
ОБЗОРНЫЕ
И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

ТРОМБИН – СВЯЗУЮЩЕЕ ЗВЕНО
МЕЖДУ ГЕМОСТАЗОМ И ВОСПАЛЕНИЕМ

© 2023 г. Э. А. Старикова^{1, 2, 3, *}, Дж. Т. Маммедова¹, О. Я. Порембская^{1, 4}

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова
Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

⁴Северо-Западный государственный университет им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: Starickova@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.08.2023 г.

После доработки 22.09.2023 г.

Принята к публикации 22.09.2023 г.

Гемостаз и реакции иммунитета представляют собой эволюционно и функционально связанные системы, от скоординированной работы которых зависят жизненно важные процессы — защита от кровопотери и патогенов. Тромбин — центральный фермент системы коагуляции, который обладает выраженной провоспалительной активностью и играет важную роль в патогенезе широкого спектра заболеваний инфекционной и неинфекционной природы. Многие гуморальные факторы иммунитета, регулирующие воспаление (IL-1 α , компоненты комплемента) и миграцию клеток в очаг повреждения (остеокальцин, химерин), могут активироваться в результате протеолитического расщепления тромбином. Основные рецепторы тромбина — протеаза-активируемые рецепторы (PARs), экспрессируются на многих клетках иммунной системы и рассматриваются как неклассические паттерн-распознающие рецепторы (PRRs). Действие тромбина на клетки врожденного иммунитета может быть не связано с его ферментативными эффектами. Последние исследования показывают, что тромбин может действовать как алармин, стимулировать созревание дендритных клеток и реакции адаптивного иммунитета. Продукция этого фактора также влияет на поляризацию Т-хелперов, определяющую выбор стратегии защитных реакций. Исследование иммунных функций компонентов системы коагуляции раскрывает новые патогенетические механизмы развития стерильного воспаления и расширяет возможности терапии аллергических, аутоиммунных и нейровоспалительных заболеваний.

Ключевые слова: тромбин, гемостаз, протеаза-активируемый рецептор, воспаление, врожденный иммунитет, адаптивный иммунитет

DOI: 10.31857/S0869813923100114, EDN: CSGJUG

ВВЕДЕНИЕ

Эволюция многоклеточных организмов сопровождалась развитием сложных механизмов защиты, позволяющих противостоять угрозам окружающей среды, связанными с повреждением тканей, кровотечением и инвазией патогенов. В то время как в ходе развития беспозвоночных реализовалась стратегия, при которой

защиту от кровопотери и защиту от инфекции обеспечивает гемолимфа, у позвоночных для решения этих задач сформировались две различные системы защиты: система гемостаза и иммунная система [1]. Неудивительно поэтому, что ферментативные каскады системы коагуляции и различные компоненты иммунитета (система комплемента, система цитокинов, лейкоциты) высоко интегрированы и взаимно регулируются. От скоординированной работы этих процессов зависит выживание организмов. Дисбалансы, которые выражаются в избыточной, стойкой активации системы гемостаза и/или иммунной системы, приводят к дисфункции органов, возникающей при атеросклерозе, инсульте, ишемической болезни сердца, метаболическом синдроме, сепсисе, аутоиммунных/воспалительных нарушениях (артрите, воспалительном заболевании кишечника) и ряде васкулопатических и нейродегенеративных синдромов [2]. Несмотря на очевидную тесную взаимосвязь, реакции гемостаза и иммунные реакции долгое время изучаются как совершенно отдельные защитные системы.

Бесспорно, основной целью гемостаза является остановка кровотечения из поврежденного кровеносного сосуда. Не менее важно, что локальный тромбоз ограничивает возможное распространение микробных патогенов путем создания “механического” барьера [3, 4], поэтому продуцируемые в ходе развития инфекции факторы врожденного иммунитета способны активировать систему гемостаза. Например, компонент лектинового пути каскада комплемента, сериновая протеаза — MASP2 превращает протромбин в тромбин на поверхности бактериальной клетки, что приводит к локальной выработке фибриноген-пептидов [5, 6]. Необходимый для сшивки нитей фибрина фактор XIIIa генерируется в результате тромбиновой активации фактора XIII, и такой же активностью обладает компонент комплемента MASP1 [6, 7]. Комплекс C5b-9 может катализировать превращение протромбина

Список сокращений: ЛПС — липополисахарид; ADP — аденозиндифосфат (adenosine diphosphate); aPC — активированный протеин C (activated protein C); Bcl10 — B-cell lymphoma/leukemia 10; CLR — лектиноподобные рецепторы C-типа (C-type lectin-like receptors); CX3CL1 — фракталкин (fractalkin); DAG — диацилглицерол (diacylglycerol); DAMP — признак повреждения своего (Damage-Associated Molecular Patterns); EPCR — рецептор протеина C эндотелиальных клеток (Endothelial cell protein C receptor); Erk — extracellular signal-regulated kinases; FPR2 — N-formyl peptide receptor 2; GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (granulocyte-macrophage colony stimulating factor); GTP — гуанозинтрифосфат (guanosine triphosphate); ICAM-1 — межклеточная молекула адгезии 1 (intercellular adhesion molecule 1); IFN γ — интерферон γ (interferon γ); IL — интерлейкин (interleukin); iNOS — индуцибельная синтаза оксида азота (Inducible Nitric Oxide Synthase); IP-10 — Interferon gamma-induced protein 10; JNK — c-Jun N-terminal kinases; MALT1 — Mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation protein 1; MAPK — mitogen activated kinase; MASP1–2 — mannose-binding protein-associated serine protease 1, 2; MCP-1 — Monocyte Chemoattractant Protein 1; MCSF — макрофагальный колониестимулирующий фактор (Macrophage colony-stimulating factor); МНСII — главный комплекс гистосовместимости II (main histocompatibility complex II); MIF — фактор, ингибирующий миграцию макрофагов (macrophage migration inhibitory factor); MIP-2 — Macrophage inflammatory protein; MMP-9 — Matrix metalloproteinase 9; MyD88 — Myeloid differentiation primary response gene (88); NET — внеклеточные ловушки нейтрофилов (neutrophil extracellular nets); NLR — NOD-подобные рецепторы (NOD-like receptors); NF- κ B — ядерный фактор κ — усилитель легкой цепи активированных В клеток (Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells); OPN — остеопонтин (osteonectin); PAMP — молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенностью (Pathogen Associated Molecular Patterns); PAR — рецептор, активируемый протеазой (protease-activating receptor); PDGF — Platelet-derived growth factor; PI3K — фосфоинозитид-3-киназа; PKC — Protein kinase C; PLC — фосфолипаза C (Phospholipase C); PRR — рецептор распознавания образов патогенности (pattern recognizing receptor); Ras — Rat sarcoma virus; RhoA — Ras homolog family member A; SMOC1 — Inactivation of secreted modular Ca²⁺-binding protein 1; S1P — сфингозин 1 фосфат (sphingosine 1 phosphate); SphK1 — сфингозинкиназа 1 (sphingosine kinase 1); S1PR — рецептор сфингозин 1 фосфата (sphingosine 1 phosphate receptor); TAFI — активируемый тромбином ингибитор фибринолиза (thrombin induced fibrinolysis factor); TF — тканевой фактор (tissue factor); TGF- β 1 — Transforming growth factor β 1; Th — Т хелпер (T helper cell); Th0 — “наивный” Т хелпер (naïve T helper cell); Thr-OPN — остеопонтин, расщепляемый тромбином (thrombin-cleaved osteonectin); TIL — инфильтрирующие опухоль лимфоциты (Tumor-infiltrating lymphocytes); TLR — толл-подобный рецептор (toll like receptor), TNF α — фактор некроза опухоли α (tumor necrosis factor α); Treg — регуляторный Т хелпер (regulatory T helper, suppressor T helper cell); TRIF — Toll/IL-1R domain-containing adaptor-inducing IFN- β ; TxA2 — тромбоксан A2 (thromboxane A2); VCAM-1 — эндотелиальная молекула адгезии 1 (vascular cell adhesion molecule 1); vWF — фактор фон Виллебранда (von Willebrand factor).

в тромбин [8]. Накапливается все больше данных, которые демонстрируют обратный процесс, когда активные компоненты системы коагуляции запускают воспаление.

Тромбин является центральным ферментом свертывания крови, который инициирует так называемый вторичный гемостаз – превращение фибриногена в фибрин и образование сгустков фибрина. В настоящее время описано 13 функций тромбина в гемостазе [9]. Однако многие биологические процессы, не связанные с коагуляцией, также в значительной степени регулируются с участием этой сериновой протеазы [10]. Тромбин индуцирует секрецию провоспалительных цитокинов эндотелиальными [11, 12], гладкомышечными клетками, перитцитами [13], эпителиальными клетками [14], адипоцитами [15] и иммунными клетками [16–18]. Он оказывает хемотаксическое действие на лейкоциты, индуцирует экспрессию на этих клетках молекул адгезии [19] и способствует высвобождению биологически активных субстанций из тромбоцитов [20]. Тромбин активирует комплемент [21], привлекая иммунные клетки [22, 23] в участки повреждения для быстрого и локализованного воспалительного и прокоагулянтного ответа, модулирует проницаемость сосудов [24–26]. Нарастает количество исследований, в которых зарегистрировано повышение концентрации тромбина при различных хронических заболеваниях [27–30]. С каждым годом появляется все больше данных, подтверждающих важную роль тромбина в патогенезе неинфекционных воспалительных заболеваний – аллергических [31], аутоиммунных [32], нейровоспаления [33] и др. Новый виток интереса к изучению этой протеазы был спровоцирован появлением коронавирусной инфекции 2019 г. (COVID-19), впервые зарегистрированной в Ухане (Китай) декабре 2019 г. [34]. 11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения охарактеризовала чрезвычайную ситуацию в области здравоохранения, связанную с COVID-19, как пандемию [34]. У пациентов с COVID-19 было описано серьезное нарушение регуляции гемостаза, повышение различных параметров свертывания крови, таких как D-димеры, протромбиновое время, фибриноген и продукты его распада [34–38].

В обзоре проводится обобщение и анализ данных о роли тромбина в регуляции реакций иммунитета.

РОЛЬ ТРОМБИНА В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА

Физиологическая инициация каскада свертывания (так называемый внешний путь) реализуется при повреждении сосуда, когда субэндотелиальный тканевой фактор (TF) на поверхности активированных лейкоцитов взаимодействует с фактором VIIa (FVIIa) (рис. 1). В дальнейшем комплекс FVIIa/TF – “внешняя теназа” активирует фактор X (FX). Образовавшийся FXa формирует на фосфолипидной мембране тромбоцитов комплекс “протромбиназы” – FXa/FVa/Ca²⁺, который расщепляет протромбин до тромбина [39, 40].

Внутренний путь коагуляции запускает активация так называемой “контактной системы плазмы”, в состав которой входит две протеазы, фактор Хагемана (FXII) и прекалликреин плазмы, а также неферментативный кофактор – высокомолекулярный кининоген. Эти факторы спонтанно активируются в присутствии отрицательно заряженных поверхностей, которые могут быть неприродного (полимерные поверхности для катетеризации, диализа, сердечно-легочном шунтировании, искусственные клапаны сердца) или природного происхождения (ДНК, РНК, денатурированные белки (например, β-амилоид), открытый коллаген стенки сосуда, полифосфат тромбоцитов, нейтрофильные внеклеточные ловушки) [41–43]. Связывание FXII с такими поверхностями сопровождается конформационными изменениями, приводящими к активации фермента. Кининоген плазмы также обладает

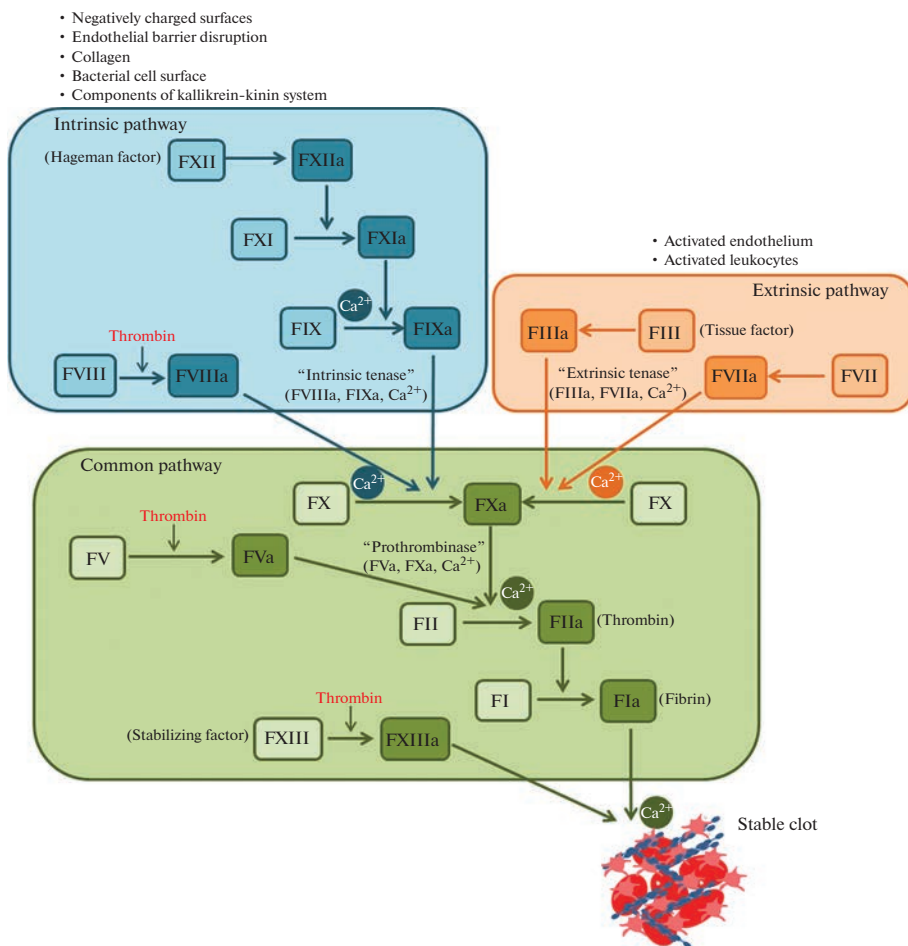


Рис. 1. Ключевая роль тромбина в системе гемостаза.

Тромбин участвует в образовании нитей фибрина (активация FI) и их стабилизации (активация FXIII). Тромбин амплифицирует каскад коагуляции за счет формирования петель обратной положительной связи в рамках внутреннего пути коагуляции (активация FVIII) и общего пути коагуляции (активация FV).

способностью связываться с отрицательно заряженной поверхностью, представляя прекалликреин для протеолиза и активации под действием FXIIa. Активированный калликреин может в свою очередь расщеплять и активировать больше FXII, образуя мощную петлю обратной положительной связи. Ограниченный протеолиз фактора IX (FIX) в FIXa фактором XIa (FXIa) приводит к формированию комплекса “внутренней тенасы” (FIXa/FVIII), который активирует фактор X (FX). Так же как внешний, внутренний путь коагуляции приводит к выработке активированного FXa тромбина, завершается образованием нитей фибрина и стабильного тромбоцитарно-фибринового сгустка [44].

Тромбин не только превращает фибриноген в фибрин, но и активирует другие факторы каскада коагуляции (FV, FVIII, FXIII, протеин С и активируемый тромбином ингибитор фибринолиза – TAFI). По механизму обратной положительной связи тромбин может усиливать свое собственное образование, активируя FV,

FVIII и FXI, которые участвуют в формировании комплекса “альтернативной или внутренней теназы” (VIIIa и IXa). “Внутренняя теназа” поддерживает и усиливает формирование “протромбиназы” и тромбина [39, 40].

Процесс образования кровяного сгустка из активированных тромбоцитов и ковалентно связанного фибрина может запускать накапливающиеся при воспалении и/или повреждении ткани растворимые активаторы тромбоцитов, такие как тромбосан A2 (TxA2), аденозиндифосфат (ADP) и тромбин [45]. Повреждение эндотелия сосудов тоже приводит к попаданию TF и коллагена из субэндотелиальной ткани в кровь и высвобождению преформированных в тельцах Вейбеля–Паладе фактора фон Виллебранда (vWF) и Р-селектина. Под воздействием TF, коллагена и vWF тромбоциты активируются и дополнительно усиливают гемостаз, секретируя преформированные в гранулах TxA2, ADP, фибриноген, а также FV. Даже небольшие количества тромбина могут вызвать свертывание крови и активацию тромбоцитов, которые все вместе образуют гемостатическую пробку [10, 46].

Активность тромбина в крови жестко регулируется. Существуют множественные механизмы ингибирования гемостаза по механизму обратной отрицательной связи, которые локализуют и ограничивают каскад коагуляции и рост тромба. В частности, связывание с тромбомодулином, интегральным мембранным белком, экспрессируемым на эндотелии сосудов, увеличивает сродство тромбина к протеину C и активирует его (aPC). aPC ингибирует протромбиназный комплекс (FXa + FVa) [47]. Для предотвращения случайных, спонтанных или избыточных тромбин-зависимых процессов в организме постоянно продуцируются естественный ингибитор тромбина – антитромбин-III. Свободно циркулирующий тромбин блокируется этим ингибитором. При этом генерация протромбина находится в обратной зависимости от активности антитромбина-III [48].

РЕГУЛЯЦИЯ ПРОДУКЦИИ ТРОМБИНА

Образование тромбина происходит в результате протеолитического расщепления его ферментативно неактивной формы – протромбина. Хотя в организме взрослого человека протромбин в основном синтезируется в гепатоцитах, в меньшем количестве он также образуется в тканях головного мозга [49], в нейронах после церебральной ишемии [50], в эмбриональных тканях [30, 49]. Продукция протромбина усиливается при различных острых и хронических воспалительных процессах [29, 30, 51, 52].

Протеолитическое расщепление протромбина катализируется фактором системы коагуляции FXa и контролируется различными механизмами отрицательной обратной связи (см. выше). Тем не менее мутации, которые просто увеличивают экспрессию протромбина (например, F2 20210 G > A), могут нарушать хорошо сбалансированное равновесие в системе гемостаза [53, 54]. Даже незначительное (в 1.5–1.7 раза) увеличение экспрессии гена протромбина [54, 55] может привести к клинически значимой тромбофилии [56, 57]. Это показывает, что экспрессия протромбина тоже нуждается в жестком контроле, однако лежащие в основе этого процесса молекулярные механизмы слабо изучены.

