



**TURUN  
YLIOPISTO**

## **Neutrofiilien solunulkoiset ansat - merkitys immuunipuolustuksessa ja tautien patogeneesissä**

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu  
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kandidaatintutkielma

**Tutkinto-ohjelma, oppiaine:** Biokemia

**Tekijä(t):** Lauri Becker

**Otsikko:** Neutrofiilien solunulkoiset ansat – merkitys immuunipuolustuksessa ja tautien patogeneesissä.

**Ohjaaja(t):** Dosentti Jari Nuutila

**Sivumäärä:** 17 sivua

**Päivämäärä:** 25.05.2026

Immuunipuolustuksen runsaslukuisimpia valkosoluja ovat neutrofiilit. Neutrofiilien on jo kauan tiedetty taistelevan patogeeneja vastaan fagosytoimalla. Hiljattain on kuitenkin löydetty myös mekanismi, jossa neutrofiilit tuhoavat itsensä samalla vapauttaen verkkomaisia rakenteita, jotka vangitsevat ja neutralisoivat bakteereita, viruksia ja sieniä. Näiden neutrofiilien solunulkoisiksi ansoiksi kutsuttujen rakenteiden koostumus ja muodostumismekanismit sekä toimintaa immuunipuolustuksessa on pyritty selvittämään viimeisen 20 vuoden ajan. Immuunipuolustusta tukevien toimintojen ohella ansojen on huomattu kuitenkin myös edistävän useita patologisia tiloja, kuten syöpää. Tutkimuksen painopiste onkin siirtynyt selvittämään ansoista aiheutuvia haitallisia vaikutuksia ja mahdollisia hoitokeinoja niiden lievittämiseen. Tämä kirjallisuuskatsaus kokoaa yhteen tämänhetkistä tietoa ansojen rakenteesta ja muodostumisesta, toiminnasta immuunipuolustuksessa sekä haitallisista vaikutuksista eri patologisissa tiloissa.

**Avainsanat:** neutrofiili, NEToosi, immuunipuolustus, solukuolema

# Sisällysluettelo

<b>1</b>	<b>Johdanto</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Neutrofiilien solunulkoiset ansat</b>	<b>5</b>
2.1	Ansojen koostumus	5
2.2	Ansojen muodostumisreitit	6
2.2.1	Lyyttinen NEToosi	6
2.2.2	Ei-lyyttinen NEToosi	7
2.3	NEToosi ja muut solukuoleman muodot	8
<b>3</b>	<b>Ansot immuunipuolustuksessa</b>	<b>10</b>
3.1	Isännän puolustus	10
3.2	Immunotromboosi	11
<b>4</b>	<b>Ansojen patogeneesi</b>	<b>14</b>
4.1	Ansot autoimmuunisairauksissa	14
4.2	Ansot ja Psoriaasi	15
4.3	Ansot vaurioittavat kudoksia	15
4.4	Ansot ja Syöpä	16
4.5	Ansot ja Covid-19	17
<b>5</b>	<b>Solunulkoiset ansat hoidon kohteena</b>	<b>19</b>
	<b>Lähteet</b>	<b>21</b>

## 1 Johdanto

Neutrofiilit ovat synnynnäisen immunitetin monijaokkeisen tuman omaavia granulosyyttejä, joita on ihmisen verenkierrossa 50–70 % kaikista valkosoluista (Amulic ja muut 2012). Neutrofiilit siirtyvät verenkierrosta muiden immuunisolujen vapauttamien kemokiinien houkuttelemana infektiopaikalle, jossa ne osallistuvat patogeenien tappamiseen fagosytoosin ja degranulaation avulla. Fagosytoosissa neutrofiilit nielevät pienempiä patogeenejä sisäänsä, jossa syntynyt fagosomi yhdistyy neutrofiilien granuloiden kanssa (Lee ja muut 2003). Neutrofiilien antimikrobiaalinen kyky perustuu näihin granuloihin, jotka muiden entsyymien ohella sisältävät NADPH-oksidaasia (engl. NADPH-oxidase, NOX), joka tuottaa patogeeneille myrkyllisiä reaktiivisia happilajeja (engl. Reactive Oxygen Species, ROS).

Fagosytoosin ja degranulaation lisäksi neutrofiileilla on kolman puolustusmekanismi, NEToosi (Brinkmann ja muut 2004). NEToosi on säädelty solukuoleman muoto, jossa neutrofiilin solukalvon repeytymisen yhteydessä soluvälitilaan vapautuu kromatiinin ja solun proteiinien muodostamia verkkomaisia rakenteita. Näitä rakenteita kutsutaan neutrofiilien solunulkoisiksi ansoiksi (engl. Neutrophil Extracellular Traps, NETs). Lisäksi tunnetaan myös NEToosin muoto, jossa kalvorakenteet eivät repeydy ja DNA sekä siihen liitetyt proteiinit poistetaan solusta vesikkeliin mukana. Tällaisen NEToosin läpikäyvät neutrofiilit säilyttävät osan toiminnoistaan. Fagosytoosin ja degranulaation rinnalla NEToosin tehtävä on häiritä tunkeutuvien patogeenien toimintaa.

