

## ОБЗОРЫ

## REVIEWS

## Роль лейкоцитов в формировании нейтрофильных внеклеточных ловушек и тромбообразовании при Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях (обзор литературы)

## The Role of Leukocytes in the Formation of Neutrophil Extracellular Traps and Thrombosis in Ph-Negative Myeloproliferative Neoplasms: A Literature Review

**Б.Т. Джумабаева**

**BT Dzhumabaeva**

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России,  
Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167

National Research Center for Hematology,  
4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

## РЕФЕРАТ

## ABSTRACT

Тромботические осложнения нередко служат причиной смерти пациентов с хроническими Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями (МПН). Несмотря на многочисленные исследования, патогенез тромбообразования при МПН остается неясным. Его механизм сложный, многофакторный. Один из основных этапов тромбогенеза характеризуется активацией клеточных механизмов и образованием нейтрофильных внеклеточных ловушек (neutrophil extracellular traps — NET). NET состоят из нитей ДНК, гистонов, гранулярных белков и наряду с уничтожением патогенов обеспечивают идеальную матрицу для активации тромбоцитов и механизмов коагуляции.

Thrombotic complications often cause death in patients with chronic Ph-negative myeloproliferative neoplasms (MPNs). In spite of numerous studies, the pathogenesis of thrombus formation in MPN patients remains unclear. Its mechanism is complex and is determined by many factors. One of the essential phases in thrombogenesis is characterized by the activation of cell mechanisms and formation of neutrophil extracellular traps (NETs). NETs consist of DNA strands, histones, granular proteins and along with pathogen destruction provide an ideal matrix for platelet and clotting mechanism activation.

**Ключевые слова:** миелопролиферативные новообразования, нейтрофилы, тромбоз, нейтрофильные внеклеточные ловушки (NET).

**Keywords:** myeloproliferative neoplasms, neutrophils, thrombosis, neutrophil extracellular traps (NETs).

**Получено:** 14 декабря 2022 г.

**Received:** December 14, 2022

**Принято в печать:** 29 мая 2023 г.

**Accepted:** May 29, 2023

*Для переписки:* Болдукиз Толгонбаевна Джумабаева, д-р мед. наук, Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167; тел.: +7(495)612-64-63, +7(926)271-92-82; e-mail: bola.blood@yandex.ru

*For correspondence:* Boldukiz Tolgonbaevna Dzhumabaeva, MD, PhD, 4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167; Tel.: +7(495)612-64-63, +7(926)271-92-82; e-mail: bola.blood@yandex.ru

*Для цитирования:* Джумабаева Б.Т. Роль лейкоцитов в формировании нейтрофильных внеклеточных ловушек и тромбообразовании при Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях (обзор литературы). Клиническая онкогематология. 2023;16(3):263–7.

*For citation:* Dzhumabaeva BT. The Role of Leukocytes in the Formation of Neutrophil Extracellular Traps and Thrombosis in Ph-Negative Myeloproliferative Neoplasms: A Literature Review. Clinical oncohematology. 2023;16(3):263–7. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2023-16-3-263-267

DOI: 10.21320/2500-2139-2023-16-3-263-267

## ВВЕДЕНИЕ

Миелопролиферативные новообразования (МПН) представляют собой клональные заболевания,

характеризуются пролиферацией одной или более клеточной линии миелопоэза в костном мозге с признаками сохранения терминальной дифференцировки и изменением показателей периферической крови. В соответствии с классификацией ВОЗ 2016 г.

к не связанным с филадельфийской хромосомой (Ph-негативным) МПН относятся истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) и первичный миелофиброз (ПМФ). Все эти заболевания имеют общую клиническую симптоматику, молекулярную основу (мутации в генах *JAK2*, *MPL*, *CALR*) и склонность к лейкозной трансформации [1]. При МПН происходят не только количественные (лейкоцитоз, эритроцитоз, тромбоцитоз), но и качественные изменения кровяных клеток, вызывающие переключение их с покоящегося на прокоагулянтный фенотип [2, 3].