Вероятными триггерами экспрессии протромбина являются воспалительные процессы [28, 29, 58–62]. В частности внеклеточные стимулы индуцируют экспрессию гена протромбина через активацию p38 MAPK. p38 MAPK фосфорилирует регуляторные белки, которые катализируют ремоделирование стимулирующих рибонуклеопротеиновых комплексов и повышают эффективность процессинга 3'-конца мРНК протромбина. Этот механизм позволяет контролировать количество вырабатываемого белка и играет важную роль в патофизиологических процессах [60].

Решающая роль тромбина при ангиогенезе [63], гиперэкспрессия в ответ на ишемию [50] или в опухолевом микроокружении [60] предполагает, что регуляция экспрессии этой сериновой протеазы может находиться под контролем факторов гипоксии HIF.

КЛЕТОЧНО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ФАКТОРОВ ИММУНИТЕТА ПОД ВЛИЯНИЕМ ТРОМБИНА

Тромбин рассматривается как мощный провоспалительный фактор, многие его эффекты схожи с эффектами провоспалительных цитокинов. Однако действие тромбина на клетки реализуется с помощью принципиально отличных механизмов, которые, главным образом, связаны с его ферментативной активностью. Тромбин может оказывать прямое действие на клетки посредством необратимого сайт-специфического протеолитического расщепления N-концевого внеклеточного участка рецепторов, известных как протеаза-активируемые рецепторы (PARs) [64, 65]. PARs принадлежат к уникальному семейству рецепторов, связанных с G-белками [66]. Протеолитическое расщепление приводит к изменению конформации PARs, после чего они приобретают способность активировать опосредованные G-белками внутриклеточные сигнальные каскады [63, 67, 68].

G-белки подразделяются на четыре семейства в соответствии со структурой их α -субъединицы — $G\alpha_s$, $G\alpha_i$, $G\alpha_q/11$ и $G\alpha_{12/13}$. Субъединица $G\alpha_q$, в свою очередь, существует в четырех вариантах — $G\alpha_q$, $G\alpha_q/11$, $G\alpha_q/14$ и $G\alpha_q/15/16$, каждый из которых контролирует различные внутриклеточные сигнальные пути. Так, $G\alpha_s$ и $G\alpha_i$ регулируют активность аденилатциклазы, в то время как $G\alpha_q$ активирует сигнальный путь фосфолипазы C- β (PLC- β), а $G\alpha_{12/13}$ — белки семейства каскад малых Rho GTPase [69].

Трансдукцию сигналов от PARs опосредуют $G\alpha_q/11$, $G\alpha_i$ или $G\alpha_{12/13}$ субъединицы. На сегодняшний день описаны четыре PARs (PAR1–PAR4), которые экспрессируются на разных типах клеток, включая тромбоциты, эндотелиальные клетки, клетки гладкой мускулатуры сосудов, фибробласты, гепатоциты, Т-лимфоциты и моноциты. PAR1 и PAR3 являются высокоаффинными рецепторами тромбина и могут активироваться при низких (<5 нМ) концентрациях тромбина, тогда как низкоаффинный рецептор тромбина PAR4 активируется при более высоких концентрациях фермента [64]. PAR2 — единственный рецептор, который непосредственно не активируется тромбином, но способен к трансактивации под влиянием PAR1 [64, 70]. Термин “трансактивация” используется для описания феномена, при котором активации одного G-protein-coupled receptor (GPCR), быстро и в отсутствие синтеза белка *de novo* приводит к немедленной цитозольной генерации нисходящего сигнала от другого рецептора на поверхности клетки [71].

Внутриклеточные домены неактивных PARs связаны с $G\alpha$ и $G\beta\gamma$ субъединицами G-белков. При активации рецепторов замена GTP на GDP в составе $G\alpha$ -субъединицы приводит к диссоциации комплекса $G\alpha$ и $G\beta\gamma$ [72]. В зависимости от условий, таких как продолжительность активации, концентрация лиганда, а также наличие корецепторов, происходит активация одного из множества вариантов внутриклеточных $G\alpha$ субъединиц (см. выше), что определяет дальнейший внутриклеточный сигнал и клеточный ответ [73]. Так, $G\alpha_q/11$ преимущественно активирует сигнальные пути PLC–PKC–Ras–Erk и IP3–DAG–PKC, регулирующие активацию, пролиферацию и жизнеспособность клеток. Активация $G\alpha_i$ приводит к ингибированию внутриклеточных путей аденилатциклазы, которые модулируют реакции тромбоцитов, барьерные функции эндотелия [63, 74], а также играют важную роль в регуляции воспаления [64]. Активация $G\alpha_{12/13}$ преимущественно индуцирует MAPK–RhoA GTPase сигнальные каскады, которые регулируют перестройки ци-

тоскелета [75, 76] и связанные с этим проницаемость эндотелия сосудов и миграцию клеток [77, 78]. Активированные PARs быстро интернализуются и подвергаются лизосомальной деградации, что служит механизмом ограничения их функции [9].

В зависимости от условий, тромбин может оказывать разнонаправленное действие на клетки. Он способствует как противо- так и провоспалительным процессам, как усиливает проницаемость, так и повышает барьерные функции эндотелия, может вызывать как расширение, так и сужение сосудов [30, 79, 80].

Одним из факторов, который определяет разнообразие эффектов тромбина является его концентрация [81]. Например, низкие концентрации (20–75 пкМ) усиливают барьерную функцию эндотелия [82, 83], тогда как более высокие концентрации (>100 пкМ) повышают проницаемость эндотелиального барьера [25]. Разные концентрации тромбина посредством активации одного и того же рецептора – PAR1 могут как повышать жизнеспособность клеток, так и индуцировать их гибель [25]. Предполагают, что проапоптотические и антиапоптотические эффекты тромбина регулируют одни и те же внутриклеточные сигнальные пути (RhoA GTPase и PKC) [78, 84]. Частично это объясняется различной скоростью передачи внутриклеточного сигнала в ответ на высокие и низкие концентрации агониста. При относительно высоких концентрациях тромбина (>500 нМ), которые приводят к апоптозу, активность RhoA в клетке возрастает в течение нескольких минут. При низких уровнях тромбина (1–100 мкМ) происходит небольшое, постепенное увеличение активности RhoA, что оказывает протективное действие на клетки [25, 78]. Кроме того, высокие концентрации тромбина действуют на клетки через другой, низкоаффинный рецептор – PAR4 [24].

Другим возможным объяснением разнонаправленных эффектов тромбина может быть способность PARs образовывать гомо-, гетеродимеры и олигомеры между собой и другими рецепторами [85]. Состав димера влияет на структуру внутриклеточного сигнального каскада [86]. Описаны гомодимеры PAR1–PAR1, PAR2–PAR2 и PAR4–PAR4, а также гетеродимеры PAR1–PAR2, PAR1–PAR3 и PAR1–PAR4 [87]. Считается, что PAR1–PAR3 регулируют клеточные процессы в физиологических условиях [86]. PAR1 образует гетеродимеры с PAR3 так же легко, как и гомодимеры [86]. Если передача сигналов от PAR1 индуцирует активацию $G\alpha_q$ и $G\alpha_{12/13}$ субъединиц, гетеродимер PAR1–PAR3 активирует только $G\alpha_{12/13}$ [64, 88]. Под действием высоких концентраций тромбина (>10 нМ), которые в основном регистрируются при патофизиологических состояниях (на ранней стадии сепсиса, повреждении эндотелия, опухолевом росте), активируется рецептор PAR4, а также его гетеродимеры с PAR1 [86, 89]. Гетеродимер PAR1–PAR4 обеспечивает сигнальный путь активации клеток, отличный от PAR1 и PAR1–PAR3 [86]. Хотя специфическое картирование субъединицы Ga гетеродимера PAR1–PAR4 еще не проводили, известно, что этот комплекс может играть роль при воспалении, диабетической васкулопатии и раке [90–92].

PAR2 – единственный рецептор из четырех других PARs, который не может быть непосредственно активирован тромбином. Однако PAR2 может быть трансактивирован под действием PAR1 [93]. Трансактивация PAR2 вовлечена в развитие системного воспаления и гиперактивации системы свертывания крови, как это происходит при сепсисе [94]. Гетеродимер PAR1–PAR2 играет ключевую роль на поздней стадии сепсиса, в гиперпластических реакциях на повреждение артерий и в цитопротекторных процессах [86, 94]. Гетеродимер PAR1–PAR2 регулирует субъединицу $G\alpha_i$, Ras1 сигнальный путь и отвечает за усиление барьерных функций эндотелия [82, 94]. Опосредованная PAR1 трансактивация PAR2 приводит к ингибированию системы комплемента [95]. Альтернативным вариантам внутриклеточной передачи сигнала от тромбина способствуют разные механизмы интернализации гомо- и гетеродимеров PARs [86, 96–99].

Считается, что даже незначительное количество тромбина (в диапазоне от 0.51 до 2 нМ), которое образуется во время фазы инициации свертывания крови, достаточно для быстрой активации PAR1 и PAR4, а также факторов коагуляции FVIII и FV. В дальнейшем вырабатывается дополнительное количество фермента, способствующее образованию фибрина. Большая часть тромбина (>95%), образующегося после формирования тромба, нейтрализуется высокоаффинным связыванием с рецептором тромбомодулина на поверхности неповрежденной стенки сосуда и эффективно ограничивает дальнейшее распространение тромба [100]. Предполагают, что низкие концентрации тромбина необходимы и достаточны для активации коагуляции, а высокие концентрации тромбина стимулируют клетки иммунной системы и воспалительные реакции [101].

В зависимости от концентрации регуляцию эффектов тромбина, кроме PARs, вовлекаются также другие рецепторы. Низкие концентрации тромбина связываются тромбомодулином, что индуцирует формирование комплекса aPC–Endothelial cell protein C receptor (EPCR). aPC–EPCR, взаимодействуя с PAR1, инициирует Gαi/Rac1-опосредованные цитопротекторные реакции на эндотелии [24, 83, 102, 103]. При повышении концентрации свободный тромбин вытесняет комплекс APC–EPCR с рецептора PAR1 и запускает сигнальные каскады Gαq, Gα12/13 и RhoA, усиливающие проницаемость эндотелия, апоптоз и прочие, связанные с воспалением, изменения [83, 102, 104]. Таким образом, повышение концентрации тромбина отменяет цитопротекторное действие APC–EPCR в отношении эндотелия сосудов и вызывает разрушение эндотелиального барьера [24].

Было установлено также, что дивергентное взаимодействие PAR1 с рецепторами сфингозин-1-фосфата – S1PR также влияет на результат активации клеток [10, 72]. Внутриклеточный сигнал от PAR1 при его активации тромбином запускает продукцию S1P, который, в свою очередь, может подавлять разрушительные эффекты тромбина в отношении эндотелиального барьера. Значительную роль в регуляции этих взаимодействий играет соотношение концентраций тромбина и S1P, которые динамически изменяются при активации гемостаза и воспаления [105].

Помимо концентрации, время воздействия тромбина тоже может влиять на вариabельность клеточного ответа. Так, воздействие высоких концентраций тромбина в течение 16 ч приводит к необратимой гибели клеток [84], а кратковременное воздействие низких концентраций тромбина, напротив, защищает клетки от гибели. Эти данные показывают, что в случаях быстрой и интенсивной повышении концентрации тромбина (например, при травме или инсульте), может существовать временной диапазон, по истечении которого защитные реакции гемостаза переклЮчаются на запуск воспаления, апоптоза и нарушение эндотелиального барьера [9].

Недавно было показано, что первоначально идентифицированные как эндосомальные посредники b-аррестины работают как каркасные белки во время активации рецепторов, связанных с G-белками [106, 107]. На сегодняшний день известно, что b-аррестины 1 и 2 участвуют в активации PARs. В зависимости от концентрации тромбина, b-аррестины способны работать в синергии или в антагонизме с G-белками, активируя или ингибируя нижестоящие сигнальные каскады PI3K и RhoA [108–110].

Предполагают, что активация PARs тромбином может приводить к 2224 различным вариантам фосфорилирования сигнальных мишеней в клетке [73]. Такая сложная регуляция клеточной активности, вероятно, придает этой системе значительную гибкость и многовариантность, но усложняет ее исследование и делает трудновыполнимой задачу терапевтической коррекции процессов гемостаза и воспаления.

Было установлено, что часть эффектов тромбина не связана с его ферментативной активностью. Так, блокада активного центра тромбина диизопропилфторфосфатом не влияла на его хемотаксическую активность в отношении лейкоцитов. Ферментативно-неактивный тромбин стимулировал пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, аналогично нативному тромбину [111]. Также сообщалось, что ферментативно-неактивный тромбин индуцирует секрецию ростового фактора GM-CSF в гладкомышечных клетках и обладает непрямым митогенной активностью. А термически денатурированный тромбин индуцирует продукцию провоспалительных факторов макрофагами [111]. Эти эффекты предполагают наличие других, пока еще не определенных рецепторов тромбина, не зависящих от ферментативной активности протеазы [112].

Действие тромбина на клетки может быть связано с его способностью активировать белки системы комплемента. Различные типы клеток, лейкоциты, тромбоциты и эндотелиальные клетки имеют рецепторы к C3a и C5a компонентам комплемента [6, 40]. Продукты расщепления фибриногена, которые генерируются при образовании тромбина, способны активировать клетки врожденного иммунитета через TLR4 [31], и это может служить дополнительным механизмом запуска и амплификации воспаления под действием тромбина.

Учитывая широкую представленность рецепторов тромбина на клетках, неудивительно, что они участвуют в самых разных физиологических (ангиогенез [12, 113, 114], заживление ран [115–117] и воспаление [118–122]), а также патофизиологических (атеросклероз [123, 124], сепсис [125], рак [126–128] и невропатология [33, 129]) процессах.

МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТРОМБИНА

Гуморальные факторы врожденного иммунитета

Тромбин является одной из наиболее хорошо охарактеризованных сериновых протеаз. Его классические субстраты, связанные с коагуляцией, включают факторы свертывания V, VIII, XI, XIII, фибриноген и протеин C [130]. Этот список продолжает неуклонно расширяться. Почти все сериновые протеазы в системе свертывания крови регулируют систему комплемента и наоборот, протеолитические компоненты комплемента действуют на систему свертывания крови [40, 131]. Тромбин тоже является частью этой сложной сети “коагуло-комплемента”. Активный тромбин, особенно в высоких концентрациях, непосредственно осуществляет протеолиз C3 и C5 компонентов комплемента [6, 40] (рис. 2). Эти реакции рассматривают как 4-й путь активации каскада комплемента [6].

Одной из интересных находок стало открытие ферментативной роли тромбина в продукции IL-1 α . Ключевой провоспалительный цитокин IL-1 α участвует в запуске и прогрессировании целого ряда тяжелых заболеваний, включая сердечно-сосудистые заболевания, воспалительные заболевания кишечника, нейровоспаление, атеросклероз и рак. IL-1 α часто обозначается как “алармин” – сигнал тревоги для иммунной системы [132]. IL-1 α конститутивно экспрессируется в проформе (про-IL-1 α) многими клетками гемопоэтического и негемопоэтического ряда, но при накоплении молекул, которые высвобождаются из своих собственных разрушенных клеток (DAMPs), эволюционно консервативных структур патогенов (PAMPs), под влиянием окислительного стресса, ишемии–реперфузии, радиации и других факторов, связанных с повреждением клеток, происходит активация внутриклеточных каспаз, которые переводят про-IL-1 α в его активную форму. Было установлено, что тромбин тоже расщепляет про-IL-1 α до активной формы цитокина. Важная роль тромбина в регуляции продукции активного IL-1 α была подтверждена в

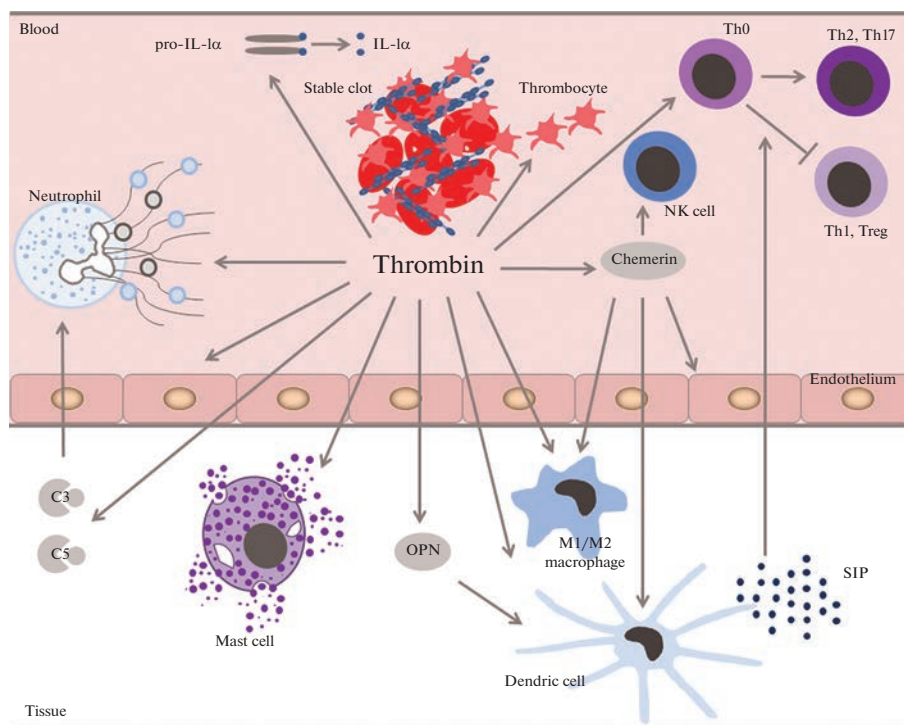


Рис. 2. Механизмы регуляции иммунных реакций под влиянием тромбина.