Normaaleissa olosuhteissa ja terveellä ihmisellä NEToosi on tehokas mekanismi patogeenien pysäyttämiseen. NEToosiin liittyy kuitenkin myös immunitetille haitallinen puoli, jota esiintyy useissa tautitiloissa, kun neutrofiilien NEToosi on säätelemätöntä. Oikein toimiessaan neutrofiilit vangitsevat ja tuhoavat NEToosin avulla bakteereita, viruksia ja sieniä, sekä osallistuvat verenkierrossa paikallisesti patogeenien leviämisen estämiseen. Säätelemättömänä NEToosissa vapautuvat solunulkoiset ansat kuitenkin voivat vaurioittaa kudoksia sekä edistää useiden patologisten tilojen heikentymistä. Näihin kuuluvat esimerkiksi monet autoimmuunisairaudet ja syöpä.

Tämä tutkielman tavoitteena on käydä läpi ansojen rakennetta ja muodostumisen mekanismeja tämän hetken tiedon pohjalta sekä yhdistää rakenne ansojen tehtäviin immuunipuolustuksessa. Lisäksi tutkielmassa käsitellään myös NEToosin isännälleen aiheuttamaa tuhoa ja mahdollisia tapoja lieventää kyseisiä negatiivisia vaikutuksia.

## 2 Neutrofiilien solunulkoiset ansat

Neutrofiilien solunulkoiset ansat ovat soluvälitilaan vapautuneita DNA:sta ja siihen kiinnittyneistä proteiineista rakentuvia säikeitä, jotka osallistuvat immuunipuolustukseen immobilisoimalla ja myös tappamalla patogeeneja (Fuchs ja muut 2007). Ansojen vapautuminen tapahtuu pääasiassa solukuolemaan johtavassa prosessissa, joka on nimetty NEToosiksi. Prosessin alussa neutrofiilit lopettavat liikkumisen ja depolarisoituvat. Tätä seuraa tumakotelon hajoaminen ja DNA:n dekonzensoituminen. Dekonzensoitunut kromatiini siirtyy solulimaan ja sekoittuu siellä soluliman ja granuloiden proteiinien kanssa. Lopulta neutrofiilien solukalvo repeää ja muodostuneet verkkomaiset rakenteet vapautuvat solusta ulos.

### 2.1 Ansojen koostumus

Neutrofiilien solunulkoisten ansojen muodostuminen on yksi neutrofiilien tavoista taistella patogeeneja vastaan. Ansojen spontaani muodostuminen on kuitenkin harvinaista, minkä takia niiden *in vitro* tutkiminen vaatii neutrofiilien indusoimista erilaisten ärsykkeiden avulla (Petretto ja muut 2019). Yleisimpiä käytettyjä ärsykejä ovat kemialliset yhdisteet forboliesteri (engl. Phorbol Myristate Acetate, PMA) ja kalsimysiini (engl. Calcimycin tai Calcium ionophore, A23187) sekä mikrobit, kuten bakteeri *S. aureus* ja sieni *C. albicans*. Lipopolysakkaridit (LPS) ovat myös yleisesti käytettyjä rakenteita, jotka jäljittelevät hyvin infektiotilaa. Patogeenien lisäksi myös useat endogeeniset rakenteet, kuten immuunikompleksit, aktivoituneet verihiutaleet sekä sytokiinit, indusoivat NEToosia.

Neutrofiilien solunulkoiset ansat havaittiin ensimmäisen kerran vuonna 2004 (Brinkmann ja muut 2004). Tutkimuksessa aktivoituneita lepääviä neutrofiileja indusoi PMA:lla, IL-8:lla sekä lipopolysakkaridilla. Elektronimikroskopian avulla huomattiin solujen väliseen tilaan muodostuneita säikeitä, jotka koostuivat löystyneestä kromosomaalisesta DNA:sta ja siihen kiinnittyneistä proteiineista. Myöhemmin on myös havaittu ansoja, joissa DNA on joko kokonaan (Yousefi ja muut 2009) tai osittain (Lood ja muut 2016) mitokondriaalista DNA:ta. Ansoihin päätyvän DNA:n alkuperän uskotaan määräytyvän pitkälti käytettyjen ärsykkeiden mukaan. Ansojen DNA:sta noin 10 % oli mitokondriaalista DNA:ta, kun neutrofiilien stimulanttina toimi PMA, nigericin, *C. albicans* tai B-streptokokki (engl. Group B streptococcus, GBS) (Kenny ja muut 2017). Kalsimysiinillä indusoitujen ansojen DNA:n osuudesta noin 25 % oli mitokondriaalista.

DNA:n alkuperän määräävät mekanismit ovat vielä osittain tuntemattomia. Paremminkin tunnetaan ansojen lopullinen proteiinikoostumus sekä ansojen muodostumisen kannalta

merkittävät proteiinit. Kuten DNA:n, myös ansojen proteiinikoostumus on osittain erilainen riippuen siitä, mikä yhdiste tai mikrobi toimii ärsykkeenä. Ansoihin on kuitenkin aina kiinnittyneenä joukko konservoituneita, toiminnalle ja muodostumiselle tärkeitä proteiineja.