Тромботические осложнения наблюдаются у  $1/3$  пациентов с МПН [4–6] и являются одной из основных причин, преимущественно у больных моложе 50 лет [4, 6]. При МПН артериальные тромбозы встречаются в 3 раза чаще, а риск венозной тромбоэмболии в 10 раз выше по сравнению с общей популяцией [6, 7]. Микрососудистые тромбозы сопровождаются следующими клиническими симптомами: головная боль, миалгия, транзиторная ишемическая атака, дисфункция коронарных артерий.

Генез тромбообразования при Ph-негативных МПН сложный и многофакторный. Имеет значение взаимодействие специфических для пациента факторов (таких, как возраст, тромбоз в анамнезе, сердечно-сосудистые факторы риска) и самого заболевания. В последние десятилетия получены многочисленные клинические и биологические данные, подтверждающие роль лейкоцитов в тромбообразовании у пациентов с Ph-негативными МПН [3, 8–11]. Так, при исследовании в клинике Мейо у 322 пациентов с ЭТ было установлено, что частота тромботических осложнений в период постановки диагноза и последующего наблюдения оказалась значительно выше у больных с исходным числом лейкоцитов более  $15 \times 10^9/\text{л}$  [8, 9]. По данным крупнейшего эпидемиологического исследования ECLAP (European collaboration on low-dose aspirin in polycythemia vera), включавшего более 1600 пациентов, исходный лейкоцитоз с числом лейкоцитов более  $15 \times 10^9/\text{л}$  по сравнению с  $10 \times 10^9/\text{л}$  оказался предвестником развития острого инфаркта миокарда [12]. Итальянская группа исследователей отмечает, что гиперлейкоцитоз во время первого тромботического события может служить предиктором рецидивирующих артериальных тромбозов у пациентов с Ph-негативными МПН низкого риска [13].

Недавний метаанализ статей, опубликованных за последние 12 лет, по определению роли повышенного числа лейкоцитов в тромбообразовании включал более 30 000 пациентов с ЭТ и ИП [14]. Результаты показали, что гиперлейкоцитоз часто встречается при ЭТ и ИП. В 5 исследованиях, включенных в этот метаанализ, подтверждена зависимость между лейкоцитозом и развитием тромботических событий [14–17]. Однако в большинстве работ, вошедших в метаанализ, учитывалось количество лейкоцитов только при постановке диагноза или во время включения в исследование, а общее число тромботических событий оценивалось без уточнения характера тромбоза (артериального или венозного). Кроме того, пороговые значения лейкоцитоза различались в разных исследованиях и при разных заболеваниях: ЭТ —  $8,4\text{--}15,0 \times 10^9/\text{л}$ , ИП —  $9,5\text{--}25,0 \times 10^9/\text{л}$ . Работы

носили в основном ретроспективный характер. В целом можно заключить, что вопрос взаимосвязи между персистирующим лейкоцитозом и риском тромбозов при Ph- МПН остается нерешенным.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТРОМБОЦИТОВ И ЛЕЙКОЦИТОВ В ПРОЦЕССЕ ТРОМБООБРАЗОВАНИЯ ПРИ Ph-НЕГАТИВНЫХ МПН

Патофизиологическая роль лейкоцитов в образовании тромбов при МПН объясняется прежде всего увеличением клеточного компонента и взаимодействием их с активированными тромбоцитами и эндотелием сосудов.

Трансформированные гемопоэтические стволовые клетки при МПН образуют аномальные тромбоциты с повышенной реактивностью [18]. Из  $\alpha$ -гранул активированных тромбоцитов происходит высвобождение P-селектина, который связывается с PSGL-1 нейтрофилов. Кроме того, из активированных тромбоцитов высвобождаются провоспалительные хемокины, такие как CCL5 (RANTES) и тромбоцитарный фактор 4 (PF4), которые дополнительно усиливают активацию лейкоцитов [10, 19–22].