Активный тромбин осуществляет протеолиз C3 и C5 компонентов комплемента с последующим высвобождением анафилотоксинов C3a, C5a, которые привлекают и активируют нейтрофилы. Тромбин осуществляет протеолиз про-IL-1α до активной формы провоспалительного цитокина IL-1α. Тромбин обладает протеолитическим действием в отношении химерина, который обеспечивает мобилизацию макрофагов, дендритных клеток и натуральных киллеров в места повреждения и активизирует эндотелий сосудов. Тромбин вызывает активацию тромбоцитов, высвобождение медиаторов воспаления, индуцирует экспрессию на этих клетках TLR4,9. Тромбин напрямую активирует эндотелиальные клетки, повышает экспрессию адгезионных молекул и продукцию хемокинов и провоспалительных цитокинов, модулирует барьерную функцию эндотелия. Тромбин является хемоаттрактантом для нейтрофилов, изменяет состав нейтрофильных внеклеточных ловушек, снижает содержание гистонов, нейтрофильной эластазы, дефензинов и азурицидина. Тромбин модулирует поляризацию макрофагов и продукцию этими клетками медиаторов воспаления. Тромбин вызывает дегрануляцию тучных клеток и усиливает продукцию медиаторов воспаления. Тромбин стимулирует адаптивные реакции иммунитета, созревание дендритных клеток, повышает экспрессию молекул MHCII, костимуляторных молекул, продукцию медиаторов воспаления и хемоаттрактантов (CCL18, MCP-1, SIP), привлекающих незрелые дендритные клетки и лимфоциты в участок повреждения. Тромбин осуществляет протеолитическое расщепление остеопонтина (OPN), что усиливает хемокин-индуцированную миграцию DC. Тромбин способствует поляризации “наивных” Т клеток (Th0) в Th17, Th2 и подавляет поляризацию Th1 и Treg.

исследованиях *in vivo* с использованием трансгенных мышей (ТМ IL-1α) с мутацией тромбина, которая ослабляла опосредованное тромбином расщепление про-IL-1α. У мышей-мутантов (ТМ IL-1α) наблюдалась заметно сниженная локальная генерация зрелого IL-1α, замедленное заживление кожных ран, снижение миграции нейтрофилов и моноцитов по сравнению с соответствующими параметрами у мышей дикого типа. Авторы также подтвердили, что p18 – расщепленный тромбином фрагмент IL-1α, концентрация которого повышается у септических мышей дикого

типа и у людей с сепсисом, не удалось обнаружить в циркуляции септических ТМ IL-1 α мышей [130]. Следует подчеркнуть, что IL-1 α стимулирует свертывание крови, и эти двунаправленные взаимодействия IL-1 α с тромбином взаимно поддерживаются и взаимно усиливаются [133].

Сериновые протеазы участвуют в регуляции вездесущего хемоаттрактанта плазмы, химерина. Химерин – это небольшой (18 кДа) белок, который регулирует многочисленные биологические процессы, такие как адипогенез, гомеостаз глюкозы, опухолеобразование, воспаление, ангиогенез, миогенез и миграцию иммунных клеток [134, 135]. Химерин вырабатывается печенью и выделяется в кровоток в качестве предшественника. Он также экспрессируется в некоторых тканях, где может быть активирован локально. Сериновые протеазы (фактор XIIa и плазмин коагуляционного и фибринолитического каскадов, эластазы и катепсин G), высвобождаемые из активированных гранул нейтрофилов, а также триптаза тучных клеток, являются мощными активаторами химерина. Тромбин способен расщеплять прохимерин с образованием активных форм химерина [136]. Как правило, у людей циркулирующая форма химерина не является биологически активной. В ходе протеолиза белка-предшественника из 163 аминокислот с С-концевым доменом, чувствительным к протеолизу, могут образовываться изоформы с более короткой аминокислотной последовательностью – химерины 125, 152, 154, 155, 156, 157 и 158 [137, 138]. В результате расщепления лабильного карбоксильного конца в любом из нескольких различных участков каскадами сериновых протеаз, белок приобретает хемотаксическую активность и запускает быстрые защитные реакции в стерильных участках повреждения тканей, а также местах инфекционного и аллергического воспаления [139]. Было установлено, что тромбин в диапазоне концентраций 0–100 нМ обладал дозозависимым протеолитическим действием в отношении 15-мерного фрагмента химерина (YFPGQFAFSKALPR). При более длительном времени инкубации обнаруживался 10-мерный фрагмент (YFPGQFAFSK). Если 15-мерный фрагмент был практически инертен в анализе хемотаксиса, то расщепленные тромбином 14-мерный и 10-мерный фрагменты вызывали миграцию клеток с трансфицированным рецептором химерина – CMKLR1. Полноразмерный прохимерин также активировался тромбином в концентрации 100 нМ [136]. Хемоаттракция – важная роль химерина, которая обеспечивает мобилизацию макрофагов, дендритных клеток и натуральных киллеров в места повреждения [140–142]. Под воздействием химерина на эндотелиальных клетках повышается экспрессия медиаторов воспаления (IL-6, TNF α и С-реактивного белка), что приводит к повышению адгезивности эндотелия для лейкоцитов [143–147]. Химерин также вызывает избыточную продукцию АФК [144], подавляет вызванную оксидом азота релаксацию сосудов и образование циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ) [148, 149]. Все это может способствовать опосредованной химерином эндотелиальной дисфункции [148, 150].

Используя подход “бактериофаговых индикаторов” (“phage display approach”), Gallwitz и соавт. в протеоме человека было идентифицировано еще 73 потенциальных субстрата тромбина, большинство из которых регулируют клеточную адгезию, развитие/дифференцировку, работу нервной и кровеносной системы [151].

КЛЕТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ ИММУНИТЕТА

Тромбоциты

Учитывая малый размер и безъядерный статус тромбоцитов, представления об их активности долгое время были связаны исключительно с кратковременным участием в гемостазе и заживлении ран [152, 153]. Однако дальнейшие исследования показали, что тромбоциты являются важными эффекторами врожденного и адап-

тивного иммунитета благодаря реакциям, которые индуцируются и развиваются в течение нескольких часов после гемостатических реакций [154]. Тромбоциты активируются после взаимодействия с белками внеклеточного матрикса, которые обнажаются при повреждении сосудов или воспалении [155]. Адгезия к эндотелию способствует высвобождению тромбоцитами преформированных медиаторов, факторов свертывания, ростовых факторов, цитокинов — из α -гранул или серотонина и нуклеотидов — из плотных гранул, а также запускает синтез эйкозаноидов, в частности, ТхА₂. Эти медиаторы аутокринно усиливают активацию тромбоцитов и реакции гемостаза [156, 157], а также их адгезию посредством интегринов и селективных [158, 159].

Тромбин является наиболее эффективным агонистом активации тромбоцитов и многие, регулирующие воспаления эффекты тромбина опосредованы активацией этих клеток. Тромбин вызывает PAR1/PLC-зависимую дегрануляцию тромбоцитов, в результате чего происходит высвобождение из этих клеток упоминавшихся выше биологически активных субстанций. Кроме того, под действием тромбина на поверхности тромбоцитов происходит повышение экспрессии рецептора фибриногена GPIIb-IIIa, Р-селектина и костимуляторной молекулы CD40L. Первые два усиливают агрегацию тромбоцитов [160] и опосредуют адгезивность лейкоцитов к эндотелию [161]. CD40L индуцирует секрецию эндотелиальными клетками хемокинов и экспрессию адгезионных молекул, усиливая сигналы для рекрутирования и экстравазации лейкоцитов [162]. В цитоплазме тромбоцитов содержатся молекулы РНК и сохраняются зависимые от активации посттранскрипционные механизмы, обеспечивающие синтез иммунорегуляторных белков (IL-1 β) и антимикробных пептидов (b-дефензины) [163–165]. Тромбоциты обнаруживаются вне сосудов в тканях и могут запускать местные иммунные реакции [166–168] в синовиальной оболочке при ревматоидном артрите [169, 170], в легких при гриппе [167] и в тканях солидных опухолей при раке [171].

Тромбоциты экспрессируют рецепторы распознавания образов патогенности (PRRs), поэтому способны активироваться под влиянием DAMPs, а также PAMPs, инициируя воспалительные и иммунные реакции [172–174]. Toll-подобные рецепторы (TLRs) играют решающую роль в активации иммунной системы. В 2004 г. впервые было показано, что мышинные и человеческие тромбоциты экспрессируют функциональные TLR [175]. В настоящее время установлено, что кроме TLR, тромбоциты экспрессируют NOD-подобные рецепторы (NLR) и лектиноподобные рецепторы С-типа (CLR) [172–174, 176]. Среди TLR, которые экспрессируют тромбоциты (TLR1, 2, 4 и 6 на поверхности, и TLR3, 7 и 9 в эндосомах) [173, 177–179] лучше всего охарактеризован TLR4 [180–185]. TLR4 содержатся преформированными в составе α -гранул. При активации тромбином, в результате дегрануляции, TLR4 выносятся на поверхность клеточной мембраны тромбоцитов [175]. Под действием агонистов TLR4 в тромбоцитах происходит активация MyD88 или TRIF-зависимых сигнальных путей и транскрипционного ядерного фактора κ B (NF- κ B) [182, 183], который выполняет не связанные с транскрипционной активностью функции [186–189].

В отличие от других ядросодержащих клеток, которые экспрессируют TLR9 исключительно внутри эндосом, тромбоциты при активации могут транслоцировать TLR9 на поверхность [190]. Тромбин так же, как и другие классические агонисты активации тромбоцитов может индуцировать поверхностную транслокацию этого рецептора [191]. Стимуляция тромбоцитов через TLR9 запускает их дегрануляцию [192], активацию и агрегацию [193].

Эндотелиальные клетки

Тромбин индуцирует широкий спектр воспалительных реакций эндотелия сосудов, усиливает его проницаемость, адгезивность и способствует рекрутированию лейкоцитов в очаг воспаления [122]. В частности, под влиянием этого фактора индуцируется выработка фактора активации тромбоцитов (platelet-activating factor), эндотелина, фактора фон Виллебранда, активатора плазминогена и его ингибитора. В ответ на тромбин культивируемые эндотелиальные клетки секретируют повышенные уровни PDGF, который является мощным митогеном и хемоаттрактантом для гладкомышечных клеток сосудов [194, 195]. Тромбин усиливает выработку эндотелиальными клетками цитокинов острой фазы воспаления – IL-6 [196] и MIF [23], а также продукцию IL-8, который является хемоаттрактантом нейтрофилов и моноцитов [22]. Экспрессия молекул адгезии (VCAM-1, ICAM-1, E- и P-селектина) и связанная с этим миграция лейкоцитов в ткани также усиливаются на под влиянием тромбина [197]. В исследованиях *in vitro* было установлено, что индуцированная тромбином повышенная экспрессия фракталкина (CX3CL1) и продукция MCP-1 эндотелиальными клетками, способствуют привлечению моноцитов в участки воспаления [197].

Провоспалительное действие тромбина в отношении эндотелия было подтверждено на мышинной модели перитонита. Введение ингибитора тромбина, гирудина, подавляло стимулированную адгезию макрофагов к эндотелию [198] и, напротив, введение очищенного тромбина стимулировало адгезию макрофагов и повышенную экспрессию IL-6 и MCP-1 [198]. Роль тромбина в регуляции сосудистого эндотелия также была продемонстрирована на модели ксенотрансплантации сердца мыши крысе. В этих экспериментах рекрутирование моноцитов и NK-клеток в трансплантат было вызвано опосредованной тромбином активацией PAR1 и локальной генерацией MCP-1 эндотелиальными клетками [199].

Тромбин играет важную роль в регуляции проницаемости эндотелия сосудов как в физиологических, так и в патологических условиях. Тромбин-зависимые клеточные реакции вызывают нарушения барьерной функции эндотелия при острых (травма или сепсис) или хронических (например, атеросклероз) состояниях. Эти процессы преимущественно опосредуют PAR1, PAR4 [82] и сигнальные пути $G\alpha_{12/13}/RhoA/MLC$ [122]. PAR1, рецептор тромбина, также индуцирует разрушение эндотелиального барьера посредством митоген-активируемого протеинкиназозависимого пути p38, который не интегрирован в путь $RhoA/MLC$. Сигнальные пути PAR1-p38, которые способствуют эндотелиальной дисфункции, остаются плохо изученными. С использованием мультиплексной количественной масс-спектрометрии в культивируемых эндотелиальных клетках человека были идентифицированы 5491 уникальных фосфопептидов, 2317 фосфопротеинов и четыре различных динамических фосфопротеомных профиля которые, как предполагается, регулируют p38-зависимую передачу сигналов тромбина. Ингибирование активности p38 и направленное siRNA-истощение изоформы p38-альфа приводило к усилению PAR1-зависимого фосфорилирования Erk1/2. Роль p38 в фосфорилировании α -катенина, компонента адгезивных соединений, рассматривается как важный механизм тромбин-индуцированной эндотелиальной дисфункции [122].

На поздней стадии сепсиса, характеризующейся системным воспалением, повышенной активацией системы коагуляции и продукцией высоких концентраций тромбина, длительная активация PAR1 вызывает трансактивацию PAR2 и включает внутриклеточный сигнал на $G\alpha_i/Rac1$, что приводит к усилению барьерной функции эндотелия [6].

Другой механизм регуляции проницаемости эндотелия связан с продукцией гепатоцитами природного ингибитора тромбина – тромбомодулина. В физиологических условиях комплекс тромбин-тромбомодулин осуществляет протеолиз и акти-

вацию протеина С. Активированный протеин С связывается со своим рецептором (EPCR) и PAR-1. Этот комплекс активирует S1PR1, поддерживающий барьерные функции эндотелия через внутриклеточные сигнальные пути G α i, аденилатциклазы, АКТ и Rac1. Активация классического рецептора тромбина PAR1 также регулирует целостность эндотелиального барьера через aPC и его рецептор EPCR, индуцируя экспрессию сфингозинкиназы 1 (SphK1) тромбоцитов и эндотелиальных клеток. Вызванное этими эффектами увеличение выработки S1P, в свою очередь, активирует S1PR1/Rac1 сигнальный путь, что повышает барьерные функции, ограничивая индуцированное тромбином повреждение эндотелия [105, 200]. При активации системы гемостаза избыточный свободный тромбин напрямую связывается с PAR1, что способствует его ассоциации с S1PR3. Внутриклеточный сигнал S1PK3 связан с Gq/11/PLC- и G12/13/RhoA-каскадами, которые нарушают барьерную функцию эндотелия и усиливают его проницаемость [26].

Таким образом, активируемый тромбином PAR1, с одной стороны, нарушает целостность эндотелиального барьера посредством сигнального пути Rho, с другой стороны, тромбин индуцирует экспрессию SphK1, увеличивает выработку S1P, что, в свою очередь, трансативирует S1PR1, приводя к активации защитного сигнального пути Rac1 [201].

Было показано, что СВМ сигналосома — сигнальный белковый комплекс, состоящий из каркасного белка CARMA3, линкерного белка (Bcl10) и эффекторного белка (MALT1), является неотъемлемой частью тромбин-зависимого NF- κ B внутриклеточного сигнального каскада в эндотелиальных клетках. Недавно СВМ сигналосома была идентифицирована как связующее звено между РКС и комплексом IKK [202]. Нарушение СВМ ингибирует способность тромбина индуцировать экспрессию молекул адгезии ICAM-1 и VCAM-1, а также снижает тромбинзависимую адгезию из моноцитов к эндотелию [26].

Разнообразные реакции, запускаемые тромбином на эндотелии, могут поддерживать воспалительные процессы при атеросклерозе, массивном тромбозе, васкулитах [65, 93, 197, 203], аутоиммунных [32] и аллергических заболеваниях [31, 204].

Нейтрофилы

Нейтрофилы являются самой многочисленной популяцией лейкоцитов крови. Во время инфекции нейтрофилы первыми мигрируют в очаг воспаления и участвуют в элиминации патогена [205]. Благодаря разнообразному набору защитных механизмов [205] нейтрофилы, помимо непосредственного уничтожения микробов, влияют на образование тромбов [37]. При активации нейтрофилов образование внеклеточных ловушек нейтрофилов (NET) способствует агрегации тромбоцитов [205, 206]. Считается, что нейтрофилы не экспрессируют TF и не могут самостоятельно запускать внутренний путь коагуляции [206]. В то же время продукция NET рассматривается как ключевой фактор, который обеспечивает адгезию, активацию тромбоцитов и таким образом способствует тромбовоспалению. Ведущая роль NET в тромбовоспалении при сепсисе, тромбозе глубоких вен и злокачественных новообразованиях была доказана с использованием как *in vitro*, так и *ex vivo* моделей [37, 207, 208]. Присутствие NET в тромбах было описано в экспериментах на мышинной модели тромбоза глубоких вен [207].

Крайне слабо исследованы рецепторы тромбина на нейтрофилах. В работе Kahn и соавт. было установлено, что по сравнению с тромбоцитами и мононуклеарными лейкоцитами, нейтрофилы имеют высокий уровень экспрессии mRNA PAR2, сопоставимый уровень mRNA PAR3 и значительно более низкий уровень mRNA PAR1 и PAR4 [209]. В другом, более позднем исследовании было показано, что интактные нейтрофилы конститутивно экспрессируют mPDK PAR-2 и PAR-3, но не

PAR-1 или PAR-4. Стимуляция клеток опсонизированными бактериями специфически повышает экспрессию белка PAR-2, что не зависит от транскрипции или синтеза белка *de novo*. Первичные гранулы нейтрофилов являются источником преформированных PAR-2, который может быть быстро мобилизован на поверхность клетки при дегрануляции [210]. Принимая во внимание, что PAR 2 не является самостоятельным рецептором тромбина, а только способен к трансактивации другими PARs, вопрос, может ли, и если может, то как, тромбин регулировать активность нейтрофилов, остается нерешенным.

Несмотря на тесную связь между активацией нейтрофилов и системой гемостаза, исследований, доказывающих их взаимодействия с тромбином, поразительно мало. Ранние работы показывают, что α -тромбин оказывает хемотаксическое действие на нейтрофилы, сравнимое по величине с эффектом бактериального хемотаксического пептида formyl-Met-Leu-Phe. Действие протеазы не зависит от ее ферментативной активности и не связано с рецепторами PARs [211].