Vuonna 2009 tehdyssä tutkimuksessa ansoista tunnistettiin 24 eri proteiinia, kun neutrofiilejä stimuloitiin PMA:lla (Urban ja muut 2009). Tärkeimpiä tunnistettuja proteiineja olivat asurofiilisten granuloiden neutrofiili elastaasi (NE) ja myeloperoksidiaasi (MPO), nukleosomin histoniproteiinit (H2A, H2B, H3 ja H4) sekä solulimassa sijaitseva kalprotektiini (engl. Calprotectin). Kun ärsykkeenä käytettiin gramnegatiivisen *Pseudomonas aeruginosa* bakteerin eri kantoja, tunnistettiin kaikkien kantojen välillä 33 yhteistä ansoihin liitettyä proteiinia (Dwyer ja muut 2014). Yhteensä eri kantojen indusoimissa ansoissa tunnistettiin 45–80 proteiinia. Ärsykkeille yhteisten proteiinien joukossa oli aiemmin nimettyjen proteiinien lisäksi tärkeitä antimikrobiaalisia proteiineja, kuten laktoferrini (engl. Lactoferrin, LF), AZU1 (engl. Azurocidin 1) sekä katepsiini G (engl. Cathepsin G, CTSG). Tuoreemmassa tutkimuksessa PMA:lla, kalsimysiinillä ja *E. coli* LPS:llä indusoitujen neutrofiilien muodostamista ansoista pystyttiin identifioimaan kokonaisuudessaan 330 eri proteiinia, joista 74 proteiinia löytyi kaikista lopputuotteista (Petretto ja muut 2019). Tunnistetuista proteiineista iso osa on proteiineja, jotka on liitetty tulehdustilaan sekä autoimmuunisairauksiin.

## 2.2 Ansojen muodostumisreitit

Tunnetuin ja yleisin NEToosin muoto on nimetty lyyttiseksi NEToosiksi (engl. Suicidal NETosis) (Fuchs ja muut 2007). Tämä muodostumisreitti kestää 3–8 tuntia ja lopputuloksena neutrofiili kuolee solukalvon repeytyttyä. Myöhemmin on havaittu myös NEToosin muoto, jossa ansojen vapautuminen tapahtuu 5–60 minuutissa neutrofiilin säilyttäessä osan toimintakyvystään. Tätä vaihtoehtoista mekanismia kutsutaan ei-lyyttiseksi NEToosiksi (engl. Vital NETosis) (Pilszczek ja muut 2010). Näiden selkeästi toisistaan erotettavissa olevien muodostumisreittien lisäksi on havaittu mitokondrion DNA:ta (mtDNA) sisältäviä ansoja (Yousefi ja muut 2009). NEToosin voi laukaista aiemmin jo mainitut ja monet muut ärsykkeet. Eri ärsykkeiden on kuitenkin huomattu aktivoivan vaihtelevasti eri NEToosin muotoja.

### 2.2.1 Lyyttinen NEToosi

Lyyttisen NEToosin lopputuloksena ansoja vapautuu neutrofiileistä solukalvon repeytyessä, johtaen solukuolemaan (Fuchs ja muut 2007) (Kuva 1). Tämä muoto on riippuvainen NOX-kompleksin tuottamista ROS-yhdisteistä. ROS-tuotannosta riippuvaisen lyyttisen NEToosin voi laukaista mm. PMA ja useat mikrobit, kuten *C. albicans* ja GBS (Kenny ja muut 2017).

Ärsykkeet aktivoivat suoraan proteiinikinaasi C:n (engl. Protein kinase C, PKC), joka puolestaan aktivoi NOX-kompleksin tuottamaan ROS-yhdisteitä. ROS-yhdisteet aktivoivat asurofiilisten granuloiden MPO:sta, NE:stä ja CTSG:stä koostuvia proteiinikomplekseja. MPO reagoi ROS-yhdisteiden kanssa tuottaen hapettavia yhdisteitä, jotka vapauttavat NE:n kompleksista mahdollistaen sen siirtymisen tumaan. Tumassa NE proteolysoi nukleosomien histoneita, mikä johtaa kromatiinin löystymiseen. Myös MPO siirtyy tumaan ja kiinnittyy kromatiiniin edistään sen löystymistä. MPO:n toimintamekanismi tumassa tunnetaan heikosti, mutta tiedetään, että se on riippumatonta sen entsyymaattisesta aktiivisuudesta.

Samanaikaisesti NE-aktiivisuuden kanssa, lisääntynyt kalsiumionien määrä solussa johtaa peptidyliargininideiminaasi 4 (PAD4) aktivaatioon (Leshner ja muut 2012). PAD4 on vastuussa histonien (H3, H2A ja H4) hypersitrullinaatiosta, jossa entsyymi katalysoi histoniproteiinien arginiinin aminohapon muuttumista sitrulliiniksi. Sitrullinaatio neutralisoi histonien varausta, heikentäen histonien ja DNA:n välisiä elektrostaattisia vuorovaikutuksia.

Noin 3,5 tunnin kuluttua NEToosin indusoinnista, havaitaan tumakalvon repeytyminen (Fuchs ja muut 2007). Löystynyt kromatiini ja histonit sekoittuvat solulimassa granulaaristen proteiinien kanssa, muodostaen valmiita ansoja. NEToosin aikana solukalvon läpäisevyys muuttuu Gasdermin D (GSDMD) -proteiinin toimesta, mikä mahdollistaa solun lyysaantumisen ja ansojen vapautumisen (Sollberger ja muut 2018). GSDMD on kalvoihin reikiä muodostava proteiini, jonka tiedetään toimivan erityisesti pyroptoosissa. Lyyttisessä NEToosissa NE pilkkoo GSDMD:n sen aktiiviseen muotoon.

Kenny ja muut (2017) testasivat lyyttisen NEToosin riippuvuutta ROS-tuotannosta neutrofiileilla, jotka eristettiin kroonista granulomatoottista tautia (engl. Chronic granulomatous disease, CGD) sairastavista potilaista. CGD-potilailla on mutaatioita geneissä, jotka koodaavat NOX-kompleksin alayksiköitä. Tämä tarkoittaa, että potilaiden neutrofiilit eivät pysty tuottamaan ROS-yhdisteitä. Huomattiin, että ROS-yhdisteiden tuotanto oli välttämätöntä PMA:lla ja osittain myös mikrobeilla indusoidussa NEToosissa. *C. albicans* hiiva saattoi myös aktivoida NEToosia itse tuottamiensa ROS-yhdisteiden kautta niin, ettei NOX-kompleksia tarvittu.