Нейтрофилы, несущие мутацию V617F в гене *JAK2*, характеризуются повышенной активацией  $\beta$ 1- и  $\beta$ 2-интегринов, что приводит к повышению адгезии к молекулам VCAM и ICAM1 эндотелия сосудов. Из активированных нейтрофилов высвобождаются протеазы, которые усиливают адгезивную активность рецепторов эндотелия (Mac-1, PSGL-1, TREM-1L, CD14, LAP) и адгезию тромбоцитов к поврежденной стенке сосудов [23–25]. За счет высвобождения эластазы, миелопероксидазы и катепсина G (CatG) из нейтрофилов происходит активация тромбоцитов [26].

В свою очередь, тромбоциты усиливают активацию лейкоцитов благодаря высвобождению CCL5 (RANTES) и PF4. Нейтрофилы связываются с активированными тромбоцитами с помощью двух пар рецептор-лиганд: P-селектин–PSGL-1 и GPIIb/IIIa–Mac-1. В результате образуются тромбоцитарно-нейтрофильные комплексы и тромбоцитарно-моноцитарные агрегаты, индуцирующие формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек (рис. 1) [26, 27]. Таким образом, нейтрофилы и тромбоциты моделируют функцию друг друга.

## ПРОЦЕСС ФОРМИРОВАНИЯ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ В ТРОМБООБРАЗОВАНИИ ПРИ Ph-НЕГАТИВНЫХ МПН

Нейтрофильные внеклеточные ловушки (neutrophil extracellular traps — NET) представляют собой внеклеточную волокнистую сеть, которая служит медиатором антибактериальной функции нейтрофилов, а также обеспечивает основу для индукции прокоагулянтной активности. Формирование NET — сложный и динамичный процесс, в который вовлечены не только нейтрофилы, но и другие циркулирующие клетки крови,

такие как моноциты и тромбоциты. При активации нейтрофилы прикрепляются к эндотелию, а гранулярные ферменты (миелопероксидаза и эластаза) внедряются в ядро. Последние вместе с активацией пептидиларгининдеамины 4 (PAD4) способствуют деконденсации хроматина, а также потере дольковой формы ядер нейтрофилов [28, 29]. Из нейтрофилов с или без разрыва его ядерной оболочки высвобождается паутинообразная структура, состоящая из филаментов ДНК, покрытых гистонами и гранулярными белками, которые называются нейтрофильными внеклеточными ловушками (рис. 2) [30–32].

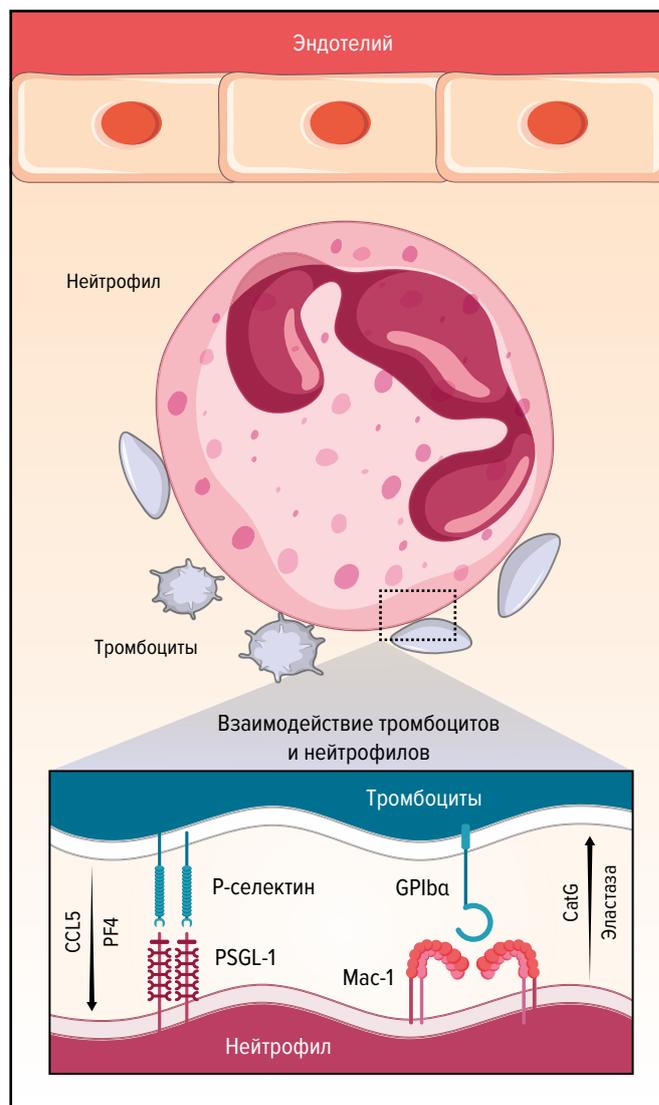
Свободно циркулирующая ДНК имеет отрицательный заряд, вызывает активацию плазменного фактора FXII и тем самым инициирует внутренний путь коагуляции. Это способствует цепной активации ряда коагуляционных белков, что приводит к образованию фибрина и на конечном этапе — к формированию тромба [33].