В одном из исследований было показано, что тромбин изменяет состав NET. Исследования протеома NET после обработки тромбином показало сниженные уровни гистонов, которые, как было установлено ранее, обладают антимикробными свойствами [212] и способствуют антимикробной активности NET [213]. Связанные с NET или свободные гистоны являются цитотоксичными. Помимо этого, ДНК и/или гистоны стимулируют выработку тромбина и вызывают тромбоз *in vivo* как независимым от тромбоцитов, так и зависимым от них образом [214–216]. Кроме того, гистоны могут стабилизировать тромбы, повышая устойчивость фибрина к фибринолизу [217]. Обработка тромбином также модулировала уровни других антимикробных белков, связанных с NET, таких как дефензины и азуроцидин [218]. Уровень NET-ассоциированной нейтрофильной эластазы также снижался в присутствии тромбина. Авторы предполагают, что экзогенные протеазы, такие как тромбин, могут модулировать интегральные функции NET в различных физиологических контекстах [218].

Макрофаги

Клетки моноцитарно-макрофагального ряда являются основными индукторами внутреннего пути коагуляции за счет того, что при активации повышают уровень экспрессии тканевого фактора. Макрофаги считаются центральными регуляторами защитных реакций иммунитета и последующих процессов репарации. Это пластичные и гетерогенные клетки, которые в ответ на различные стимулы микроокружения могут претерпевать фенотипические изменения. При воздействии цитокинов, таких как интерферон γ (IFN- γ) или микробных агонистов, включая липополисахарид, макрофаги принимают M1-фенотип, для которого характерна продукция медиаторов воспаления – активных форм кислорода, оксида азота, фактора некроза опухоли α (TNF α), IL-1, IL-12. Под влиянием цитокинов 2-го типа воспаления макрофаги продуцируют IL-4, IL-13, IL-10 и TGF β , которые считаются маркерами M2-противовоспалительного фенотипа и способствуют регенерации тканей и продукции коллагена за счет экспрессии аргиназы 1 [219].

Было установлено, что тромбин может направлять поляризацию макрофагов – производных моноцитов костного мозга мышей – в M1-подобный воспалительный фенотип, что подтверждается усилением экспрессии iNOS. Кроме того, тромбин усиливает экспрессию в макрофагах провоспалительных цитокинов (IL-6, TNF α) и хемокинов (IP-10) [16]. Эти данные подтверждаются исследованиями, проведенными с использованием модели ишемии–реперфузии у мышей, в ходе которых было установлено, что введение цитотоксического ингибитора тромбина PTL060 усилило инфильтрацию тканей M2-макрофагами [220]. Предполагают также, что тромбин

в концентрации, которая индуцирует воспалительную реакцию (30 Ед/мл), может контролировать функциональное программирование макрофагов, что выражается в сниженной выработке цитокинов при рестимуляции лирополисахарида [16]. Однако эти исследования требуют подтверждения соответствующими экспериментами *in vivo*. При стимуляции тромбином макрофагов и клеток линии THP-1 продукция IL-8 индуцируется Rho/JNK-зависимым образом, при этом NF-κB является ключевым регулятором транскрипции гена IL-8 [194]. Продукцию TNFα макрофагами, стимулированными тромбином, по-видимому, опосредует сигнальный путь PI3K/АКТ [16, 194].

В другом исследовании на макрофагах, полученных из моноцитов костного мозга мышей, были найдены противоположные результаты. Основываясь на экспрессии генов и секреции цитокинов, было показано, что поляризация тромбином индуцирует противовоспалительный, M2-подобный фенотип макрофагов (CCL22, CD36, MMP9), профиль экспрессируемых генов которых соответствовал промежуточному состоянию между M2a и M2c и проявлял как сходства, так и различия с классической M2a поляризацией. Действие тромбина усиливало фагоцитоз окисленного липопротеина низкой плотности макрофагами, а кондиционированная среда из тех же клеток увеличивала пролиферацию эндотелиальных клеток. Действие протеазы на клетки было опосредовано секретируемым модульным Ca²⁺-связывающим белком 1 [16]. В целом результаты исследований влияния тромбина на макрофаги носят противоречивый характер и требуют дальнейшего изучения.

Многие реакции макрофагов на тромбин опосредованы PAR1, но не исключается также участие PAR3, поскольку он может функционировать как кофактор PAR1 [16, 194, 221]. Это значит, что для активации макрофагов необходима ферментативная активность протеазы. Однако тромбин, по-видимому, может модулировать функции макрофагов, независимо от своих ферментативных или прокоагулянтных активностей [16]. Было показано, что денатурированный термической обработкой тромбин был способен индуцировать секрецию медиаторов воспаления в макрофагах в меньшей (TNFα, M-CSF и MCP-1), аналогичной (MIP2) или даже большей (RANTES и CXCL10) степени, чем нативный α-тромбин. Тромбин, обработанный гирудином, индуцировал такие же уровни RANTES и IP-10, как термически обработанный [16]. Авторы не исключают, что в этом случае, провоспалительная активность тромбина в отношении макрофагов могла быть реализована независимо от PARs, через активацию PRRs – рецепторов врожденного иммунитета.

Тучные клетки

Дегрануляция и секреция различных вазоактивных и провоспалительных медиаторов тучными клетками лежат в основе патогенеза аллергических и воспалительных заболеваний [1]. Этот процесс может быть вызван целым рядом факторов, включая антигены (аллергены), анафилатоксины и даже физические раздражители [222]. Некоторые заболевания, такие как воспалительное заболевание кишечника [119, 223] и хроническая спонтанная крапивница [224], в патогенез которых вовлечены тучные клетки, сопровождаются значительной активацией системы коагуляции. Было обнаружено, что тромбин может вызывать быструю, зависимую от кальция, дегрануляцию тучных клеток [17]. Тромбин индуцировал секрецию IL-6, но не TNFα из тучных клеток мыши посредством активации рецептора тромбина и сигнального пути FcεRI [225]. В исследованиях на тучных клетках мыши P815 также было установлено, что воздействие различных концентраций тромбина в течение 16 ч повышало экспрессию PAR1, PAR2, PAR3 и PAR4, а также секрецию этими клетками VEGF, TNFα, IL-6, хемокинов CCL-2, CXCL-1 и CXCL-5. Эти изменения сопровождались повышением уровня фосфо-форм белков IκBa, SAPK/JNK

МАРК, р38 МАРК (Thr180/Tyr182), ERK1/2 МАРК (p44/42) и могли быть заингибированы гирудином [17].

Дендритные клетки

Дендритные клетки служат связующим звеном между реакциями врожденного и адаптивного иммунитета. На основе фенотипа и способности к праймингу “наивных” Т-клеток дендритные клетки обычно подразделяют на незрелые, индуцирующие Т клеточную анергию/толерантность и зрелые, вызывающие Т клеточную активацию и поляризацию реакций адаптивного иммунного ответа. Функциональные изменения от незрелых к зрелым дендритным клеткам происходят под влиянием PAMPs и/или DAMPs в очаге воспаления [205]. Предполагают, что формирующийся при инфекции и/или гемостазе тромбин может выполнять роль адьюванта, индуцирующего дифференцировку зрелых дендритных клеток. Более того, некоторые авторы рассматривают PARs как “неклассические” PRRs, которые также запускают реакции врожденного иммунитета [226–228]. В пользу этого указывает способность PARs активироваться под влиянием протеиназ патогенов или протеиназ, которые генерируются при повреждении тканей [72]. Более того, были задокументированы как прямые (т.е. коиммунопреципитация PAR2–TLR4 [226], так и не прямые (т.е. пересечение сигнальных путей) PAR–TLR взаимодействия в условиях стимуляции клеток липополисахаридом и агонистами TLR *in vitro* и *in vivo* [226–229]. PARs также, по-видимому, способны взаимодействовать с сигнальными путями NLR [230]. Однако эти реакции слабо изучены [231].

Действие тромбина на дендритные клетки опосредовано рецептором PAR1 [232, 233]. Как плазмацитоидные, так и миелоидные дендритные клетки экспрессируют этот рецептор и могут активироваться тромбином для выработки MCP-1, IL-10 и IL-12 [18]. Активация PAR1 тромбином зрелых дендритных клеток также может индуцировать экспрессию CCL18 и, таким образом, привлекать незрелые дендритные клетки и Т-лимфоциты [234] в очаг воспаления. Предполагают, что сразу после повреждения ткани сигнальный путь тромбин/PAR1 способствует активации дендритных клеток для максимальной презентации антигена. В подтверждение этой точки зрения, удаление PAR1 защищает мышей от индуцированного фиброза печени за счет уменьшения инфильтрации тканей Т-клетками [235]. Показано, что под влиянием тромбина дендритные клетки секретируют провоспалительные цитокины MCP-1, IL-10 и IL-12. Кроме того, тромбин повышает на этих клетках уровень экспрессии HLA-DR и CD86 [236], а также их способность эффективно стимулировать пролиферацию аллогенных Т-лимфоцитов [18].

Тромбин модулирует действие на дендритные клетки других регуляторных молекул. Функции иммунных клеток, их миграция и жизнеспособность в значительной степени зависят от регуляции продукции S1P и передачи сигналов S1P в клетку. Незрелые дендритные клетки преимущественно экспрессируют S1PR1, но при активации и созревании на этих клетках повышается уровень другого рецептора – S1PR3. Было установлено, что стимуляция дендритных клеток тромбином индуцировала выработку S1P, которая через S1PR3 приводила к аутокринному усилению коагуляции и воспаления за счет увеличения выработки TF и IL-1β [237].

Остеопонтин (OPN) – плеiotропный цитокин, продуцируемый как иммунными, так и неиммунными клетками, действующий на различные клеточные мишени, контролирующей их подвижность, адгезию и жизнеспособность [238], недавно был идентифицирован как еще одна мишень тромбина. Выработка OPN усиливается при патологических состояниях, включая аутоиммунные заболевания (например, волчанку, рассеянный склероз и ревматоидный артрит) и опухолевый рост [239, 240]. Протеолитическое расщепление OPN тромбином приводит к измене-

нию конформации и экспозиции нового интегрин-связывающего мотива (Thg-OPN), что существенно влияет на его биологические функции, усиливает хемокин-индуцированную миграцию дендритных клеток [241]. Предполагают, что это может служить механизмом усиления миграции дендритных клеток в очаг воспаления. В подтверждение этому было установлено, что Thg-OPN критически вовлечен в обострение фиброза печени. Уровень Thg-OPN был значительно выше у пациентов с циррозом печени, чем у пациентов с хроническим гепатитом В, а также здоровых лиц контрольной группы и положительно коррелировал со степенью фиброза печени. Эти данные были подтверждены в исследованиях на мышах. Кроме того, было показано, что по сравнению с полноразмерным белком OPN, Thg-OPN демонстрировал большую способность стимулировать активацию, пролиферацию и миграцию звездчатых клеток печени. Эффекты Thg-OPN были опосредованы $\alpha 9$ - и $\alpha 4$ -интегринами, с вовлечением MAPK и NF- κ B сигнальных каскадов [242].

Таким образом, тромбин может модулировать миграционную активность дендритных клеток, выполнять роль адьюванта и запускать развитие адаптивного иммунитета. Эти данные позволяют предполагать, что массивная продукция тромбина может играть важную роль в активации Т-клеток даже в отсутствие инфекции и провоцировать иммунный ответ на аутоантигены или амплифицировать уже развивающийся аутоиммунный процесс.

Лимфоциты

Исследования экспрессии мРНК и белка основных рецепторов тромбина на популяциях лимфоцитов человека показывают, что высокоаффинный рецептор тромбина PAR1, наиболее распространенный представитель семейства PAR, присутствующий на поверхности этих клеток. Натуральные киллеры экспрессируют PAR1, PAR2 и PAR3, CD4+ Т-клетки экспрессируют PAR1 и PAR2, а на $\gamma\delta$ и CD8+ популяциях Т-лимфоцитов экспрессируется только PAR1. При этом на В-клетках экспрессия PARs не была обнаружена [243]. Несмотря на важную роль лимфоцитов в реакциях адаптивного иммунитета и вовлеченность этих клеток в усиление воспалительных реакций, при разных патологических процессах, данные о влиянии тромбина на эти клетки крайне скудны.

Ранние исследования показали, что в физиологических концентрациях (1–10 мкг/мл, 30–300 нМ) тромбин значительно усиливает пролиферацию Т-клеток в ответ на митогены, суперантигены, аллоантигены и стимуляцию анти-CD3 антителами. Усиленная пролиферация была связана с повышенной продукцией IL-2, IL-6 и с увеличением числа IL2R γ (CD25)-позитивных Т-клеток. Сам по себе тромбин не был митогенным и не индуцировал выработку IL-2 или усиление экспрессии CD25. Однако мононуклеарные лейкоциты периферической крови, подвергшиеся воздействию тромбина, продуцировали высокие уровни IL-6. Тромбин также усиливал индуцированную под действием IL-2 пролиферацию мышиных и человеческих клеточных линий [244].

Другие данные о влиянии тромбина на лимфоциты косвенные, получены с использованием экспериментальных животных моделей или исследовании биологического материала человека. Так, было показано, что тромбин играет ключевую роль в стимуляции аллоиммунных реакций Т-клеток при ишемически-реперфузионном повреждении тканей (ИРП) после трансплантации. Ингибирование тромбина в сосудистой сети трансплантата улучшает приживление трансплантата и эффективность Трег-инфузионной терапии, которая в настоящее время активно вводится в клинику. Введение ингибитора тромбина PTL060 снижало повреждение тканей, подавляло экспрессию хемокинов CCL2 и CCL3, но усиливало экспрес-

сию CCL17 и CCL22, а также инфильтрацию тканей Treg. Когда PTL060 сочетали с инфузией дополнительных Treg, эти эффекты еще больше усиливались [220].

В исследованиях на мышах C57Bl/6 с меланомой B16 было показано, что тромбин способствует противоопухолевому ответу в ходе анти-PD1 терапии. Терапия анти-PD1 значительно ограничивала рост опухоли у мышей с нормальным уровнем протромбина. Однако терапия анти-PD1 не смогла уменьшить рост опухоли у мышей со сниженной экспрессией протромбина. Терапия анти-PD1 приводила к значительно большей частоте CD8+ инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL) в опухолях, полученных от мышей с нормальным уровнем протромбина, но не в опухолях мышей с низким уровнем протромбина. Исследования *in vitro* показали, что CD8+ Т-клетки мышей дикого типа, стимулированные CD3/CD28 в присутствии тромбина, демонстрировали дозозависимое повышение жизнеспособности и продукции цитокинов. Генетическая делеция либо PAR1, либо PAR4 уменьшала воздействие тромбина. Исследования показали, что PAR4, по-видимому, является рецептором тромбина, опосредующим пролиферацию Т-клеток, а PAR2, напротив, ограничивает пролиферацию Т-клеток и выработку цитокинов. Трансактивация через PAR1 является механизмом, приводящим к активации PAR2 [245].

Был описан еще один механизм регуляции тромбином адаптивных реакций, опосредованный S1P. Было показано, что взаимодействие PAR1 на тромбоцитах с тромбином и последующая активация SphK1 приводит к продукции и накоплению S1P этими клетками в участке тромбоза. Обычно высокие концентрации S1P обнаруживаются в плазме крови, что служит механизмом, обеспечивающим рециркуляцию лимфоцитов из органов иммунной системы в кровь и обратно [246]. Повышение уровня S1P в периферических тканях при воспалении способствует накоплению Т-клеток в тканях [247]. Примечательно, что S1P, по-видимому, поляризует эффекторные Т-клетки в сторону Th2 и Th17, одновременно подавляет поляризацию Th1 [13] и Treg [248]. Предполагают также, что S1PR1 подавляет развитие и функциональную активность Treg посредством активации Akt-mTOR сигнального пути [248].

Таким образом, тромбин может регулировать реакции адаптивного иммунитета, усиливая воспаление.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тромбин, центральная протеаза системы коагуляции, играет значительную роль в регуляции и развитии иммунных реакций. Тромбин служит важным провоспалительным фактором, который активирует эндотелий сосудов, стимулирует гуморальные и клеточные факторы врожденного иммунитета. Установлено, что тромбин может служить алармином, способствовать созреванию дендритных клеток и активации реакций адаптивного иммунитета. Нельзя исключать, что тромбин может модулировать стратегию развития иммунного ответа за счет поляризации макрофагов и Th популяций лимфоцитов. Усиленная выработка тромбина может влиять не только на ход инфекционного процесса, но также стимулировать активацию адаптивного звена иммунитета в отсутствие патогена. Это может служить важным механизмом провокации стерильного воспаления, развития и поддержания аутоиммунных реакций. Дальнейшие исследования роли тромбина в регуляции иммунного ответа могут способствовать открытию новых важных связей между иммунной системой и системой коагуляции.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20020, <https://rscf.ru/project/22-25-20020/>, и Региона (грант Санкт-Петербургского научного фонда в соответствии с соглашением от 14 апреля 2022 г. № 46/2022).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией: Э.А.С. — разработка концепции и написание статьи; Дж.Т.М. — графическое оформление, редактирование статьи; О.Я.П. — редактирование статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Petzold T, Massberg S* (2019) Thrombin: A Gas Pedal Driving Innate Immunity. *Immunity* 50: 1024–1026.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.006>
2. *Göbel K, Eichler S, Wiendl H, Chavakis T, Kleinschnitz C, Meuth SG* (2018) The Coagulation Factors Fibrinogen, Thrombin, and Factor XII in Inflammatory Disorders-A Systematic Review. *Front Immunol* 9: 1731.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01731>
3. *Antoniak S* (2018) The coagulation system in host defense. *Res Pract Thromb Haemost* 2: 549–557.
<https://doi.org/10.1002/rth2.12109>
4. *Jenne CN* (2018) Pathogen-induced coagulation: a new angle? *Blood* 132: 771–773.
<https://doi.org/10.1182/blood-2018-07-859967>
5. *Krurup A, Wallis R, Presanis JS, Gál P, Sim RB* (2007) Simultaneous activation of complement and coagulation by MBL-associated serine protease 2. *PLoS One* 2: e623.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000623>
6. *Delvaeye M, Conway EM* (2009) Coagulation and innate immune responses: can we view them separately? *Blood* 114: 2367–2374.
<https://doi.org/10.1182/blood-2009-05-199208>
7. *Hajela K, Kojima M, Ambrus G, Wong KHN, Moffatt BE, Ferluga J, Hajela S, Gál P, Sim RB* (2002) The biological functions of MBL-associated serine proteases (MASPs). *Immunobiology* 205: 467–475.
<https://doi.org/10.1078/0171-2985-00147>
8. *Wiedmer T, Esmon CT, Sims PJ* (1986) Complement proteins C5b-9 stimulate procoagulant activity through platelet prothrombinase. *Blood* 68: 875–880.
9. *Posma JJN, Posthuma JJ, Spronk HHM* (2016) Coagulation and non-coagulation effects of thrombin. *J Thromb Haemost* 14: 1908–1916.
<https://doi.org/10.1111/jth.13441>
10. *Qu Z, Chaikof EL* (2010) Interface between hemostasis and adaptive immunity. *Current Opinion Immunol* 22: 634–642.
<https://doi.org/10.1016/j.coi.2010.08.017>
11. *Bogatcheva NV, Garcia JGN, Verin AD* (2002) Molecular mechanisms of thrombin-induced endothelial cell permeability. *Biochemistry (Mosc)* 67: 75–84.
<https://doi.org/10.1023/a:1013904231324>
12. *Catar R, Moll G, Hosp I, Simon M, Luecht C, Zhao H, Wu D, Chen L, Kamhieh-Milz J, Korybalska K, Zickler D, Witowski J* (2021) Transcriptional Regulation of Thrombin-Induced Endothelial VEGF Induction and Proangiogenic Response. *Cells* 10: 910.
<https://doi.org/10.3390/cells10040910>
13. *Machida T, Takata F, Matsumoto J, Miyamura T, Hirata R, Kimura I, Kataoka Y, Dohgu S, Yamauchi A* (2017) Contribution of thrombin-reactive brain pericytes to blood-brain barrier dysfunction in an in vivo mouse model of obesity-associated diabetes and an in vitro rat model. *PLoS One* 12: e0177447.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177447>
14. *Yuliani FS, Chen J-Y, Cheng W-H, Wen H-C, Chen B-C, Lin C-H* (2022) Thrombin induces IL-8/CXCL8 expression by DCLK1-dependent RhoA and YAP activation in human lung ep-