### **2.2.2 Ei-lyyttinen NEToosi**

Ei-lyyttisessä muodossa havaitaan ansojen muodostuminen erittäin nopeasti ilman NOX-kompleksin tuottamia ROS-yhdisteitä (Pilszczek ja muut 2010). Toisin kuin solukuolemaan

johtavassa NEToosissa, ei-lyyttisessä NEToosissa neutrofiilit säilyttävät osan normaaleista toiminnoistaan. Neutrofiilien tiedetään olevan lyhytikäisiä lopullisesti erilaistuneita soluja, jotka pystyvät osittain säilyttämään elin- ja efektoritoimintonsa myös ilman proteiinisynteesiä. Toisin sanoen tuman ja sen sisältämän kromatiinin on tiedetty olevan neutrofiileille ei-välttämätöntä jo kauan (Malawista ja muut 1989). Tämä tukee ajatusta siitä, että neutrofiili pystyisi jatkamaan liikkumista ja fagosytoosia lyhyen aikaa DNA:n poistamisen jälkeen.

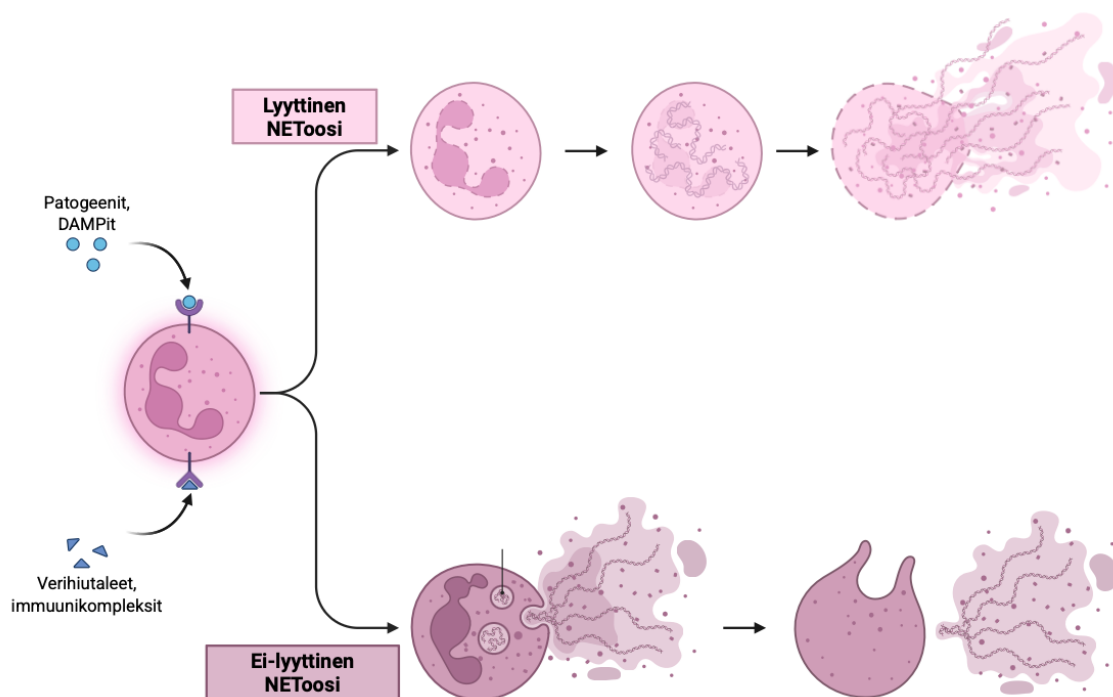
Ei-lyyttinen kromatiinin vapautuminen kuvattiin ensimmäisenä systeemissä, jossa LPS:llä aktivoidut verihiutaleet indusoivat nopeaa ansojen vapautumista (Clark ja muut 2007). Myöhemmin Pilszczek ja muut (2010) havaitsivat, että *S. aureuksella* indusoidut neutrofiilit lisäsivät soluvälitilassa havaittavan DNA:n määrää 10 kertaiseksi tunnin sisällä, kun muiden bakteerien kohdalla DNA:n määrä kasvoi vain 2–3 kertaiseksi. *In vivo* tutkimuksessa polymorfonukleaariset solut vapauttivat nopeasti ansoja ihon bakteeri-infektiossa (Yipp ja muut 2012). Tätä nopeaa NEToosia on sittemmin huomattu laukaisevan monet tekijät, kuten GM-CSF (engl. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), aktivoituneet verihiutaleet, A23187 ja immuunikompleksit (Gao ja muut 2025). Ei-lyyttinen NEToosi perustuu vesikulaatioon. Tässä mekanismissa kromatiini löystyy ja yhdistyy granulaaristen proteiinien kanssa, jonka jälkeen se pakkautuu tumasta muodostuneisiin vesikkeleihin. Neutrofiili voi poistaa vesikkelit soluvälitilaan säilyttäen osan toiminnastaan.