Гистоны являются наиболее распространенными белками в NET. Они имеют положительный заряд и отвечают за упаковку генетического материала. Гистоны 3 и 4 (H3 и H4 соответственно) активируют тромбоциты, способствуя их агрегации и образованию тромбина путем снижения активации тромбомодулина, зависящего от протеина С [34, 35].

Наиболее распространенными белками в NET после гистонов являются эластаза и катепсин G. Эластаза находится в ацидофильных гранулах нейтрофилов, одна из ее функций заключается в элиминации продуктов тканевой деградации патогенов. В контексте тромбообразования эластаза вызывает активацию двух важных природных антикоагулянтов: ингибитора пути тканевого фактора (TFPI) и антитромбина [36, 37]. Кроме того, эластаза способствует адгезии тромбоцитов к эндотелию сосудов с помощью фактора фон Виллебранда. Катепсин G также ингибирует активность TFPI, индуцирует сигнальный путь протеазного рецептора 4 (PAR4) на тромбоцитах и тем самым усиливает тромбообразование. Экспериментально доказано, что мыши с дефицитом эластазы и катепсина G отличаются нарушением активации тканевого фактора, дефектами в образовании фибрина и стабилизации тромба [34].

В NET идентифицирован также тканевой фактор, который высвобождается не только из моноцитов, но и из нейтрофилов. Тканевой фактор активирует тромбоциты и внешний путь коагуляции, что вносит дополнительный вклад в тромбообразование при МПН [38].

Таким образом, нейтрофилы играют стратегическую роль в формировании NET. Эти ловушки состоят из нитей свободно циркулирующей ДНК, гистонов и белков гранул нейтрофилов. Они индуцируют прокоагулянтную реакцию и служат каркасом для тромбообразования. NET способствуют окклюзии сосудов, обеспечивая основу для тромбоцитов, эритроцитов, внеклеточных везикул и прокоагулянтных молекул, таких как фактор фон Виллебранда и тканевой фактор. Кроме того, компоненты NET усиливают коагуляцию за счет как активации внутреннего пути, так и деградации TFPI. Тем не менее молекулярные механизмы, приводящие к тромбообразованию при МПН, остаются не до конца изученными. Существует