- ithelial cells. *J Biomed Sci* 29: 95.
<https://doi.org/10.1186/s12929-022-00877-0>
15. *Strande JL, Phillips SA* (2009) Thrombin increases inflammatory cytokine and angiogenic growth factor secretion in human adipose cells *in vitro*. *J Inflamm (Lond)* 6: 4.
<https://doi.org/10.1186/1476-9255-6-4>
 16. *Ukan Ü, Delgado Lagos F, Kempf S, Günther S, Siragusa M, Fisslthaler B, Fleming I* (2022) Effect of Thrombin on the Metabolism and Function of Murine Macrophages. *Cells* 11: 1718.
<https://doi.org/10.3390/cells11101718>
 17. *Fang X, Liao R, Yu Y, Li J, Guo Z, Zhu T* (2019) Thrombin Induces Secretion of Multiple Cytokines and Expression of Protease-Activated Receptors in Mouse Mast Cell Line. *Mediators Inflamm* 2019: e4952131.
<https://doi.org/10.1155/2019/4952131>
 18. *Yanagita M, Kobayashi R, Kashiwagi Y, Shimabukuro Y, Murakami S* (2007) Thrombin regulates the function of human blood dendritic cells. *Biochem Biophys Res Commun* 364: 318–324.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.10.002>
 19. *Kaplan ZS, Zarpellon A, Alwis I, Yuan Y, McFadyen J, Ghasemzadeh M, Schoenwaelder SM, Ruggeri ZM, Jackson SP* (2015) Thrombin-dependent intravascular leukocyte trafficking regulated by fibrin and the platelet receptors GPIb and PAR4. *Nat Commun* 6: 7835.
<https://doi.org/10.1038/ncomms8835>
 20. *Suades R, Padró T, Vilahur G, Badimon L* (2022) Platelet-released extracellular vesicles: the effects of thrombin activation. *Cell Mol Life Sci* 79: 190.
<https://doi.org/10.1007/s00018-022-04222-4>
 21. *Krisinger MJ, Goebeler V, Lu Z, Meixner SC, Myles T, Prydzial ELG, Conway EM* (2012) Thrombin generates previously unidentified C5 products that support the terminal complement activation pathway. *Blood* 120: 1717–1725.
<https://doi.org/10.1182/blood-2012-02-412080>
 22. *Marin V, Farnarier C, Grès S, Kaplanski S, Su MS, Dinarello CA, Kaplanski G* (2001) The p38 mitogen-activated protein kinase pathway plays a critical role in thrombin-induced endothelial chemokine production and leukocyte recruitment. *Blood* 98: 667–673.
<https://doi.org/10.1182/blood.v98.3.667>
 23. *Bernhagen J, Krohn R, Lue H, Gregory JL, Zerneck A, Koenen RR, Dewor M, Georgiev I, Schöber A, Leng L, Kooistra T, Fingerle-Rowson G, Ghezzi P, Kleemann R, McColl SR, Bucala R, Hickey MJ, Weber C* (2007) MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment. *Nat Med* 13: 587–596.
<https://doi.org/10.1038/nm1567>
 24. *Bae J-S, Yang L, Manithody C, Rezaie AR* (2007) The ligand occupancy of endothelial protein C receptor switches the protease-activated receptor 1-dependent signaling specificity of thrombin from a permeability-enhancing to a barrier-protective response in endothelial cells. *Blood* 110: 3909–3916.
<https://doi.org/10.1182/blood-2007-06-096651>
 25. *Bae J-S, Kim Y-U, Park M-K, Rezaie AR* (2009) Concentration dependent dual effect of thrombin in endothelial cells via Par-1 and Pi3 Kinase. *J Cell Physiol* 219: 744–751.
<https://doi.org/10.1002/jcp.21718>
 26. *Ma L, Dorling A* (2012) The roles of thrombin and protease-activated receptors in inflammation. *Semin Immunopathol* 34 :63–72.
<https://doi.org/10.1007/s00281-011-0281-9>
 27. *Grammas P, Samany PG, Thirumangalakudi L* (2006) Thrombin and inflammatory proteins are elevated in Alzheimer's disease microvessels: implications for disease pathogenesis. *J Alzheimers Dis* 9: 51–58.
<https://doi.org/10.3233/jad-2006-9105>
 28. *Yin X, Wright J, Wall T, Grammas P* (2010) Brain endothelial cells synthesize neurotoxic thrombin in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 176: 1600–1606.
<https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090406>
 29. *Murakami H, Okazaki M, Amagasa H, Oguchi K* (2003) Increase in hepatic mRNA expression of coagulant factors in type 2 diabetic model mice. *Thromb Res* 111: 81–87.
[https://doi.org/10.1016/s0049-3848\(03\)00404-3](https://doi.org/10.1016/s0049-3848(03)00404-3)
 30. *Danckwardt S, Hentze MW, Kulozik AE* (2013) Pathologies at the nexus of blood coagulation and inflammation: thrombin in hemostasis, cancer, and beyond. *J Mol Med (Berl)* 91: 1257–1271.
<https://doi.org/10.1007/s00109-013-1074-5>
 31. *Kim D-Y, Cho SH, Takabayashi T, Schleimer RP* (2015) Chronic Rhinosinusitis and the Coagulation System. *Allergy, Asthma & Immunol Res* 7: 421–430.
<https://doi.org/10.4168/aaair.2015.7.5.421>
 32. *Cugno M, Tedeschi A, Borghi A, Bucciarelli P, Asero R, Venegoni L, Griffini S, Grovetti E, Berti E, Marziano AV* (2015) Activation of Blood Coagulation in Two Prototypic Autoimmune Skin Diseases

- es: A Possible Link with Thrombotic Risk. *PLoS One* 10: e0129456.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129456>
33. Iannucci J, Grammas P (2023) Thrombin, a Key Driver of Pathological Inflammation in the Brain. *Cells* 12: 1222.
<https://doi.org/10.3390/cells12091222>
 34. Iliadi V, Konstantinidou I, Aftzoglou K, Iliadis S, Konstantinidis TG, Tsigalou C (2021) The Emerging Role of Neutrophils in the Pathogenesis of Thrombosis in COVID-19. *Int J Mol Sci* 22: 5368.
<https://doi.org/10.3390/ijms22105368>
 35. Лобастов КВ, Счастливцев ИВ, Порембская ОЯ, Дженина ОВ, Барганджия АБ, Цаплин СН (2021) COVID-19-ассоциированная коагулопатия: обзор современных рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике. *Амбулат хирургия* (3-4): 36–51. [Lobastov KV, Schastlivtsev IV, Porembskaya OY, Dzenina OV, Bargandzhiya AB, Tsaplin SN (2020) COVID-19-associated coagulopathy: review of current recommendations for diagnosis, treatment and prevention. *Ambulat Surgery* (3-4): 36–51. (In Russ)].
<https://doi.org/10.21518/1995-1477-2020-3-4-36-51>
 36. Порембская ОЯ, Кравчук ВН, Гальченко МИ, Деев РВ, Чесноков МШ, Аванесян АВ, Лобастов КВ, Цаплин СН, Лаберко ЛА, Ермаков ВС, Пашовкина ОВ, Счастливцев ИВ, Сайганов СА (2022) Тромбоз сосудистого русла легких при COVID-19: клинико-морфологические параллели. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии* 18: 376–384. [Porembskaya OY, Kravchuk VN, Galchenko MI, Deev RV, Chesnokov MS, Avanesyan AV, Lobastov KV, Tsaplin SN, Laberko LA, Ermakov VS, Pashovkina OV, Schastlivtsev IV, Sayganov SA (2022) Pulmonary Vascular Thrombosis in COVID-19: Clinical and Morphological Parallels. *Rational Pharmacotherapy in Cardiol* 18: 376–384. (In Russ)].
<https://doi.org/10.20996/1819-6446-2022-08-01>
 37. Porembskaya O, Lobastov K, Pashovkina O, Tsaplin S, Schastlivtsev I, Zhuravlev S, Laberko L, Rodoman G, Kravchuk V, Skvortsov A, Saiganov S (2020) Thrombosis of pulmonary vasculature despite anticoagulation and thrombolysis: The findings from seven autopsies. *Thrombosis Update* 1:100017.
<https://doi.org/10.1016/j.tru.2020.100017>
 38. Kudryavtsev I, Rubinstein A, Golovkin A, Kalinina O, Vasilyev K, Rudenko L, Isakova-Sivak I (2022) Dysregulated Immune Responses in SARS-CoV-2-Infected Patients: A Comprehensive Overview. *Viruses* 14: 1082.
<https://doi.org/10.3390/v14051082>
 39. Grover SP, Mackman N (2019) Intrinsic Pathway of Coagulation and Thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 39: 331–338.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.118.312130>
 40. Prydzial ELG, Leatherdale A, Conway EM (2022) Coagulation and complement: Key innate defense participants in a seamless web. *Front Immunol* 13: 918775.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.918775>
 41. Maas C, Oschatz C, Renné T (2011) The Plasma Contact System 2.0. *Semin Thromb Hemost* 37: 375–381.
<https://doi.org/10.1055/s-0031-1276586>
 42. Maas C, Renné T (2012) Regulatory mechanisms of the plasma contact system. *Thromb Res* 129: S73–S76.
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2012.02.039>
 43. Яковлева ЕВ, Зозуля НИ (2022) Физиологическая и патологическая роль фактора свертывания крови XII. *Гематол и трансфузиол* 67: 570–578. [Yakovleva EV, Zozulya NI (2022) Physiological and pathological role of factor XII. *Russ J Hematol Transfusiol* 67(4): 570–578. (In Russ)].
<https://doi.org/10.35754/0234-5730-2022-67-4-570-578>
 44. Konrath S, Mailer RK, Beerens M, Englert H, Frye M, Kuta P, Preston RJS, Maas C, Butler LM, Roest M, de Laat B, Renné T (2022) Intrinsic coagulation pathway-mediated thrombin generation in mouse whole blood. *Front Cardiovasc Med* 9: 1008410.
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1008410>
 45. Navarro S, Stegner D, Nieswandt B, Heemskerk JWM, Kuijpers MJE (2021) Temporal Roles of Platelet and Coagulation Pathways in Collagen- and Tissue Factor-Induced Thrombus Formation. *Int J Mol Sci* 23: 358.
<https://doi.org/10.3390/ijms23010358>
 46. Manz XD, Bogaard HJ, Aman J (2022) Regulation of VWF (Von Willebrand Factor) in Inflammatory Thrombosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biol* 42: 1307–1320.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.122.318179>
 47. Ben Shimon M, Lenz M, Ikenberg B, Becker D, Shavit Stein E, Chapman J, Tanne D, Pick CG, Blatt I, Neufeld M, Vlachos A, Maggio N (2015) Thrombin regulation of synaptic transmission and plasticity: implications for health and disease. *Front Cell Neurosci* 9: 151.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00151>

48. *Tsuchida T, Hayakawa M, Kawahara S, Kumano O* (2022) Thrombin generation capacity is enhanced by low antithrombin activity and depends on the activity of the related coagulation factors. *Thromb J* 20: 29.
<https://doi.org/10.1186/s12959-022-00388-w>
49. *Dihanich M, Kaser M, Reinhard E, Cunningham D, Monard D* (1991) Prothrombin mRNA is expressed by cells of the nervous system. *Neuron* 6: 575–581.
[https://doi.org/10.1016/0896-6273\(91\)90060-d](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90060-d)
50. *Riek-Burchardt M, Striggow F, Henrich-Noack P, Reiser G, Reymann KG* (2002) Increase of prothrombin-mRNA after global cerebral ischemia in rats, with constant expression of protease nexin-1 and protease-activated receptors. *Neurosci Lett* 329: 181–184.
[https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(02\)00645-6](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(02)00645-6)
51. *Citron BA, Smirnova IV, Arnold PM, Festoff BW* (2000) Upregulation of neurotoxic serine proteases, prothrombin, and protease-activated receptor 1 early after spinal cord injury. *J Neurotrauma* 17: 1191–1203.
<https://doi.org/10.1089/neu.2000.17.1191>
52. *Van Landingham JW, Cekic M, Cutler SM, Hoffman SW, Washington ER, Johnson SJ, Miller D, Stein DG* (2008) Progesterone and its metabolite allopregnanolone differentially regulate hemostatic proteins after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 28: 1786–1794.
<https://doi.org/10.1038/jcbfm.2008.73>
53. *Coelie H, Bertina RM, van Hylckama Vlieg A, Rosendaal FR, Vos HL* (2001) Polymorphisms in the prothrombin gene and their association with plasma prothrombin levels. *Thromb Haemost* 85: 1066–1070.
54. *Gehring NH, Frede U, Neu-Yilik G, Hundsdoerfer P, Vetter B, Hentze MW, Kulozik AE* (2001) Increased efficiency of mRNA 3' end formation: a new genetic mechanism contributing to hereditary thrombophilia. *Nat Genet* 28: 389–392.
<https://doi.org/10.1038/ng578>
55. *Danckwardt S, Gehring N, Neu-Yilik G, Hundsdoerfer P, Pforsich M, Frede U, Hentze M, Kulozik A* (2004) The prothrombin 3' end formation signal reveals a unique architecture that is sensitive to thrombophilic gain-of-function mutations. *Blood* 104: 428–435.
<https://doi.org/10.1182/blood-2003-08-2894>
56. *Danckwardt S, Hartmann K, Gehring NH, Hentze MW, Kulozik AE* (2006) 3' end processing of the prothrombin mRNA in thrombophilia. *Acta Haematol* 115: 192–197.
<https://doi.org/10.1159/000090934>
57. *Soria JM, Almasy L, Souto JC, Tirado I, Borell M, Mateo J, Slifer S, Stone W, Blangero J, Fontcuberta J* (2000) Linkage analysis demonstrates that the prothrombin G20210A mutation jointly influences plasma prothrombin levels and risk of thrombosis. *Blood* 95: 2780–2785.
58. *Huber-Lang M, Sarma JV, Zetouni FS, Rittirsch D, Neff TA, McGuire SR, Lambris JD, Warner RL, Flierl MA, Hoesel LM, Gebhard F, Younger JG, Drouin SM, Wetsel RA, Ward PA* (2006) Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. *Nat Med* 12: 682–687.
<https://doi.org/10.1038/nm1419>
59. *Boven LA, Vergnolle N, Henry SD, Silva C, Imai Y, Holden J, Warren K, Hollenberg MD, Power C* (2003) Up-regulation of proteinase-activated receptor 1 expression in astrocytes during HIV encephalitis. *J Immunol* 170: 2638–2646.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.5.2638>
60. *Danckwardt S, Gantzer A-S, Macher-Goeppinger S, Probst HC, Gentzel M, Wilm M, Gröne H-J, Schirmacher P, Hentze MW, Kulozik AE* (2011) p38 MAPK controls prothrombin expression by regulated RNA 3' end processing. *Mol Cell* 41: 298–310.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.12.032>
61. *Levi M, van der Poll T, Büller HR* (2004) Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Circulation* 109: 2698–2704.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000131660.51520.9A>
62. *Esmon CT* (2005) The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol* 131: 417–430.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05753.x>
63. *Coughlin SR* (2000) Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature* 407: 258–264.
<https://doi.org/10.1038/35025229>
64. *Ossovskaya VS, Bunnnett NW* (2004) Protease-Activated Receptors: Contribution to Physiology and Disease. *Physiol Rev* 84: 579–621.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2003>
65. *Coughlin SR* (2005) Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology. *J Thrombosis and Haemostasis* 3: 1800–1814.
<https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01377.x>
66. *Luo W, Wang Y, Reiser G* (2007) Protease-activated receptors in the brain: Receptor expression, activation, and functions in neurodegeneration and neuroprotection. *Brain Res Rev* 56:

- 331–345.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.08.002>
67. Macfarlane SR, Seatter MJ, Kanke T, Hunter GD, Plevin R (2001) Proteinase-Activated Receptors. *Pharmacol Rev* 53: 245–282.
 68. Traynelis SF, Trejo J (2007) Protease-activated receptor signaling: new roles and regulatory mechanisms. *Current Opinion in Hematol* 14: 230.
<https://doi.org/10.1097/MOH.0b013e3280dce568>
 69. Syrovatkina V, Alegre KO, Dey R, Huang X-Y (2016) Regulation, Signaling, and Physiological Functions of G-Proteins. *J Mol Biol* 428: 3868.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.08.002>
 70. Camerer E, Huang W, Coughlin SR (2000) Tissue factor- and factor X-dependent activation of protease-activated receptor 2 by factor VIIa. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 5255–5260.
<https://doi.org/10.1073/pnas.97.10.5255>
 71. Little PJ, Burch ML, Al-aryahi S, Zheng W (2011) The paradigm of G protein receptor trans-activation: a mechanistic definition and novel example. *Scient World J* 11: 709–714.
<https://doi.org/10.1100/tsw.2011.75>
 72. Gieseler F, Ungefroren H, Settmacher U, Hollenberg MD, Kaufmann R (2013) Proteinase-activated receptors (PARs) – focus on receptor-receptor-interactions and their physiological and pathophysiological impact. *Cell Communicat and Signal* 11: 86.
<https://doi.org/10.1186/1478-811X-11-86>
 73. Van den Biggelaar M, Hernández-Fernaund JR, van den Eshof BL, Neilson LJ, Meijer AB, Mertens K, Zanivan S (2014) Quantitative phosphoproteomics unveils temporal dynamics of thrombin signaling in human endothelial cells. *Blood* 123: e22–e36.
<https://doi.org/10.1182/blood-2013-12-546036>
 74. Stefanini L, Boulafali Y, Ouellette TD, Holinstat M, Désiré L, Leblond B, Andre P, Conley PB, Bergmeier W (2012) Rap1-Rac1 circuits potentiate platelet activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32: 434–441.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.239194>
 75. Klages B, Brandt U, Simon MI, Schultz G, Offermanns S (1999) Activation of G12/G13 results in shape change and Rho/Rho-kinase-mediated myosin light chain phosphorylation in mouse platelets. *J Cell Biol* 144: 745–754.
<https://doi.org/10.1083/jcb.144.4.745>
 76. Zhao P, Metcalf M, Bunnnett NW (2014) Biased signaling of protease-activated receptors. *Front Endocrinol (Lausanne)* 5: 67.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00067>
 77. Offermanns S, Mancino V, Revel JP, Simon MI (1997) Vascular system defects and impaired cell chemokinesis as a result of Gα13 deficiency. *Science* 275: 533–536.
<https://doi.org/10.1126/science.275.5299.533>
 78. Donovan FM, Pike CJ, Cotman CW, Cunningham DD (1997) Thrombin induces apoptosis in cultured neurons and astrocytes via a pathway requiring tyrosine kinase and RhoA activities. *J Neurosci* 17: 5316–5326.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-14-05316.1997>
 79. Flock T, Ravarani CNJ, Sun D, Venkatakrishnan AJ, Kayikci M, Tate CG, Veprintsev DB, Babu MM (2015) Universal allosteric mechanism for Gα activation by GPCRs. *Nature* 524: 173–179.
<https://doi.org/10.1038/nature14663>
 80. Alberelli MA, De Candia E (2014) Functional role of protease activated receptors in vascular biology. *Vascul Pharmacol* 62: 72–81.
<https://doi.org/10.1016/j.vph.2014.06.001>
 81. Hung DT, Vu TH, Nelken NA, Coughlin SR (1992) Thrombin-induced events in non-platelet cells are mediated by the unique proteolytic mechanism established for the cloned platelet thrombin receptor. *J Cell Biol* 116: 827–832.
<https://doi.org/10.1083/jcb.116.3.827>
 82. Feistritzer C, Riewald M (2005) Endothelial barrier protection by activated protein C through PAR1-dependent sphingosine 1-phosphate receptor-1 crossactivation. *Blood* 105: 3178–3184.
<https://doi.org/10.1182/blood-2004-10-3985>
 83. Bae J-S, Yang L, Rezaie AR (2007) Receptors of the protein C activation and activated protein C signaling pathways are colocalized in lipid rafts of endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 2867–2872.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0611493104>
 84. Donovan FM, Cunningham DD (1998) Signaling pathways involved in thrombin-induced cell protection. *J Biol Chem* 273: 12746–12752.
<https://doi.org/10.1074/jbc.273.21.12746>
 85. Lee-Rivera I, López E, López-Colomé AM (2022) Diversification of PAR signaling through receptor crosstalk. *Cell Mol Biol Lett* 27: 77.
<https://doi.org/10.1186/s11658-022-00382-0>

86. Lin H, Liu AP, Smith TH, Trejo J (2013) Cofactoring and dimerization of proteinase-activated receptors. *Pharmacol Rev* 65: 1198–1213.
<https://doi.org/10.1124/pr.111.004747>
87. Abraham LA, MacKie EJ (1999) Modulation of osteoblast-like cell behavior by activation of protease-activated receptor-1. *J Bone Miner Res* 14: 1320–1329.
<https://doi.org/10.1359/jbmr.1999.14.8.1320>
88. Madhusudhan T, Wang H, Straub BK, Gröne E, Zhou Q, Shahzad K, Müller-Krebs S, Schwenger V, Gerlitz B, Grinnell BW, Griffin JH, Reiser J, Gröne H-J, Esmon CT, Nawroth PP, Isermann B (2012) Cytoprotective signaling by activated protein C requires protease-activated receptor-3 in podocytes. *Blood* 119: 874–883.
<https://doi.org/10.1182/blood-2011-07-365973>
89. Arachiche A, Mumaw MM, de la Fuente M, Nieman MT (2013) Protease-activated receptor 1 (PAR1) and PAR4 heterodimers are required for PAR1-enhanced cleavage of PAR4 by α -thrombin. *J Biol Chem* 288: 32553–32562.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M113.472373>
90. Pavic G, Grandoch M, Dangwal S, Jobi K, Rauch BH, Doller A, Oberhuber A, Akhyari P, Schrör K, Fischer JW, Fender AC (2014) Thrombin receptor protease-activated receptor 4 is a key regulator of exaggerated intimal thickening in diabetes mellitus. *Circulation* 130: 1700–1711.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007590>
91. Yu G, Jiang P, Xiang Y, Zhang Y, Zhu Z, Zhang C, Lee S, Lee W, Zhang Y (2015) Increased expression of protease-activated receptor 4 and Trefol factor 2 in human colorectal cancer. *PLoS One* 10: e0122678.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122678>
92. Gomides LF, Lima OCO, Matos NA, Freitas KM, Francischi JN, Tavares JC, Klein A (2014) Blockade of proteinase-activated receptor 4 inhibits neutrophil recruitment in experimental inflammation in mice. *Inflamm Res* 63: 935–941.
<https://doi.org/10.1007/s00011-014-0767-8>
93. O'Brien PJ, Prevost N, Molino M, Hollinger MK, Woolkalis MJ, Woulfe DS, Brass LF (2000) Thrombin responses in human endothelial cells. Contributions from receptors other than PAR1 include the transactivation of PAR2 by thrombin-cleaved PAR1. *J Biol Chem* 275: 13502–13509.
<https://doi.org/10.1074/jbc.275.18.13502>
94. Kaneider NC, Leger AJ, Agarwal A, Nguyen N, Perides G, Derian C, Covic L, Kuliopulos A (2007) “Role reversal” for the receptor PAR1 in sepsis-induced vascular damage. *Nat Immunol* 8: 1303–1312.
<https://doi.org/10.1038/ni1525>
95. Lidington EA, Steinberg R, Kinderlerer AR, Landis RC, Ohba M, Samarel A, Haskard DO, Mason JC (2005) A role for proteinase-activated receptor 2 and PKC-epsilon in thrombin-mediated induction of decay-accelerating factor on human endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 289: C1437–C1447.
<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00502.2004>
96. Chen C-H, Paing MM, Trejo J (2004) Termination of protease-activated receptor-1 signaling by beta-arrestins is independent of receptor phosphorylation. *J Biol Chem* 279: 10020–10031.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M310590200>
97. Paing MM, Stutts AB, Kohout TA, Lefkowitz RJ, Trejo J (2002) beta-Arrestins regulate protease-activated receptor-1 desensitization but not internalization or Down-regulation. *J Biol Chem* 277: 1292–1300.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M109160200>
98. Stalheim L, Ding Y, Gullapalli A, Paing MM, Wolfe BL, Morris DR, Trejo J (2005) Multiple independent functions of arrestins in the regulation of protease-activated receptor-2 signaling and trafficking. *Mol Pharmacol* 67: 78–87.
<https://doi.org/10.1124/mol.104.006072>
99. DeFea KA, Zalevsky J, Thoma MS, Déry O, Mullins RD, Bunnett NW (2000) beta-arrestin-dependent endocytosis of proteinase-activated receptor 2 is required for intracellular targeting of activated ERK1/2. *J Cell Biol* 148: 1267–1281.
<https://doi.org/10.1083/jcb.148.6.1267>
100. Abouzeid H, Boisset G, Favez T, Youssef M, Marzouk I, Shakankiry N, Bayoumi N, Descombes P, Agosti C, Munier FL, Schorderet DF (2011) Mutations in the SPARC-related modular calcium-binding protein 1 gene, SMOC1, cause waardenburg anophthalmia syndrome. *Am J Hum Genet* 88: 92–98.
<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.12.002>
101. De Candia E, Hall SW, Rutella S, Landolfi R, Andrews RK, De Cristofaro R (2001) Binding of thrombin to glycoprotein Ib accelerates the hydrolysis of Par-1 on intact platelets. *J Biol Chem* 276: 4692–4698.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M008160200>

102. *Griffin JH, Zlokovic BV, Mosnier LO* (2015) Activated protein C: biased for translation. *Blood* 125: 2898–2907.
<https://doi.org/10.1182/blood-2015-02-355974>
103. *Bea F, Kreuzer J, Preusch M, Schaab S, Isermann B, Rosenfeld ME, Katus H, Blessing E* (2006) Melagatran reduces advanced atherosclerotic lesion size and may promote plaque stability in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26: 2787–2792.
<https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000246797.05781.ad>
104. *Soh UJK, Dores MR, Chen B, Trejo J* (2010) Signal transduction by protease-activated receptors. *Br J Pharmacol* 160: 191–203.
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00705.x>
105. *Mahajan-Thakur S, Böhm A, Jedlitschky G, Schrör K, Rauch BH* (2015) Sphingosine-1-Phosphate and Its Receptors: A Mutual Link between Blood Coagulation and Inflammation. *Mediators Inflamm* 2015: 831059.
<https://doi.org/10.1155/2015/831059>
106. *Tohgo A, Choy EW, Gesty-Palmer D, Pierce KL, Laporte S, Oakley RH, Caron MG, Lefkowitz RJ, Luttrell LM* (2003) The stability of the G protein-coupled receptor-beta-arrestin interaction determines the mechanism and functional consequence of ERK activation. *J Biol Chem* 278: 6258–6267.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M212231200>
107. *Tohgo A, Pierce KL, Choy EW, Lefkowitz RJ, Luttrell LM* (2002) beta-Arrestin scaffolding of the ERK cascade enhances cytosolic ERK activity but inhibits ERK-mediated transcription following angiotensin AT1a receptor stimulation. *J Biol Chem* 277: 9429–9436.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M106457200>
108. *DeFea K* (2008) β -arrestins and heterotrimeric G-proteins: collaborators and competitors in signal transduction. *Br J Pharmacol* 153: S298–S309.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707508>
109. *Huang J, Sun Y, Huang X-Y* (2004) Distinct roles for Src tyrosine kinase in beta2-adrenergic receptor signaling to MAPK and in receptor internalization. *J Biol Chem* 279: 21637–21642.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M400956200>
110. *Sun Y, Huang J, Xiang Y, Bastepe M, Jüppner H, Kobilka BK, Zhang JJ, Huang X-Y* (2007) Dosage-dependent switch from G protein-coupled to G protein-independent signaling by a GPCR. *EMBO J* 26: 53–64.
<https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601502>
111. *López-Zambrano M, Rodriguez-Montesinos J, Crespo-Avilan GE, Muñoz-Vega M, Preissner KT* (2020) Thrombin Promotes Macrophage Polarization into M1-Like Phenotype to Induce Inflammatory Responses. *Thromb Haemost* 120: 658–670.
<https://doi.org/10.1055/s-0040-1703007>
112. *Tran T, Stewart AG* (2003) Protease-activated receptor (PAR)-independent growth and pro-inflammatory actions of thrombin on human cultured airway smooth muscle. *Br J Pharmacol* 138: 865–875.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705106>
113. *Gu Y-H, Hawkins BT, Izawa Y, Yoshikawa Y, Koziol JA, Del Zoppo GJ* (2022) Intracerebral hemorrhage and thrombin-induced alterations in cerebral microvessel matrix. *J Cereb Blood Flow Metab* 42: 1732–1747.
<https://doi.org/10.1177/0271678X221099092>
114. *Koller GM, Schafer C, Kemp SS, Aguera KN, Lin PK, Forgy JC, Griffin CT, Davis GE* (2020) The pro-inflammatory mediators, IL-1 β , TNF α , and thrombin directly induce capillary tube regression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 40: 365–377.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.119.313536>
115. *Groeneveld D, Pereyra D, Veldhuis Z, Adelmeijer J, Ottens P, Kopec AK, Starlinger P, Lisman T, Luyendyk JP* (2019) Intrahepatic fibrin(ogen) deposition drives liver regeneration after partial hepatectomy in mice and humans. *Blood* 133: 1245–1256.
<https://doi.org/10.1182/blood-2018-08-869057>
116. *Wang X, Xu Y, Li L, Lu W* (2021) Thrombin Aggravates Hypoxia/Reoxygenation Injury of Cardiomyocytes by Activating an Autophagy Pathway-Mediated by SIRT1. *Med Sci Monit* 27: e928480.
<https://doi.org/10.12659/MSM.928480>
117. *Xu Y, Wang X, Liu W, Lu W* (2021) Thrombin-activated platelet-rich plasma enhances osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells by activating SIRT1-mediated autophagy. *Eur J Med Res* 26: 105.
<https://doi.org/10.1186/s40001-021-00575-x>
118. *Yang C-C, Hsiao L-D, Shih Y-F, Hsu C-K, Hu C-Y, Yang C-M* (2022) Thrombin Induces COX-2 and PGE2 Expression via PAR1/PKCalpha/MAPK-Dependent NF-kappaB Activation in Human Tracheal Smooth Muscle Cells. *Mediators Inflamm* 2022: 4600029.
<https://doi.org/10.1155/2022/4600029>
119. *Motta J-P, Palese S, Giorgio C, Chapman K, Denadai-Souza A, Rousset P, Sagnat D, Guiraud L, Edir A, Seguy C, Alric L, Bonnet D, Bournet B, Buscail L, Gilletta C, Buret AG, Wallace JL, Hol-*

- lenberg MD, Oswald E, Barocelli E, Le Grand S, Le Grand B, Deraison C, Vergnolle N* (2021) Increased Mucosal Thrombin is Associated with Crohn's Disease and Causes Inflammatory Damage through Protease-activated Receptors Activation. *J Crohns Colitis* 15: 787–799.
<https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/ijaa229>
120. *Zheng X, Wang P, Jia M, Li Q, Zhang A, Zhou Q* (2022) Baicalin Alleviates Thrombin-Induced Inflammation in Vascular Smooth Muscle Cells. *Biomed Res Int* 2022: 5799308.
<https://doi.org/10.1155/2022/5799308>
121. *Ye F, Garton HJL, Hua Y, Keep RF, Xi G* (2021) The Role of Thrombin in Brain Injury After Hemorrhagic and Ischemic Stroke. *Transl Stroke Res* 12: 496–511.
<https://doi.org/10.1007/s12975-020-00855-4>
122. *Molinar-Inglis O, Wozniak JM, Grimsey NJ, Orduña-Castillo LB, Cheng N, Lin Y, Gonzalez Ramirez ML, Birch CA, Lapek JD, Gonzalez DJ, Trejo J* (2022) Phosphoproteomic analysis of thrombin- and p38 MAPK-regulated signaling networks in endothelial cells. *J Biol Chem* 298: 101801.
<https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101801>
123. *Falcione S, Munsterman D, Joy T, Kamtchum-Tatuene J, Sykes G, Jickling G* (2022) Association of Thrombin Generation With Leukocyte Inflammatory Profile in Patients With Acute Ischemic Stroke. *Neurology* 99: e1356–e1363.
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000200909>
124. *Zhang Y, Sun L, Wang X, Zhou Q* (2023) Integrative analysis of HASMCs gene expression profile revealed the role of thrombin in the pathogenesis of atherosclerosis. *BMC Cardiovasc Disord* 23: 191.
<https://doi.org/10.1186/s12872-023-03211-0>
125. *Lesbo M, Hviid CVB, Brink O, Juul S, Borris LC, Hvas A-M* (2023) Age-dependent thrombin generation predicts 30-day mortality and symptomatic thromboembolism after multiple trauma. *Sci Rep* 13: 1681.
<https://doi.org/10.1038/s41598-023-28474-7>
126. *Eivazadeh-Keihan R, Saadatidizaji Z, Maleki A, de la Guardia M, Mahdavi M, Barzegar S, Ahadian S* (2022) Recent Progresses in Development of Biosensors for Thrombin Detection. *Biosensors (Basel)* 12: 767.
<https://doi.org/10.3390/bios12090767>
127. *Sloan AR, Lee-Potursalski C, Hoffman HC, Harris PL, Elder TE, Richardson B, Kerstetter-Fogle A, Cioffi G, Schroer J, Desai A, Cameron M, Barnholtz-Sloan J, Rich J, Jankowsky E, Sen Gupta A, Sloan AE* (2022) Glioma stem cells activate platelets by plasma-independent thrombin production to promote glioblastoma tumorigenesis. *Neurooncol Adv* 4: vdac172.
<https://doi.org/10.1093/oaajnl/vdac172>
128. *Leung LL, Myles T, Morser J* (2023) Thrombin Cleavage of Osteopontin and the Host Anti-Tumor Immune Response. *Cancers (Basel)* 15: 3480.
<https://doi.org/10.3390/cancers15133480>
129. *Berkowitz S, Gofrit SG, Aharoni SA, Golderman V, Qassim L, Goldberg Z, Dori A, Maggio N, Chapman J, Shavit-Stein E* (2022) LPS-Induced Coagulation and Neuronal Damage in a Mice Model Is Attenuated by Enoxaparin. *Int J Mol Sci* 23: 10472.
<https://doi.org/10.3390/ijms231810472>
130. *Conway EM* (2019) Thrombin: Coagulation's master regulator of innate immunity. *J Thromb Haemost* 17: 1785–1789.
<https://doi.org/10.1111/jth.14586>
131. *Rittirsch D, Flierl MA, Ward PA* (2008) Harmful molecular mechanisms in sepsis. *Nat Rev Immunol* 8: 776–787.
<https://doi.org/10.1038/nri2402>
132. *Cohen I, Rider P, Vornov E, Tomas M, Tudor C, Wegner M, Brondani L, Freudenberg M, Mittler G, Ferrando-May E, Dinarello CA, Apte RN, Schneider R* (2015) IL-1 α is a DNA damage sensor linking genotoxic stress signaling to sterile inflammation and innate immunity. *Sci Rep* 5: 14756.
<https://doi.org/10.1038/srep14756>
133. *Burzynski LC, Humphry M, Pyrillou K, Wiggins KA, Chan JNE, Figg N, Kitt LL, Summers C, Tatham KC, Martin PB, Bennett MR, Clarke MCH* (2019) The Coagulation and Immune Systems Are Directly Linked through the Activation of Interleukin-1 α by Thrombin. *Immunity* 50: 1033–1042.e6.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.003>
134. *Treeck O, Buechler C, Ortman O* (2019) Chemerin and Cancer. *Int J Mol Sci* 20: 3750.
<https://doi.org/10.3390/ijms20153750>
135. *Buechler C, Feder S, Haberl EM, Aslanidis C* (2019) Chemerin Isoforms and Activity in Obesity. *Int J Mol Sci* 20: 1128.
<https://doi.org/10.3390/ijms20051128>
136. *Du X, Myles T, Morser J, Leung LL* (2009) Prochemerin Is a New Substrate for Thrombin. *Blood* 114: 3591.
<https://doi.org/10.1182/blood.V114.22.3591.3591>