Myös mitokondriaalista DNA:ta sisältäviä ansoja on raportoitu esiintyvän (Yousefi ja muut 2009). Tutkimuksessa neutrofiilit tuottivat mtDNA:ta sisältäviä ansoja noin 15–20 minuuttia indusoinnin jälkeen. Neutrofiilit altistettiin ensin GM-CSF sytokiinille, jonka jälkeen niitä indusoitiin LPS:llä tai C5a:lla. Ansojen vapautuminen oli ROS-riippuvaista. Lymfosyyttien on myös raportoitu vapauttavan mtDNA:ta niin, että solut jäävät eloon (Ingelsson ja muut 2018). Granulosyyteistä poikkeavasti nämä rakenteet eivät kuitenkaan sisältäneet lyyttisiä entsyymejä. Solunulkoisen mtDNA:n toiminnallinen rooli on vielä tuntematon, mutta NEToosiin liitettyjä mtDNA ansoja on löydetty verestä useissa eri patologisissa tiloissa, kuten SLE:ssä (engl. Systemic lupus erythematosus, SLE) (Lood ja muut 2016).

### **2.3 NEToosi ja muut solukuoleman muodot**

Lyyttinen NEToosi johtaa muiden ohjelmoitujen solukuolemien tavoin neutrofiilin kuolemaan. Siksi on tärkeää pystyä erottamaan NEToosi omaksi tapahtumakseen. Apoptoosi on ohjelmoidun solukuoleman muoto, jonka tehtävä on poistaa elimistöstä vaurioituneet, tarpeettomat ja vanhat solut (Rosazza ja muut 2021). Apoptoosi on täysin riippuvainen

kaspaasiensyymeistä, jotka pilkkovat solun proteiineja johtaen solun kuolemaan. Apoptoosin estäminen kaspaasi-inhibiittorilla ei vaikuttanut NEToosiin ja ansojen muodostumiseen. NEToosi on siis seurausta ei-apoptoottisesta prosessista. Molekulaarisella tasolla myös pyroptoosi on riippuvainen yhdestä tai useammasta kaspaasiensyymistä riippuen sen laukaisevasta ärsykkeestä.



Kuva 1. Riippuen ärsykkeestä neutrofiili käy läpi joko lyttisen tai ei-lyttisen NEToosin. Luotu Biorenderillä, Biorender.com.

### 3 Ansat immuunipuolustuksessa

Osana synnynnäistä immuniteettia ansojen tärkein tehtävä on puolustaa elimistöä patogeeneilta (Papayannopoulos 2018). Ansat koostuvat DNA:sta ja histoneista sekä granulaarisista ja soluliman proteiineista. Nämä proteiinit ja ansojen verkkomainen rakenne vastaavat fysiologisista toiminnoista. Infektiossa patogeenit jäävät ansoihin jumiin ja immobilisoituvat. Ansojen antimikrobiaaliset proteiinit ovat mukana sienien, gram-negatiivisten ja gram-positiivisten bakteerien, virusten sekä loisten neutraloinnissa. Immuunipuolustuksen lisäksi ansat ovat mukana immuunijärjestelmän säätelyssä ja immunotromboosissa.

#### 3.1 Isännän puolustus

Neutrofiilit ovat fagosyyttejä, jotka tappavat mikrobeja nielemällä ne sisäänsä. Jotkin mikrobit ovat kuitenkin liian suuria nieltäväksi. Neutrofiileilla on erityinen mikrobien tunnistusmekanismi, joka mahdollistaa antimikrobiaalisten reaktioiden valikoimisen patogeenien koon mukaan. Erityisesti sienien kohdalla fagosytoosi on osoittautunut infektioiviseksi puolustusmekanismiksi, mikä viittaa NEToosin välttämättömyyteen puolustuksessa isompia mikrobeja vastaan (Branzk ja muut 2014). *C. albicans* on hiivalaji, joka muodostaa suuria sienen peräkkäisistä soluista muodostuneita rihmoja, hyyfejä. Tutkimuksessa *Candida albicans* hiiva laukaisi NEToosin vain, kun neutrofiilit kohtasivat näitä suurikokoisia hiivapartikkeleita. NEToosia ei siis välttämättä säätele hiivan ekspressoimat pintamolekyylit tai hiivan entsyymaattinen aktiivisuus vaan sen koko. Ansojen antifungaalisesta aktiivisuudesta vastaa kalprotektiini (Urban ja muut 2009). Kalprotektiini toimii kelaattina eli se sitoo mikrobien kasvulle tärkeitä metalli-ioneja, kuten sinkki- ja magnesiumioneja. Ansojen antifungaalinen aktiivisuus pystyttiin estämään lisäämällä sinkki- tai magnesiumionien konsentraatioita koeympäristössä.

Ansat vangitsevat ja osallistuvat bakteerien tuhoamiseen (Brinkmann ja muut 2004). Brinkmann ja muut havaitsivat *in vitro* sekä gram-negatiivisten- että gram-positiivisten bakteerien jäävän kiinni ansoihin. Ansojen kyky tappaa bakteereita on seurausta niiden rakenteen mahdollistamasta korkeasta paikallisesta antimikrobiaalisten proteiinien pitoisuudesta. Verihiutaleiden ekspressoima TLR4 (engl. Toll-like receptor 4) sitoo septisessä veressä gram-negatiivisten bakteerien LPS-molekyylejä ja näin aktivoituneet verihiutaleet indusoivat neutrofiileja tuottamaan ansoja (Clark ja muut 2007). Tätä verihiutaleiden vuorovaikutusta neutrofiilien kanssa havaittiin *in vivo* hiirimallissa, mutta myös ihmissoluilla virtauskammiossa. Sekä *in vivo* että *in vitro* ansat vangitsivat *E. coli* -bakteereita tehokkaasti ja

