(5):810-4.
45. Duffield JS, Hong S, Vaidya VS, Lu Y, Fredman G, Serhan CN, Bonventre JV. Resolvin D series and protectin D1 mitigate acute kidney injury. *J Immunol*. 2006 Nov 1;177(9):5902-11.
46. Serhan CN, Gotlinger K, Hong S, Arita M. Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their aspirin-triggered endogenous epimers: an overview of their protective roles in catabasis. *Prostaglandin Other Lipid Mediat*. 2004 Apr;73(3-4):155-72.
47. Serhan CN. Resolution phase of inflammation: novel endogenous anti-inflammatory and proresolving lipid mediators and pathways. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:101-37.
48. Wang X, Li W, Zhang F, Pan L, Li N, Li J. Fish oil-supplemented parenteral nutrition in severe acute pancreatitis patients and effects on immune function and infectious risk: a randomized controlled trial. *Inflammation*. 2009 Oct;32(5):304-9.
49. Jeong Y, Lee S, Lim J, Kim H. Docosahexaenoic acid inhibits cerulein-induced acute pancreatitis in rats. *Nutrients*. 2017 Jul 12;9(7):744.
50. 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*. 2019 Oct 8:e129270.
51. Gui F, Zhang Y, Wan J, Zhan X, Yao Y, Li Y, et al. Trypsin activity governs increased susceptibility to pancreatitis in mice expressing human PRSS1R122H. *J Clin Invest*. 2020 Jan 2;130(1):189-202.
52. Majewski P, Majchrzak-Gorecka M, Grygier B, Skrzyszowska-Moncznik J, Osiecka O, Cichy J. Inhibitors of serine proteases in regulating the production and function of neutrophil extracellular traps. *Front Immunol*. 2016 Jun 30;7:261.
53. Ricklin D, Mastellos DC, Reis ES, Lambris JD. The renaissance of complement therapeutics. *Nat Rev Nephrol*. 2018 Jan;14(1):26-47.
54. Joshi MB, Lad A, Bharath Prasad AS, Balakrishnan, L Ramachandra, K Satyamoorthy High glucose modulates IL-6 mediated immune homeostasis through impeding neutrophil extracellular trap formation. *FEBS Lett*. 2013 Jul 11;587(14):2241-6.
55. Neubert E, Senger-Sander SN, Manzke VS, Busse J, Polo E, Scheidmann SEF, et al. Serum and serum albumin inhibit *in vitro* formation of Neutrophil Extracellular Traps (NETs). *Front Immunol*. 2019 Jan 24;10:12.
56. Jimenez-Alcazar M, Rangaswamy C, Panda R, Bitterling J, Simsek YJ, Long AT, et al. Host DNases prevent vascular occlusion by neutrophil extracellular traps. *Science*. 2017;358:1202-6.
57. Schauer C, Janko C, Munoz LE, Zhao Y, Kienhöfer D, Frey B, et al. Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines. *Nat Med*. 2014 May;20(5):511-7.
58. Liang Y, Wang X, He D, You Q, Zhang T, Dong W, Fei J, Xing Y, Wu J. Ameliorating gut microenvironment through staphylococcal nuclease-mediated intestinal NETs degradation for prevention of type 1 diabetes in NOD mice. *Life Sci*. 2019 Mar 15;221:301-10.
59. Duarte S, Matian P, Ma S, Busuttill RW, Coito AJ. Adeno-associated virus-mediated gene transfer of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 impairs neutrophil extracellular trap formation and ameliorates hepatic ischemia and reperfusion injury. *Am J Pathol*. 2018 Aug;188(8):1820-32.
60. Lazarevic-Pasti T, Leskovac A, Vasic V. Myeloperoxidase inhibitors as potential drugs. *Curr Drug Metab*. 2015;16:168-90.
61. Yang R, Tenhunen J, Tonnessen TI. HMGB1 and histones play a significant role in inducing systemic inflammation and multiple organ dysfunctions in severe acute pancreatitis. *Int J Inflamm*. 2017;2017:1817564.
62. de-Madaria E, Molero X, Bonjoch L, Casas J, Cárdenas-Jaén K, Montenegro A, Closa D. Oleic acid chlorohydrin, a new early biomarker for the prediction of acute pancreatitis severity in humans. *Ann Intens Care*. 2018 Jan 9;8(1):1.
63. Ghari F, Quirke AM, Munro S, Kawalkowska J, Picaud S, McGouran J, et al. Citrullination-acetylation interplay guides E2F-1 activity during the inflammatory response. *Sci Adv*. 2016 Feb 5;2(2):e1501257.
64. 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 Aug;106(2):455-66.
65. 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.
66. 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.
67. 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.

*Матеріал надійшов
до редакції 15.09.2022*