137. Du X-Y, Zabel BA, Myles T, Allen SJ, Handel TM, Lee PP, Butcher EC, Leung LL (2009) Regulation of chemerin bioactivity by plasma carboxypeptidase N, carboxypeptidase B (activated thrombin-activable fibrinolysis inhibitor), and platelets. *J Biol Chem* 284: 751–758. <https://doi.org/10.1074/jbc.M805000200>
138. Ferland DJ, Mullick AE, Watts SW (2020) Chemerin as a Driver of Hypertension: A Consideration. *Am J Hypertens* 33: 975–986. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpaa084>
139. Macvanin MT, Rizzo M, Radovanovic J, Sonmez A, Paneni F, Isenovic ER (2022) Role of Chemerin in Cardiovascular Diseases. *Biomedicines* 10: 2970. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10112970>
140. Wittamer V, Franssen J-D, Vulcano M, Mirjolet J-F, Le Poul E, Migeotte I, Brézillon S, Tyldesley R, Blaupain C, Detheux M, Mantovani A, Sozzani S, Vassart G, Parmentier M, Communi D (2003) Specific Recruitment of Antigen-presenting Cells by Chemerin, a Novel Processed Ligand from Human Inflammatory Fluids. *J Exp Med* 198: 977–985. <https://doi.org/10.1084/jem.20030382>
141. Samson M, Edinger AL, Stordeur P, Rucker J, Verhasselt V, Sharron M, Govaerts C, Mollereau C, Vassart G, Doms RW, Parmentier M (1998) ChemR23, a putative chemoattractant receptor, is expressed in monocyte-derived dendritic cells and macrophages and is a coreceptor for SIV and some primary HIV-1 strains. *Eur J Immunol* 28: 1689–1700. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(199805\)28:05<1689::AID-IMMU1689>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199805)28:05<1689::AID-IMMU1689>3.0.CO;2-I)
142. Zabel BA, Silverio AM, Butcher EC (2005) Chemokine-like receptor 1 expression and chemerin-directed chemotaxis distinguish plasmacytoid from myeloid dendritic cells in human blood. *J Immunol* 174: 244–251. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.1.244>
143. Yamawaki H, Kameshima S, Usui T, Okada M, Hara Y (2012) A novel adipocytokine, chemerin exerts anti-inflammatory roles in human vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 423: 152–157. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.05.103>
144. Haybar H, Shahrazi S, Rezaeeyan H, Shirzad R, Saki N (2019) Endothelial Cells: From Dysfunction Mechanism to Pharmacological Effect in Cardiovascular Disease. *Cardiovasc Toxicol* 19: 13–22. <https://doi.org/10.1007/s12012-018-9493-8>
145. Dimitriadis GK, Kaur J, Adya R, Miras AD, Mattu HS, Hattersley JG, Kaltsas G, Tan BK, Rande HS (2018) Chemerin induces endothelial cell inflammation: activation of nuclear factor-kappa beta and monocyte-endothelial adhesion. *Oncotarget* 9: 16678–16690. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24659>
146. Neves KB, Nguyen Dinh Cat A, Lopes RAM, Rios FJ, Anagnostopoulou A, Lobato NS, de Oliveira AM, Tostes RC, Montezano AC, Touyz RM (2015) Chemerin Regulates Crosstalk Between Adipocytes and Vascular Cells Through Nox. *Hypertension* 66: 657–666. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05616>
147. Landgraf K, Friebe D, Ullrich T, Kratzsch J, Dittrich K, Herberth G, Adams V, Kiess W, Erbs S, Körner A (2012) Chemerin as a Mediator between Obesity and Vascular Inflammation in Children. *J Clin Endocrinol & Metabol* 97: E556–E564. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2937>
148. Neves KB, Lobato NS, Lopes RAM, Filgueira FP, Zanutto CZ, Oliveira AM, Tostes RC (2014) Chemerin reduces vascular nitric oxide/cGMP signalling in rat aorta: a link to vascular dysfunction in obesity? *Clin Sci* 127: 111–122. <https://doi.org/10.1042/CS20130286>
149. Didion SP, Heistad DD, Faraci FM (2001) Mechanisms That Produce Nitric Oxide-Mediated Relaxation of Cerebral Arteries During Atherosclerosis. *Stroke* 32: 761–766. <https://doi.org/10.1161/01.STR.32.3.761>
150. Xie Y, Liu L (2022) Role of Chemerin/ChemR23 axis as an emerging therapeutic perspective on obesity-related vascular dysfunction. *J Transl Med* 20: 141. <https://doi.org/10.1186/s12967-021-03220-7>
151. Gallwitz M, Enoksson M, Thorpe M, Hellman L (2012) The extended cleavage specificity of human thrombin. *PLoS One* 7: e31756. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031756>
152. Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M, Reitsma PH (2013) New fundamentals in hemostasis. *Physiol Rev* 93: 327–358. <https://doi.org/10.1152/physrev.00016.2011>
153. van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM (2019) Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol* 16: 166–179. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0110-0>
154. Garraud O, Cognasse F (2015) Are Platelets Cells? And if Yes, are They Immune Cells? *Front Immunol* 6: 70. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00070>

155. Swieringa F, Spronk HMH, Heemskerk JWM, van der Meijden PEJ (2018) Integrating platelet and coagulation activation in fibrin clot formation. *Res Practice in Thrombosis and Haemostasis* 2: 450–460.
<https://doi.org/10.1002/rth2.12107>
156. Jin J, Daniel JL, Kunapuli SP (1998) Molecular basis for ADP-induced platelet activation. II. The P2Y₁ receptor mediates ADP-induced intracellular calcium mobilization and shape change in platelets. *J Biol Chem* 273: 2030–2034.
<https://doi.org/10.1074/jbc.273.4.2030>
157. Li Z, Delaney MK, O'Brien KA, Du X (2010) Signaling during platelet adhesion and activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30: 2341–2349.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207522>
158. Vieira-de-Abreu A, Campbell RA, Weyrich AS, Zimmerman GA (2012) Platelets: versatile effector cells in hemostasis, inflammation, and the immune continuum. *Semin Immunopathol* 34: 5–30.
<https://doi.org/10.1007/s00281-011-0286-4>
159. Linden MD (2013) Platelet physiology. *Methods Mol Biol* 992: 13–30.
https://doi.org/10.1007/978-1-62703-339-8_2
160. Subramaniam M, Frenette PS, Saffaripour S, Johnson RC, Hynes RO, Wagner DD (1996) Defects in hemostasis in P-selectin-deficient mice. *Blood* 87: 1238–1242.
161. Schrottmaier M, Mussbacher M, Salzmann M, Assinger A (2020) Platelet-leukocyte interplay during vascular disease. *Atherosclerosis* 307: 109–120.
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2020.04.018>
162. Henn V, Slupsky JR, Gräfe M, Anagnostopoulos I, Förster R, Müller-Berghaus G, Kroczeck RA (1998) CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* 391: 591–594.
<https://doi.org/10.1038/35393>
163. Denis MM, Tolley ND, Bunting M, Schwartz H, Jiang H, Lindemann S, Yost CC, Rubner FJ, Albertine KH, Swoboda KJ, Fratto CM, Tolley E, Kraiss LW, McIntyre TM, Zimmerman GA, Weyrich AS (2005) Escaping the nuclear confines: signal-dependent pre-mRNA splicing in anucleate platelets. *Cell* 122: 379–391.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.06.015>
164. Kraemer BF, Campbell RA, Schwartz H, Cody MJ, Franks Z, Tolley ND, Kahr WHA, Lindemann S, Seizer P, Yost CC, Zimmerman GA, Weyrich AS (2011) Novel anti-bacterial activities of β -defensin 1 in human platelets: suppression of pathogen growth and signaling of neutrophil extracellular trap formation. *PLoS Pathog* 7: e1002355.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002355>
165. Brown GT, Narayanan P, Li W, Silverstein RL, McIntyre TM (2013) Lipopolysaccharide stimulates platelets through an IL-1 β autocrine loop. *J Immunol* 191: 5196–5203.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300354>
166. Olumuyiwa-Akeredolu O-O, Page MJ, Soma P, Pretorius E (2019) Platelets: emerging facilitators of cellular crosstalk in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 15: 237–248.
<https://doi.org/10.1038/s41584-019-0187-9>
167. Lê VB, Schneider JG, Boergeling Y, Berri F, Ducatez M, Guerin J-L, Adrian I, Errazuriz-Cerda E, Frasquilho S, Antunes L, Lina B, Bordet J-C, Jandrot-Perrus M, Ludwig S, Riteau B (2015) Platelet activation and aggregation promote lung inflammation and influenza virus pathogenesis. *Am J Respir Crit Care Med* 191: 804–819.
<https://doi.org/10.1164/rccm.201406-1031OC>
168. Middleton EA, Weyrich AS, Zimmerman GA (2016) Platelets in Pulmonary Immune Responses and Inflammatory Lung Diseases. *Physiol Rev* 96: 1211–1259.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00038.2015>
169. Yaron M, Djaldetti M (1978) Platelets in synovial fluid. *Arthritis Rheum* 21: 607–608.
<https://doi.org/10.1002/art.1780210509>
170. Farr M, Wainwright A, Salmon M, Hollywell CA, Bacon PA (1984) Platelets in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 4: 13–17.
<https://doi.org/10.1007/BF00683878>
171. Yan M, Jurasz P (2016) The role of platelets in the tumor microenvironment: From solid tumors to leukemia. *Biochim Biophys Acta* 1863: 392–400.
<https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2015.07.008>
172. Hottz ED, Oliveira MF, Nunes PCG, Nogueira RMR, Valls-de-Souza R, Da Poian AT, Weyrich AS, Zimmerman GA, Bozza PT, Bozza FA (2013) Dengue induces platelet activation, mitochondrial dysfunction and cell death through mechanisms that involve DC-SIGN and caspases. *J Thromb Haemost* 11: 951–962.
<https://doi.org/10.1111/jth.12178>
173. Koupenova M, Vitseva O, MacKay CR, Beaulieu LM, Benjamin EJ, Mick E, Kurt-Jones EA, Ravid K, Freedman JE (2014) Platelet-TLR7 mediates host survival and platelet count during

- viral infection in the absence of platelet-dependent thrombosis. *Blood* 124: 791–802.
<https://doi.org/10.1182/blood-2013-11-536003>
174. Vogel S, Arora T, Wang X, Mendelsohn L, Nichols J, Allen D, Shet AS, Combs CA, Quezada ZMN, Thein SL (2018) The platelet NLRP3 inflammasome is upregulated in sickle cell disease via HMGB1/TLR4 and Bruton tyrosine kinase. *Blood Adv* 2: 2672–2680.
<https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2018021709>
 175. Tsai J-C, Lin Y-W, Huang C-Y, Lin C-Y, Tsai Y-T, Shih C-M, Lee C-Y, Chen Y-H, Li C-Y, Chang N-C, Lin F-Y, Tsai C-S (2014) The role of calpain-myosin 9-Rab7b pathway in mediating the expression of Toll-like receptor 4 in platelets: a novel mechanism involved in α -granules trafficking. *PLoS One* 9: e85833.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085833>
 176. Chao C-H, Wu W-C, Lai Y-C, Tsai P-J, Perng G-C, Lin Y-S, Yeh T-M (2019) Dengue virus nonstructural protein 1 activates platelets via Toll-like receptor 4, leading to thrombocytopenia and hemorrhage. *PLoS Pathog* 15: e1007625.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007625>
 177. Shiraki R, Inoue N, Kawasaki S, Takei A, Kadotani M, Ohnishi Y, Ejiri J, Kobayashi S, Hirata K-I, Kawashima S, Yokoyama M (2004) Expression of Toll-like receptors on human platelets. *Thromb Res* 113: 379–385.
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2004.03.023>
 178. Anabel A-S, Eduardo P-C, Pedro Antonio H-C, Carlos S-M, Juana N-M, Honorio T-A, Nicolás V-S, Sergio Roberto A-R (2014) Human platelets express Toll-like receptor 3 and respond to poly I:C. *Hum Immunol* 75: 1244–1251.
<https://doi.org/10.1016/j.humimm.2014.09.013>
 179. Zakeri A, Russo M (2018) Dual Role of Toll-like Receptors in Human and Experimental Asthma Models. *Front Immunol* 9: 1027.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01027>
 180. Shashkin PN, Brown GT, Ghosh A, Marathe GK, McIntyre TM (2008) Lipopolysaccharide is a Direct Agonist for Platelet RNA Splicing. *J Immunol* 181: 3495–3502.
 181. Cognasse F, Hamzeh-Cognasse H, Lafarge S, Delezay O, Pozzetto B, McNicol A, Garraud O (2008) Toll-like receptor 4 ligand can differentially modulate the release of cytokines by human platelets. *Br J Haematol* 141: 84–91.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.06999.x>
 182. Berthet J, Damien P, Hamzeh-Cognasse H, Arthaud C-A, Eyraud M-A, Zéni F, Pozzetto B, McNicol A, Garraud O, Cognasse F (2012) Human platelets can discriminate between various bacterial LPS isoforms via TLR4 signaling and differential cytokine secretion. *Clin Immunol* 145: 189–200.
<https://doi.org/10.1016/j.clim.2012.09.004>
 183. Zhang G, Han J, Welch EJ, Ye RD, Voyno-Yasenetskaya TA, Malik AB, Du X, Li Z (2009) Lipopolysaccharide stimulates platelet secretion and potentiates platelet aggregation via TLR4/MyD88 and the cGMP-dependent protein kinase pathway. *J Immunol* 182: 7997–8004.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802884>
 184. Koessler J, Niklaus M, Weber K, Koessler A, Kuhn S, Boeck M, Kobsar A (2019) The Role of Human Platelet Preparation for Toll-Like Receptors 2 and 4 Related Platelet Responsiveness. *TH Open* 3: e94–e102.
<https://doi.org/10.1055/s-0039-1685495>
 185. Damien P, Cognasse F, Eyraud M-A, Arthaud C-A, Pozzetto B, Garraud O, Hamzeh-Cognasse H (2015) LPS stimulation of purified human platelets is partly dependent on plasma soluble CD14 to secrete their main secreted product, soluble-CD40-Ligand. *BMC Immunol* 16: 3.
<https://doi.org/10.1186/s12865-015-0067-2>
 186. Gambaryan S, Kobsar A, Rukoyatkina N, Herterich S, Geiger J, Smolenski A, Lohmann SM, Walter U (2010) Thrombin and Collagen Induce a Feedback Inhibitory Signaling Pathway in Platelets Involving Dissociation of the Catalytic Subunit of Protein Kinase A from an NF κ B-I κ B Complex*. *J Biol Chem* 285: 18352–18363.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M109.077602>
 187. Hachem A, Yacoub D, Zaid Y, Mourad W, Merhi Y (2012) Involvement of nuclear factor κ B in platelet CD40 signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 425: 58–63.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.07.049>
 188. Lannan KL, Sahler J, Kim N, Spinelli SL, Maggirwar SB, Garraud O, Cognasse F, Blumberg N, Phipps RP (2015) Breaking the mold: transcription factors in the anucleate platelet and platelet-derived microparticles. *Front Immunol* 6: 48.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00048>
 189. Unsworth AJ, Flora GD, Gibbins JM (2018) Non-genomic effects of nuclear receptors: insights from the anucleate platelet. *Cardiovasc Res* 114: 645–655.
<https://doi.org/10.1093/cvr/cvy044>