lisäämällä virtauskammioon DNAaseja, bakteerien vangitseminen väheni merkittävästi. Ansoissa esiintyvät seriiniproteaasit, kuten NE ja CTSG, pystyvät vaurioittamaan bakteereja pilkkomalla solukalvon proteiineja (Domon ja Terao 2021). Ansojen bakterisidinen rooli on kuitenkin kyseenalaista ja tärkeämmässä roolissa uskotaan olevan bakteerien vangitseminen. Silmän sarveiskalvon *Pseudomonas aeruginosa* -infektiossa ansoilla havaittiin tärkeä rooli bakteerien leviämisen estämisessä (Thanabalasuriar ja muut 2019). Kohdatessaan *P. aeruginosan* muodostamassa biofilmmissä ekspressoitun tyypin III erityysjärjestelmän (engl. Type III secretion system, T3SS), neutrofiilit alkavat tuottaa solunulkoisia ansoja. Ansat estävät bakteerien levittäytymistä aivoihin, mutta samalla osallistuvat antibioottiresistentin biofilmin muodostumiseen.

Neutrofiilien solunulkoisilla ansoilla on myös todettuja rooleja virusten torjunnassa. Verkkomainen rakenne vangitsee ja immobilisoi viruspartikkeleita sähköstaattisten voimien avulla (Barr ja muut 2018). Positiivisesti varautuneiden aminohappojen avulla ansat pystyvät sitomaan negatiivisen pintavarauksen omaavia viruksia, kuten influenssa A:ta, HIV-1:tä ja norovirusta. Barr ja muut havaitsivat *in vivo* tutkimuksessa ansojen kaappaavan HIV-VLP (engl. HIV viral-like particles, HIV-VLP) rakenteita 3–4 kertaa tehokkaammin dendriittisoluihin verrattuna. HIV-1:n kaappaamisen lisäksi ansat edistävät viruksen tuhoamista useiden antimikrobiaalisten proteiinien kautta (Saitoh ja muut 2012). Alfa-defensiinit ovat pieniä peptideitä, jotka pystyvät tuhoamaan viruksia rikkomalla niiden vaipan rakennetta. Ansoissa esiintyvä LL37 (engl. Cathelicidin) on pieni peptidi, jolla on mahdollinen elimistöä suojaava rooli virusinfektioissa (Wang ja muut 2021). Tutkimuksessa LL37 pystyi estämään pseudovirusten toiminnan sitoutumalla itse virusten kohdereseptoreihin.

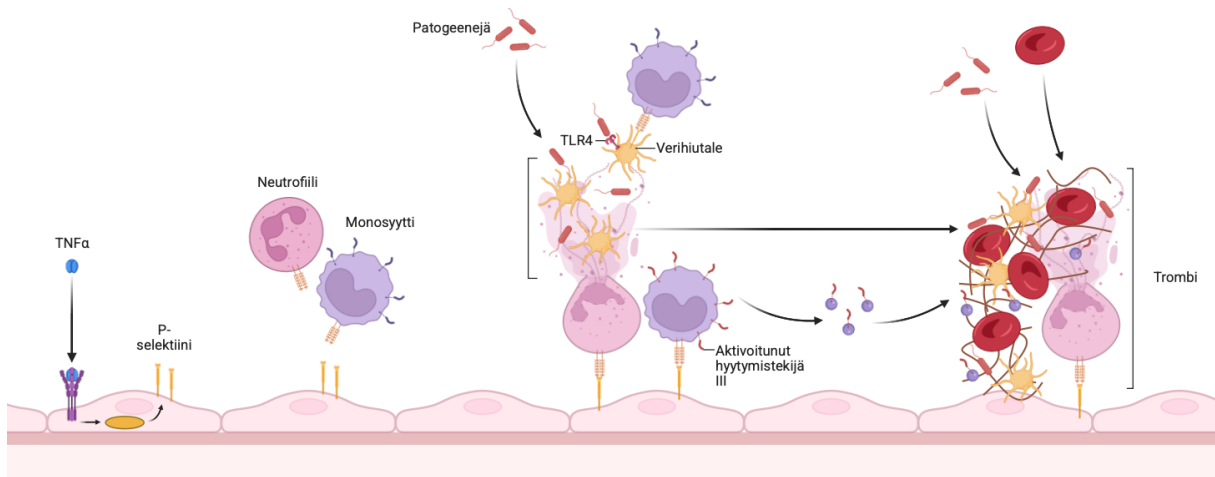
Sienten, bakteerien ja virusten lisäksi myös useiden loisten aiheuttamat infektiot houkuttelevat paikalle neutrofiilejä (Díaz-Godínez ja Carrero 2019). Ansojen tarkka rooli loisinfektioissa tunnetaan kuitenkin vielä heikosti. *In vitro* tehdyt tutkimukset osoittavat, että ansat kykenevät joidenkin alkueläinten vangitsemiseen ja tuhoamiseen. Loisten tuhoutuminen on kuitenkin todettu rajalliseksi.