**Рис. 1.** Взаимодействие тромбоцитов и нейтрофилов в процессе тромбообразования (цит. по [11])

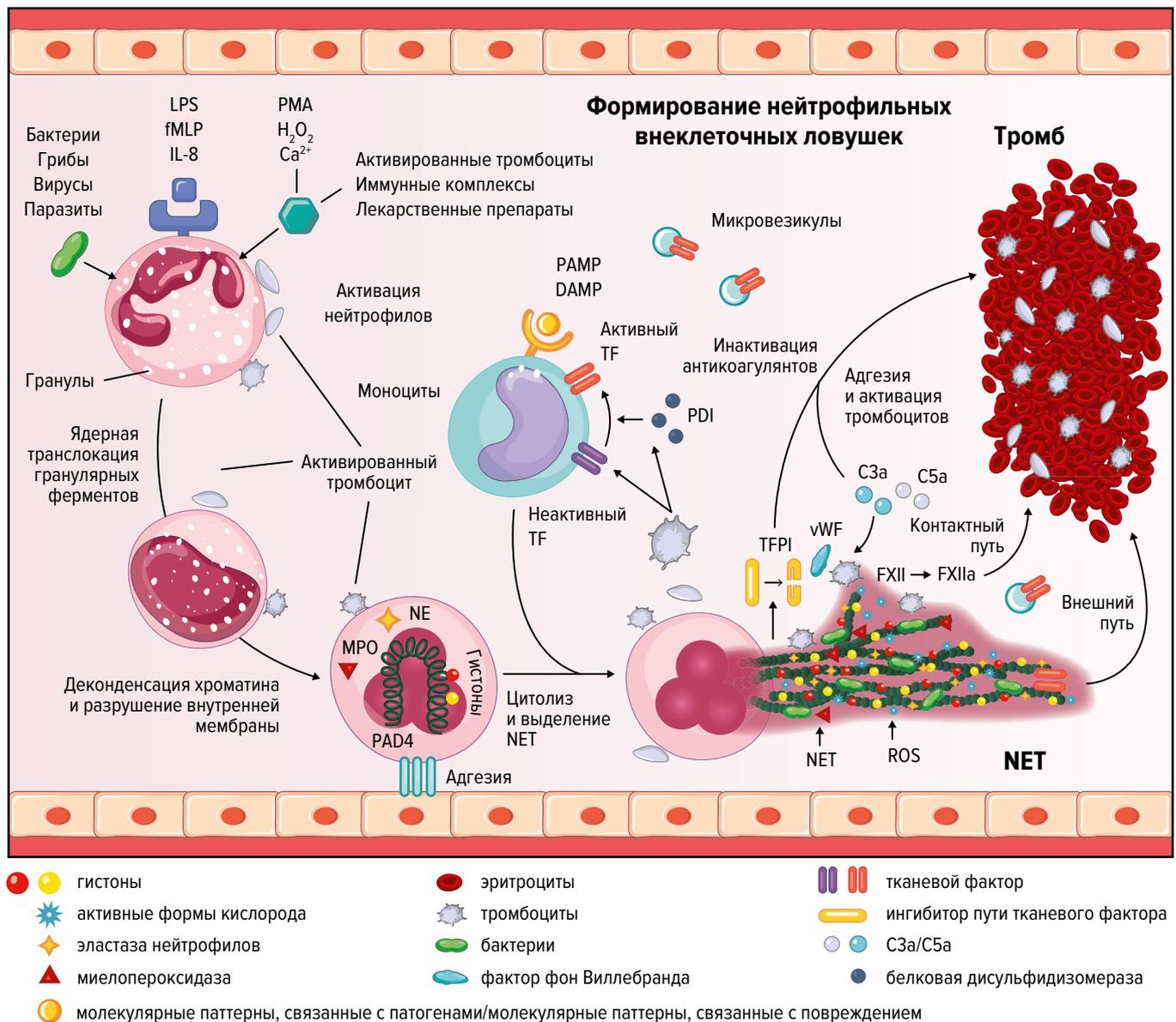
CatG — катепсин G; CCL5 — мотив C-C хемокина 5; GPIIb —  $\alpha$ -цепь гликопротеина тромбоцитов Ib; Mac-1 — антиген макрофага-1; PF4 — тромбоцитарный фактор 4; PSGL-1 — лиганд-1 гликопротеина P-селектина.