190. Cognasse F, Hamzeh H, Chavarin P, Acquart S, Genin C, Garraud O (2005) Evidence of Toll-like receptor molecules on human platelets. *Immunol Cell Biol* 83: 196–198.
<https://doi.org/10.1111/j.1440-1711.2005.01314.x>
191. Thon JN, Peters CG, Machlus KR, Aslam R, Rowley J, Macleod H, Devine MT, Fuchs TA, Weyrich AS, Sempke JW, Flaumenhaft R, Italiano JE (2012) T granules in human platelets function in TLR9 organization and signaling. *J Cell Biol* 198: 561–574.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201111136>
192. Hally KE, La Flamme AC, Larsen PD, Harding SA (2016) Toll-like receptor 9 expression and activation in acute coronary syndrome patients on dual anti-platelet therapy. *Thromb Res* 148: 89–95.
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2016.10.026>
193. Panigrahi S, Ma Y, Hong L, Gao D, West XZ, Salomon RG, Byzova TV, Podrez EA (2013) Engagement of platelet toll-like receptor 9 by novel endogenous ligands promotes platelet hyper-reactivity and thrombosis. *Circ Res* 112: 103–112.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.274241>
194. Popović M, Smiljanić K, Dobutović B, Syrovets T, Simmet T, Isenović ER (2012) Thrombin and vascular inflammation. *Mol Cell Biochem* 359: 301–313.
<https://doi.org/10.1007/s11010-011-1024-x>
195. De Pablo-Moreno JA, Serrano LJ, Revuelta L, Sánchez MJ, Liras A (2022) The Vascular Endothelium and Coagulation: Homeostasis, Disease, and Treatment, with a Focus on the Von Willebrand Factor and Factors VIII and V. *Int J Mol Sci* 23: 8283.
<https://doi.org/10.3390/ijms23158283>
196. Tokunou T, Ichiki T, Takeda K, Funakoshi Y, Iino N, Shimokawa H, Egashira K, Takeshita A (2001) Thrombin induces interleukin-6 expression through the cAMP response element in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 1759–1763.
<https://doi.org/10.1161/hq1101.098489>
197. Popovic M, Laumonier Y, Burysek L, Syrovets T, Simmet T (2008) Thrombin-induced expression of endothelial CX3CL1 potentiates monocyte CCL2 production and transendothelial migration. *J Leukoc Biol* 84: 215–223.
<https://doi.org/10.1189/jlb.0907652>
198. Szaba FM, Smiley ST (2002) Roles for thrombin and fibrin(ogen) in cytokine/chemokine production and macrophage adhesion *in vivo*. *Blood* 99: 1053–1059.
<https://doi.org/10.1182/blood.v99.3.1053>
199. Chen D, Carpenter A, Abrahams J, Chambers RC, Lechler RI, McVey JH, Dorling A (2008) Protease-activated receptor 1 activation is necessary for monocyte chemoattractant protein 1-dependent leukocyte recruitment *in vivo*. *J Exp Med* 205: 1739–1746.
<https://doi.org/10.1084/jem.20071427>
200. Camerer E, Regard JB, Cornelissen I, Srinivasan Y, Duong DN, Palmer D, Pham TH, Wong JS, Pappu R, Coughlin SR (2009) Sphingosine-1-phosphate in the plasma compartment regulates basal and inflammation-induced vascular leak in mice. *J Clin Invest* 119: 1871–1879.
<https://doi.org/10.1172/jci38575>
201. Sun X-J, Chen M, Zhao M-H (2019) Thrombin Contributes to Anti-myeloperoxidase Antibody Positive IgG-Mediated Glomerular Endothelial Cells Activation Through SphK1-S1P-S1PR3 Signaling. *Front Immunol* 10: 237.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00237>
202. Delekta PC, Apel JJ, Gu S, Siu K, Hattori Y, McAllister-Lucas LM, Lucas PC (2010) Thrombin-dependent NF- κ B activation and monocyte/endothelial adhesion are mediated by the CARMA3-Bcl10-MALT1 signalosome. *J Biol Chem* 285: 41432–41442.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.158949>
203. Hirano K (2007) The roles of proteinase-activated receptors in the vascular physiology and pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27: 27–36.
<https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000251995.73307.2d>
204. Terada M, Kelly EAB, Jarjour NN (2004) Increased thrombin activity after allergen challenge: a potential link to airway remodeling? *Am J Respir Crit Care Med* 169: 373–377.
<https://doi.org/10.1164/rccm.200308-1156OC>
205. Козлов ВА, Тихонова ЕП, Савченко АА, Кудрявцев ИВ, Андронova НВ, Анисимова ЕН, Головкин АС, Демина ДВ, Здзитовецкий ДЭ, Калинина ЮС, Каспаров ЭВ, Козлов ИГ, Корсунский ИА, Кудлай ДА, Кузьмина ТЮ, Миноранская НС, Протеус АП, Старикова ЭА, Черданцев ДВ, Чесноков АВ, Шестерня ПА, Борисов АГ (2021) Клиническая иммунология. Практическое пособие для инфекционистов. Красноярск. Изд-во Поликор. [Kozlov VA, Tikhonova EP, Savchenko AA, Kudryavtsev IV, Andronova NV, Anisimova EN, Golovkin AS, Demina DV, Zdzitovetsky DE, Kalinina YS, Kasparov EV, Kozlov IG, Korsunsky IA, Kudlay DA, Kuzmina TY, Minoranskaya NS, Proteus AP, Starikova EA, Cherdantsev DV, Chesnokov AB, Shesternya PA, Borisov AG (2021) Clinical immunology. A practical guide for infectious diseases. Krasnoyarsk. Publ House Polikor. (In Russ)].

206. Noubouossie DF, Reeves BN, Strahl BD, Key NS (2019) Neutrophils: back in the thrombosis spotlight. *Blood* 133: 2186–2197.
<https://doi.org/10.1182/blood-2018-10-862243>
207. Wang Y, Li M, Stadler S, Correll S, Li P, Wang D, Hayama R, Leonelli L, Han H, Grigoryev SA, Allis CD, Coonrod SA (2009) Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *J Cell Biol* 184: 205–213.
<https://doi.org/10.1083/jcb.200806072>
208. Li P, Li M, Lindberg MR, Kennett MJ, Xiong N, Wang Y (2010) PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps. *J Exp Med* 207: 1853–1862.
<https://doi.org/10.1084/jem.20100239>
209. Kahn ML, Nakanishi-Matsui M, Shapiro MJ, Ishihara H, Coughlin SR (1999) Protease-activated receptors 1 and 4 mediate activation of human platelets by thrombin. *J Clin Invest* 103: 879–887.
<https://doi.org/10.1172/JCI6042>
210. St-Onge M, Lagarde S, Laflamme C, Rollet-Labelle E, Marois L, Naccache PH, Pouliot M (2010) Proteinase-activated receptor-2 up-regulation by Fcγ-receptor activation in human neutrophils. *The FASEB J* 24: 2116–2125.
<https://doi.org/10.1096/fj.09-146167>
211. Jenkins AL, Howells GL, Scott E, Le Bonniec BF, Curtis MA, Stone SR (1995) The response to thrombin of human neutrophils: evidence for two novel receptors. *J Cell Sci* 108 (Pt 9): 3059–3066.
<https://doi.org/10.1242/jcs.108.9.3059>
212. Hoeksema M, van Eijk M, Haagsman HP, Hartshorn KL (2016) Histones as mediators of host defense, inflammation and thrombosis. *Future Microbiol* 11: 441–453.
<https://doi.org/10.2217/fmb.15.151>
213. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, Weinrauch Y, Zychlinsky A (2004) Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 303: 1532–1535.
<https://doi.org/10.1126/science.1092385>
214. Gould TJ, Vu TT, Swystun LL, Dwivedi DJ, Mai SHC, Weitz JI, Liaw PC (2014) Neutrophil extracellular traps promote thrombin generation through platelet-dependent and platelet-independent mechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 34: 1977–1984.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304114>
215. Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, Schatzberg D, Monestier M, Myers DD, Wroblewski SK, Wakefield TW, Hartwig JH, Wagner DD (2010) Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 15880–15885.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>
216. McDonald B, Davis RP, Kim S-J, Tse M, Esmon CT, Kolaczowska E, Jenne CN (2017) Platelets and neutrophil extracellular traps collaborate to promote intravascular coagulation during sepsis in mice. *Blood* 129: 1357–1367.
<https://doi.org/10.1182/blood-2016-09-741298>
217. Longstaff C, Varjú I, Sótónyi P, Szabó L, Krumrey M, Hoell A, Bóta A, Varga Z, Komorowicz E, Kolev K (2013) Mechanical stability and fibrinolytic resistance of clots containing fibrin, DNA, and histones. *J Biol Chem* 288: 6946–6956.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.404301>
218. Lim CH, Adav SS, Sze SK, Choong YK, Saravanan R, Schmidtchen A (2018) Thrombin and Plasmin Alter the Proteome of Neutrophil Extracellular Traps. *Front Immunol* 9: 1554.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01554>
219. Unuvar Purcu D, Korkmaz A, Gunalp S, Helvacı DG, Erdal Y, Dogan Y, Suner A, Wingender G, Sag D (2022) Effect of stimulation time on the expression of human macrophage polarization markers. *PLoS One* 17: e0265196.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265196>
220. Peng Q, Nowocin A, Ratnasothy K, Smith RA, Smyth LA, Lechler RI, Dorling A, Lombardi G (2023) Inhibition of thrombin on endothelium enhances recruitment of regulatory T cells during IRI and when combined with adoptive Treg transfer, significantly protects against acute tissue injury and prolongs allograft survival. *Front Immunol* 13.
221. Ferrante CJ, Pinhal-Enfield G, Elson G, Cronstein BN, Hasko G, Outram S, Leibovich SJ (2013) The adenosine-dependent angiogenic switch of macrophages to an M2-like phenotype is independent of interleukin-4 receptor alpha (IL-4Rα) signaling. *Inflammation* 36: 921–931.
<https://doi.org/10.1007/s10753-013-9621-3>
222. Yang B-G, Kim A-R, Lee D, An SB, Shim YA, Jang MH (2023) Degranulation of Mast Cells as a Target for Drug Development. *Cells* 12: 1506.
<https://doi.org/10.3390/cells12111506>
223. Britzen-Laurent N, Weidinger C, Stürzl M (2023) Contribution of Blood Vessel Activation, Remodeling and Barrier Function to Inflammatory Bowel Diseases. *Int J Mol Sci* 24: 5517.
<https://doi.org/10.3390/ijms24065517>
224. Asero R, Riboldi P, Tedeschi A, Cugno M, Meroni P (2007) Chronic urticaria: A disease at a crossroad between autoimmunity and coagulation. *Autoimmun Rev* 7: 71–76.
<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2007.08.002>

225. Gordon JR, Zhang X, Stevenson K, Cosford K (2000) Thrombin Induces IL-6 but Not TNF α Secretion by Mouse Mast Cells: Threshold-Level Thrombin Receptor and Very Low Level Fc ϵ RI Signaling Synergistically Enhance IL-6 Secretion. *Cell Immunol* 205: 128–135. <https://doi.org/10.1006/cimm.2000.1714>
226. Rallabhandi P, Nhu QM, Toshchakov VY, Piao W, Medvedev AE, Hollenberg MD, Fasano A, Vogel SN (2008) Analysis of proteinase-activated receptor 2 and TLR4 signal transduction: a novel paradigm for receptor cooperativity. *J Biol Chem* 283: 24314–24325. <https://doi.org/10.1074/jbc.M804800200>
227. Nhu QM, Shirey K, Teijaro JR, Farber DL, Netzel-Arnett S, Antalis TM, Fasano A, Vogel SN (2010) Novel signaling interactions between proteinase-activated receptor 2 and Toll-like receptors *in vitro* and *in vivo*. *Mucosal Immunol* 3: 29–39. <https://doi.org/10.1038/mi.2009.120>
228. Nhu QM, Shirey KA, Pennini ME, Stiltz J, Vogel SN (2012) Proteinase-activated receptor 2 activation promotes an anti-inflammatory and alternatively activated phenotype in LPS-stimulated murine macrophages. *Innate Immunol* 18: 193–203. <https://doi.org/10.1177/1753425910395044>
229. Bucci M, Vellecco V, Harrington L, Brancialeone V, Roviezzo F, Mattace Raso G, Ianaro A, Lungarella G, De Palma R, Meli R, Cirino G (2013) Cross-talk between toll-like receptor 4 (TLR4) and proteinase-activated receptor 2 (PAR(2)) is involved in vascular function. *Br J Pharmacol* 168: 411–420. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02205.x>
230. Kersse K, Bertrand MJM, Lamkanfi M, Vandenabeele P (2011) NOD-like receptors and the innate immune system: coping with danger, damage and death. *Cytokine Growth Factor Rev* 22: 257–276. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2011.09.003>
231. Uehara A, Imamura T, Potempa J, Travis J, Takada H (2008) Gingipains from *Porphyromonas gingivalis* synergistically induce the production of proinflammatory cytokines through protease-activated receptors with Toll-like receptor and NOD1/2 ligands in human monocytic cells. *Cell Microbiol* 10: 1181–1189. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2008.01119.x>
232. Kissel K, Berber S, Nockher A, Santoso S, Bein G, Hackstein H (2006) Human platelets target dendritic cell differentiation and production of proinflammatory cytokines. *Transfusion* 46: 818–827. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2006.00802.x>
233. Osugi Y, Vuckovic S, Hart DNJ (2002) Myeloid blood CD11c(+) dendritic cells and monocyte-derived dendritic cells differ in their ability to stimulate T lymphocytes. *Blood* 100: 2858–2866. <https://doi.org/10.1182/blood.V100.8.2858>
234. Li X, Syrovets T, Paskas S, Laumonnier Y, Simmet T (2008) Mature dendritic cells express functional thrombin receptors triggering chemotaxis and CCL18/pulmonary and activation-regulated chemokine induction. *J Immunol* 181: 1215–1223. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.2.1215>
235. Rullier A, Gillibert-Duplantier J, Costet P, Cubel G, Haurie V, Petibois C, Taras D, Dugot-Senant N, Deleris G, Bioulac-Sage P, Rosenbaum J (2008) Protease-activated receptor 1 knockout reduces experimentally induced liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 294: G226–G235. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00444.2007>
236. Vowinkel T, Wood KC, Stokes KY, Russell J, Tailor A, Anthoni C, Senninger N, Kriegelstein CF, Granger DN (2007) Mechanisms of platelet and leukocyte recruitment in experimental colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293: G1054–G1060. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00350.2007>
237. Niessen F, Schaffner F, Furlan-Freguia C, Pawlinski R, Bhattacharjee G, Chun J, Derian CK, Andrade-Gordon P, Rosen H, Ruf W (2008) Dendritic cell PAR1-S1P3 signalling couples coagulation and inflammation. *Nature* 452: 654–658. <https://doi.org/10.1038/nature06663>
238. Wang KX, Denhardt DT (2008) Osteopontin: role in immune regulation and stress responses. *Cytokine Growth Factor Rev* 19: 333–345. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2008.08.001>
239. Sozzani S (2005) Dendritic cell trafficking: more than just chemokines. *Cytokine Growth Factor Rev* 16: 581–592. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2005.04.008>
240. Tiberio L, Del Prete A, Schioppa T, Sozio F, Bosio D, Sozzani S (2018) Chemokine and chemotactic signals in dendritic cell migration. *Cell Mol Immunol* 15: 346–352. <https://doi.org/10.1038/s41423-018-0005-3>
241. Shao Z, Morser J, Leung LLK (2014) Thrombin cleavage of osteopontin disrupts a pro-chemotactic sequence for dendritic cells, which is compensated by the release of its pro-chemotactic C-terminal fragment. *J Biol Chem* 289: 27146–27158. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.572172>

242. Cui G, Chen J, Wu Z, Huang H, Wang L, Liang Y, Zeng P, Yang J, Uede T, Diao H (2019) Thrombin cleavage of osteopontin controls activation of hepatic stellate cells and is essential for liver fibrogenesis. *J Cell Physiol* 234: 8988–8997.
<https://doi.org/10.1002/jcp.27571>
243. López ML, Soriano-Sarabia N, Bruges G, Marquez ME, Preissner KT, Schmitz ML, Hackstein H (2014) Expression pattern of protease activated receptors in lymphoid cells. *Cell Immunol* 288: 47–52.
<https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.02.004>
244. Naldini A, Carney DH, Bocci V, Klimpel KD, Asuncion M, Soares LE, Klimpel GR (1993) Thrombin enhances T cell proliferative responses and cytokine production. *Cell Immunol* 147: 367–377.
<https://doi.org/10.1006/cimm.1993.1076>
245. The Role of the Thrombin/PAR Axis in the Anti-tumor CD8+ T Cell Response Following Immune Checkpoint Inhibition Therapy. In: ISTH Congress Abstracts. <https://abstracts.isth.org/abstract/the-role-of-the-thrombin-par-axis-in-the-anti-tumor-cd8-t-cell-response-following-immune-checkpoint-inhibition-therapy>. Accessed 1 Aug 2023.
246. Tiper IV, East JE, Subrahmanyam PB, Webb TJ (2016) Sphingosine 1-phosphate signaling impacts lymphocyte migration, inflammation and infection. *Pathog Dis* 74: ftw063.
<https://doi.org/10.1093/femspd/ftw063>
247. Ledgerwood LG, Lal G, Zhang N, Garin A, Esses SJ, Ginhoux F, Merad M, Peche H, Lira SA, Ding Y, Yang Y, He X, Schuchman EH, Allende ML, Ochando JC, Bromberg JS (2008) The sphingosine 1-phosphate receptor 1 causes tissue retention by inhibiting the entry of peripheral tissue T lymphocytes into afferent lymphatics. *Nat Immunol* 9: 42–53.
<https://doi.org/10.1038/ni1534>
248. Liu G, Burns S, Huang G, Boyd K, Proia RL, Flavell RA, Chi H (2009) The receptor S1P1 overrides regulatory T cell-mediated immune suppression through Akt-mTOR. *Nat Immunol* 10: 769–777.
<https://doi.org/10.1038/ni.1743>

Thrombin in the Crossroad Hemostasis and Inflammation

E. A. Starikova^{a, b, c, *}, J. T. Mammedova^a, and O. Ya. Porembskaya^{a, d}

^a*Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia*

^b*Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint-Petersburg, Russia*

^c*Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia*

^d*Mechnikov North-Western State Medical University, Saint-Petersburg, Russia*

*e-mail: Starickova@yandex.ru

Hemostasis and immune responses are evolutionarily and functionally related systems on the coordinated work of which vital processes – protection from blood loss and pathogens, depend. Thrombin is the central enzyme of the coagulation system, which has pronounced pro-inflammatory activity and plays an important role in the pathogenesis of a wide range of infectious and non-infectious diseases. Many humoral immune factors regulating inflammation (IL-1 α , C3 and C5 complement components) and cell migration to the lesion site (osteopontin, chimerin) are thrombin targets and become activated by proteolytic cleavage. The main thrombin receptors – protease-activating receptors (PARs), are expressed on many cells of the immune system and are considered as non-classical pattern-recognizing receptors (PRRs). The effect of thrombin on innate immune cells may not be related to its enzymatic effects. Thrombin action on adaptive immunity is just beginning to be studied. Recent studies show that thrombin can act as an alarmin, stimulate the maturation of dendritic cells and adaptive immune responses. The production of this factor also affects Th cell polarization, which determines immune response strategy. The study of the immune functions of the components of the coagulation system reveals new pathogenetic mechanisms of the development of sterile inflammation and expands existing possibilities of allergic, autoimmune and neuroinflammatory disease therapy.

Keywords: thrombin, hemostasis, protease-activated receptor, inflammation, innate immunity, adaptive immunity