### 3.2 Immunotromboosi

Tromboosi on ilmiö, jossa verisuonen sisälle muodostunut hyytymä johtaa osittain tai kokonaan verisuonen tukkeutumaan ja veren virtauksen estymiseen (Engelmann ja Massberg 2013). Viimeaikainen tutkimus on osoittanut immuunisolujen osallistumista hyytymisprosessiin, jonka tehtävä on estää patogeenien toimintaa. Tämä tromboosin muoto on nimetty

immunotromboosiksi (Grover ja Mackman 2018) (Kuva 2). Immunotromboosissa immuunisolujen tukema veren hyytyminen immobilisoi ja estää patogeenien leviämistä ja tunkeutumista kudoksiin. Lisäksi verihyytymät muodostavat alueen, jossa antimikrobiaalisten tekijöiden pitoisuus on suuri edistäen näin patogeenien tuhoamista. Prosessissa patogeeneille tai PAMP-rakenteille (engl. Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs) altistunut endoteeli alkaa sitomaan ja aktivoimaan leukosyyttejä, erityisesti monosyyttejä. Aktivoituneet monosyytit ja verihiutaleet ekspressoivat infektiio- tai kudovauriopaikalla hyytymistekijä III:a (engl. Tissue factor, TF), joka osallistuu immunotromboosin käynnistämiseen. Neutrofiilit hakeutuvat aktivoituneelle endoteelille pitkälti samankaltaisella prosessilla, jonka avulla ne siirtyvät verenkierrosta tulehduspaikalle (Yago ja muut 2018). Prosessissa aktivoitunut endoteeli ekspressoi P-selektiiniä, ICAM-1:tä (engl. Intracellular Adhesion Molecule) ja proteoglykaaniin kiinnittynyttä CXCL1 kemokiiniä. Nämä molekyylit sitovat veressä virtaavia neutrofiileja ja indusoivat myöhemmin neutrofiilin solunulkoisten ansojen muodostumista.

Ansot osallistuvat immunotromboosiin useiden reittien kautta (Fuchs ja muut 2010). Ne sitovat ja aktivoivat verihiutaleita sekä aiheuttavat verihiutaleiden aggregaatiota syvän laskimotukoksen (SLT) yhteydessä. Ansoissa esiintyvien seriiniproteaasien on havaittu osallistuvan veren hyytymiseen sekä *in vitro* että *in vivo* tutkimuksissa (Massberg ja muut 2010). Seriiniproteaasi NE osallistuu hyytymisenestotekijä TFPI:n (engl. Tissue Factor Pathway Inhibitor, TFPI) inaktivaatioon ja sitä kautta hyytymiselle tärkeän fibrinin muodostumiseen. Lisäksi ansojen nukleosomit osallistuvat sisäisen hyytymisreitit (engl. Intrinsic Pathway of Coagulation) käynnistämiseen aktivoimalla tekijä XII:tä. (engl. Factor XII, FXII). Immunotromboosi ja ansat ovat siis tärkeitä tekijöitä patogeenien tunnistamisessa, hillitsemisessä ja tuhoamisessa.



Kuva 2. NEToosi kuvattuna immunotromboosissa. Neutrofiilien solunulkoiset ansat yhdessä aktivoituneiden verihiutaleiden ja muiden veren komponenttien kanssa muodostavat paikallisia trombeja, joiden tehtävänä on estää patogeeneiden eteneminen. Luotu biorenderillä, Biorender.com.

## 4 Ansojen patogeneesi

On selvää, että neutrofiilien solunulkoiset ansat osallistuvat selektiivisesti elimistön puolustukseen vangitsemalla ja tuhoamalla bakteereita, sieniä, viruksia ja loisia (Papayannopoulos 2018). Samat rakenteet ja mekanismit, jotka mahdollistavat ansojen toiminnan elimistön puolustuksessa ovat säätelemättömänä osallisena lukuisissa patologisissa tiloissa.

### 4.1 Ansat autoimmuunisairauksissa

Autoimmuunisairaudet ovat kroonisia sairauksia, joissa elimistö ei kykene tunnistamaan omia rakenteita normaalisti, minkä seurauksena se hyökkää niitä vastaan. ("Autoimmuunisairaudet" 2025). Erilaisia autoimmuunisairauksia on todettu yli 80 ja niiden kehittyminen on monien tekijöiden yhteisvaikutusta. Autoimmuunisairauksissa neutrofiilien solunulkoisia ansoja pidetään immuunitoleranssin häiritsijöinä ja autoantigeenien esittelijöinä. Ansoilla uskotaan olevan rooli erityisesti SLE:ssä (engl. Systemic Lupus Erythematosus, SLE) ja nivelreumassa.

SLE on autoimmuunisairaus, jossa synnynnäisen ja hankitun immunitietin välinen virheellinen toiminta johtaa autovasta-aineiden ja immuunikompleksien runsaaseen muodostumiseen ja kertymiseen kudosiin, mikä johtaa kudonvaurioihin (Lazar ja Kahlenberg 2023). SLE:ssä neutrofiilien solunulkoiset ansat altistavat kaksijuosteista DNA:ta ja tuman proteiineja immuunijärjestelmälle, johtaen autovasta-aineiden tuotantoon. SLE-potilaiden on havaittu tuottavan DNaa I inhibiittoreita ja ansoille spesifisiä vasta-aineita, johtaen elimistön heikentyneeseen kykyyn hajottaa ja poistaa ansoja (Hakkim ja muut 2010).