**Fig. 1.** Platelet-neutrophil interaction in thrombus formation (quoted from [11])

CatG — cathepsin G; CCL5 — C-C motif chemokine 5; GPIIb — platelet glycoprotein Ib alpha chain; Mac-1 — macrophage-1 antigen; PF4 — platelet factor 4; PSGL-1 — P-selectin glycoprotein ligand 1.

ряд противоречивых данных в вопросах влияния различных факторов на формирование NET.

Повышенное образование NET наблюдалось преимущественно при наличии мутации в генах *JAK2* (V617F) и *CALR* [39]. Уровни триггерного значения NET, усиливающих тромбообразование, были явно выше у пациентов с МПН, чем у здоровых доноров. Частота формирования NET была самой низкой у пациентов, не нуждающихся в назначении циторедуктивной терапии. Ни мутационный статус гена *JAK2*, ни тромбоэмболические осложнения в анамнезе не были связаны с частотой образования NET [39]. Вероятно, тромбоцические события могли быть вызваны и дополнительными, частично не известными факторами. Имеет значение также, что в клинические исследования включалась неоднородная группа пациентов с



**Рис. 2.** Формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек (цит. по [11])

DAMP — молекулярный паттерн, связанный с повреждением; fMLP — N-формилметионил-лейцил-фенилаланин; IL-8 — интерлейкин-8; LPS — липополисахарид; MPO — миелопероксидаза; NE — эластаза нейтрофилов; NET — нейтрофильные внеклеточные ловушки; PAD4 — пептидиларгининдеаминаза 4; PAMP — молекулярный паттерн, связанный с патогеном; PDI — белковая дисульфидизомераза; PMA — форбол 12-миристинат 13-ацетат; ROS — активные формы кислорода; TF — тканевой фактор; TFPI — ингибитор пути тканевого фактора; vWF — фактор фон Виллебранда.

**Fig. 2.** Generation of neutrophil extracellular traps (quoted from [11])

DAMP — damage-associated molecular pattern; fMLP — N-Formylmethionyl-leucyl-phenylalanine; IL-8 — interleukin-8; LPS — lipopolysaccharide; MPO — myeloperoxidase; NE — neutrophil elastase; NET — neutrophil extracellular traps; PAD4 — peptidyl arginine deaminase 4; PAMP — pathogen-associated molecular pattern; PDI — protein disulfide isomerase; PMA — phorbol 12-myristate 13-acetate; ROS — reactive oxygen species; TF — tissue factor; TFPI — tissue factor pathway inhibitor; vWF — Von Willebrand factor.

МПН с точки зрения течения заболевания, его лечения и выраженности коморбидности.

Для уточнения, является ли NET главным игроком в каскаде событий, лежащих в основе тромбообразования при Rh-негативных МПН, следует провести сравнительный анализ у пациентов с МПН и без таковых. Таких данных в литературе нет.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тромботические осложнения при Rh-негативных МПН представляют собой актуальную клиническую

проблему в связи с их отрицательным влиянием на клиническое течение заболевания, сложностью их лечения и высокой летальностью. В тромбогенезе при МПН важное значение имеет активация тромбоцитов, нейтрофилов и образование тромбоцитарно-нейтрофильных комплексов, тромбоцитарно-моноцитарных агрегатов и NET. Неконтролируемое формирование NET в кровеносных сосудах может составлять решающую биологическую основу для развития тромботических нарушений, включая венозный, артериальный тромбозы и тромбоз микрососудов. Дальнейшее изучение механизмов образования NET позволит выделить потенциальные мишени для разработки

методов профилактики и лечения тромботических осложнений у пациентов с Ph-негативными МПН. Блокирование образования NET может стать эффективным лечебным подходом, позволяющим предотвращать тромботические осложнения при Ph– МПН.

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликтов интересов.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Rumi E, Cazzola M. Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017;129(6):680–92. doi: 10.1182/blood-2016-10-695957.
- Falanga A, Marchetti M. Thrombosis in Myeloproliferative Neoplasms. *Semin Thromb Hemost*. 2014;40(3):348–58. doi: 10.1055/s-0034-1370794.
- Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood*. 2013;122(13):2176–84. doi: 10.1182/blood-2013-03-460154.
- Artoni A, Bucciarelli P, Martinelli I. Cerebral thrombosis and myeloproliferative neoplasms. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2014;14(11):496. doi: 10.1007/s11910-014-0496-y.
- Kaifia A, Kirschner M, Wolf D, et al. Study Alliance Leukemia (SAL). Bleeding, thrombosis, and anticoagulation in myeloproliferative neoplasms (MPN): analysis from the German SAL-MPN-registry. *J Hematol Oncol*. 2016;9(1):18. doi: 10.1186/s13045-016-0242-9.
- Hultcrantz M, Björkholm M, Dickman PW, et al. Risk for arterial and venous thrombosis in patients with myeloproliferative neoplasms: A population-based cohort study. *Ann Intern Med*. 2018;168(5):317–25. doi: 10.7326/M17-0028.
- Smalberg JH, Arends LR, Valla DC, et al. Myeloproliferative neoplasms in Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: a meta-analysis. *Blood*. 2012;120(25):4921–8. doi: 10.1182/blood-2011-09-376517.
- Gangat N, Wolanskyj AP, Schwager SM, et al. Leukocytosis at diagnosis and the risk of subsequent thrombosis in patients with low-risk essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Cancer*. 2009;115(24):5740–5. doi: 10.1002/cncr.24664
- Tefferi A, Gangat N, Wolanskyj A. The interaction between leukocytosis and other risk factors for thrombosis in essential thrombocythemia. *Blood*. 2007;109(9):4105. doi: 10.1182/blood-2007-01-066985.
- Marin Oyarzun C.P, Heller P.G. Platelets as mediators of thromboinflammation in chronic myeloproliferative neoplasms. *Front Immunol*. 2019;10:1373. doi: 10.3389/fimmu.2019.01373.
- Ferrer-Marin F, Cuenca-Zamora EJ, Gujjarro-Carrillo PJ, Teruel-Montoya R. Emerging Role of Neutrophils in the Thrombosis of Chronic Myeloproliferative Neoplasms. *Int J Mol Sci*. 2021;22(3):1143. doi: 10.3390/ijms22031143.
- Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, et al. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood*. 2007;109(6):2446–52. doi: 10.1182/blood-2006-08-042515.
- Tefferi A, Pardanani A. Myeloproliferative neoplasms: A contemporary review. *JAMA Oncol*. 2015;1(1):97–105. doi: 10.1001/jamaonc.2015.89.
- Carobbio A, Ferrari A, Masciulli A, et al. Leukocytosis and thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: A systematic review and meta-analysis. *Blood Adv*. 2019;3(11):1729–37. doi: 10.1182/bloodadvances.
- Barbui T, Carobbio A, Rambaldi A, Finazzi G. Perspectives on thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: Is leukocytosis a causative factor? *Blood*. 2009;114(4):759–63. doi: 10.1182/blood-2009-02-206797.
- Campbell PJ, MacLean C, Beer PA, et al. Correlation of blood counts with vascular complications in essential thrombocythemia: Analysis of the prospective PT1 cohort. *Blood*. 2012;120(7):1409–11. doi: 10.1182/blood-2012-04-424911.
- Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, et al. Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: An international study of 891 patients. *Blood*. 2011;117(22):5857–9. doi: 10.1182/blood-2011-02-339002.
- Repsold L, Joubert AM. Platelet Function, Role in Thrombosis, Inflammation, and Consequences in Chronic Myeloproliferative Disorders. *Cells*. 2021;10(11):3034. doi: 10.3390/cells10113034.
- Nangalia J, Green AR. Myeloproliferative neoplasms: From origins to outcomes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2017;2017(1):470–9. doi: 10.1182/asheducation-2017.1470.
- Wolach O, Sellar RS, Martinod K, et al. Increased neutrophil extracellular trap formation promotes thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Sci Transl Med*. 2018;10(436):eaan8292. doi: 10.1126/scitranslmed.aan8292.
- Wilkins BS. Myeloproliferative neoplasms. *Diagn Histopathol*. 2021;27(9):373–9.
- Harrison CN, Lee JS. Myeloproliferative neoplasms. *Medicine*. 2017;45:275–9.
- Edelmann B, Gupta N, Schnoeder TM, et al. JAK2-V617F promotes venous thrombosis through  $\beta 1/\beta 2$  integrin activation. *J Clin Invest*. 2018;128(10):4359–71. doi: 10.1172/JCI90312.
- Falanga A, Marchetti M, Barbui T, Smith CW. Pathogenesis of Thrombosis in Essential Thrombocythemia and Polycythemia Vera: The Role of Neutrophils. *Semin Hematol*. 2005;42(4):239–47. doi: 10.1053/j.seminhematol.2005.05.023.
- Gupta N, Edelmann B, Schnoeder TM, et al. JAK2-V617F activates  $\beta 1$ -integrin-mediated adhesion of granulocytes to vascular cell adhesion molecule 1. *Leukemia*. 2017;31(5):1223–6. doi: 10.1038/leu.2017.26.
- Lisman T. Platelet–neutrophil interactions as drivers of inflammatory and thrombotic disease. *Cell Tissue Res*. 2018;37(3):567–76. doi: 10.1007/s00441-017-2727-4.
- Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larran A, Reverter JC, et al. Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status. *Haematologica*. 2006;91(2):169–75.
- Li P, Li M, Lindberg MR, et al. PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*. 2010;207(9):1853–62. doi: 10.1084/jem.20100239.
- Leshner M, Wang S, Lewis C, et al. PAD4 mediated histone hypercitrullination induces heterochromatin decondensation and chromatin unfolding to form neutrophil extracellular trap-like structures. *Front Immunol*. 2012;3:307. doi: 10.3389/fimmu.2012.00307.
- Thalin S, Hisada Y, Lundstrom S, et al. Neutrophil Extracellular Traps: Villains and Targets in Arterial, Venous, and Cancer-Associated Thrombosis Review. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2019;39(9):1724–38. doi: 10.1161/ATVBAHA.119.312463.
- Jorch SK, Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med*. 2017;23(3):279–87. doi: 10.1038/nm.4294.
- Desai J, Mulay SR, Nakazawa D, Anders HJ. Matters of life and death. How neutrophils die or survive along NET release and is “NETosis” = necroptosis? *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(11–12):2211–9. doi: 10.1007/s00018-016-2195-0.
- Von Bruhl ML, Stark K, Steinhart A, et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med*. 2012;209(4):819–35. doi: 10.1084/jem.20112322.
- Massberg S, Grahl L, von Bruhl M-L, et al. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat Med*. 2010;16(8):887–96. doi: 10.1038/nm.2184.
- Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(36):15880–5. doi: 10.1073/pnas.1005743107.
- Stappich BA, Seitz I, Busch G, et al. Modulation of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor-1 by neutrophil proteases. *Thromb Haemost*. 2008;100(6):1068–75.
- Jorda RE, Nelson RM, Kilpatrick J, et al. Inactivation of human antithrombin by neutrophil elastase. Kinetics of the heparin-dependent reaction. *J Biol Chem*. 1989;264(18):10493–500.
- Kambas K, Mitroulis I, Ritis K. The emerging role of neutrophils in thrombosis—the journey of TF through NETs. *Front Immunol*. 2012;3:385. doi: 10.3389/fimmu.2012.00385.
- Schmidt S, Danilants D, Hiller E, et al. Increased levels of NETosis in myeloproliferative neoplasms are not linked to thrombotic events. *Blood Adv*. 2021;5(18):3515–27. doi: 10.1182/bloodadvances.2020004061.