Nivelreuma on yleinen ja pitkäaikainen tulehduksellinen nivelsairaus, jossa immuunipuolustus hyökkää omia nivelkalvoja vastaan (Gravallese ja Firestein 2023). Sen ensisijainen ilmenemismuoto on niveltulehdus, jonka oireita ovat symmetrinen ja useissa nivelissä ilmentyvä kipu, turvotus ja jäykkyys. Merkittävä osa nivelreumaa sairastavista ilmentää nivelreumalle tyypillisiä autovasta-aineita, kuten reumatekijää (engl. Rheumatoid Factor, RF) sekä sitrullinoitujen peptidiantigeenien autovasta-aineita. Neutrofiilien solunulkoisten ansojen sisältämät PAD4 entsyymillä sitrullinoimat proteiinit ovat nivelreumassa keskeinen autoimmunitietin aiheuttaja (Fresneda Alarcon ja muut 2021). Sitrullinoitujen proteiinien johtavat ACPA (engl. Anti-Citrullinated Peptide Auto-Antibodies, ACPAs) vasta-aineiden kehittymiseen ja tulehduksen voimistumiseen. Nivelreumaa sairastavien nivelkalvokudoksesta voidaan havaita ansojen rakenteita, kuten neutrofiilielastaasia, myeloperoksidiaasia ja sitrullinoituja histoniproteiineja. Ansoissa esiintyvä NE pystyy suoraan hajottamaan ruston

komponentteja nivelkalvoissa samalla voimistaen tulehduksellisia reittejä makrofageissa ja FLS-soluissa (Carmona-Rivera ja muut 2020). Tulehdusta edistävien vaikutusten lisäksi ansat indusoivat FLS-solujen tuottamien PAD2-entsyymien vapautumista mikä lisää ruston proteiinien sitrullinaatiota. Sitrullinoidut proteiinit taas johtavat T-solujen tuottamien spesifisten autovasta-aineiden tuottoon edistäen tulehdusta.

## **4.2 Ansat ja Psoriaasi**

Psoriaasi on iholla esiintyvä krooninen tulehduksellinen sairaus, jonka esiintyvyys länsimaissa on 2 % luokkaa (Pinegin ja muut 2015). Psoriaasikselle tunnusomaista on keratinosyyttien voimakas jakautuminen sekä neutrofiilien runsas siirtyminen epidermikseen. Psoriaasin tyypillisiä oireita ovat koholla olevat pienet ihottumat, jotka ovat kutisevia ja hilseileviä. Psoriaasin puhkeamiseen vaikuttavat geneettiset, immunologiset sekä ympäristötekijät. Neutrofiilien solunulkoisten ansojen pitoisuuksien todettiin olevan selvästi suuremmat psoriaasista sairastavilla henkilöillä, kuin terveillä ihmisillä (Hu ja muut 2016). Ansojen määrällä ääreisveressä oli suora korrelaatio psoriaasin oireiden vakavuuden kanssa. Lisäksi ansat indusoivat keratinosyyttejä tuottamaan beeta-defensiini-2 peptidiä (hBD-2). hBD-2 on ihon antimikrobiaalinen peptidi, jonka yliekspressointi on yhteydessä pDC-solujen (engl. Plasmacytoid Dendritic Cell, pDC) aktivaatioon. pDC-solut tuottavat suuria määriä tyypin 1 interferoneja (IFN-1), jotka voimistavat autoimmuunisairauksissa tulehdustilaa.

## **4.3 Ansat vaurioittavat kudoksia**

Normaalissa tilassa neutrofiilien solunulkoiset ansat osallistuvat myönteisesti kudosisaurioiden parantumiseen (S. Zhu ja muut 2021). Kun elimistö ilmentää ansoja liikaa, niissä esiintyvät granulaariset proteiinit ja histonit kuitenkin häiritsevät korjausprosessia sekä aiheuttavat suoraan kudosisauriota. Kudosten vaurioituessa endoteelisolut osallistuvat angiogeneesiin, jossa olemassa olevista verisuonista muodostuu uusia verisuonia. Tämä prosessi on tärkeää haavojen ja kudosisaurioiden parantumisen kannalta. Neutrofiilien solunulkoiset ansat aiheuttavat suoraan endoteelisolujen vaurioitumista ja näin heikentävät haavojen ja kudosisaurioiden parantumista. Ansojen sytotoksisuus on korkeempaa sairauksissa, joissa ansojen poistomekanismit ovat heikentyneet tai neutrofiilit läpikäyvät NEToosia normaalia enemmän (Carmona-Rivera ja muut 2015). SLE-potilailla esiintyy korkea määrä LDN-soluja (engl. Low-Density Neutrophils, LDNs), jotka ovat tulehdusta edistävä neutrofiilien alaluokka. LDN-solujen tuottamat ansat sisältävät huomattavasti korkeamman pitoisuuden MMP-9 (engl. Matrix-metalloprotease-9, MMP-9) proteiinia, joka aktivoi MMP-2 (engl. Matrix-

metalloprotease-2, MMP-2) proteiineja. Tutkimuksessa Carmona-Rivera ja muut (2015) havaitsivat näiden proteiinien aiheuttavan verisuonten endoteelin vaurioitumista.

Ansojen runsaslukuisimpia proteiineja ovat histoniproteiinit, joiden tiedetään olevan sytotoksisia endoteeli- ja epiteelisoluja kohtaan (Saffarzadeh ja muut 2012). Histoniproteiinit estävät endoteeli- ja epiteelisolujen solukasvua ja aiheuttavat vaurioita pitoisuuden mukaan. Tutkimuksessa Saffarzadeh ja muut (2012) havaitsivat histoneille spesifisten vasta-aineiden vähentävän ansojen aiheuttamaa sytotoksisuutta. Lisäksi on havaittu erittäin negatiivisesti varautunut polysialohappo pystyy kiinnittymään histoneihin. Tutkimuksessa histonien tai ansojen esi-inkubointi polysialohapolla vähensi merkittävästi niiden aiheuttamaa sytotoksisuutta.

#### **4.4 Ansat ja Syöpä**

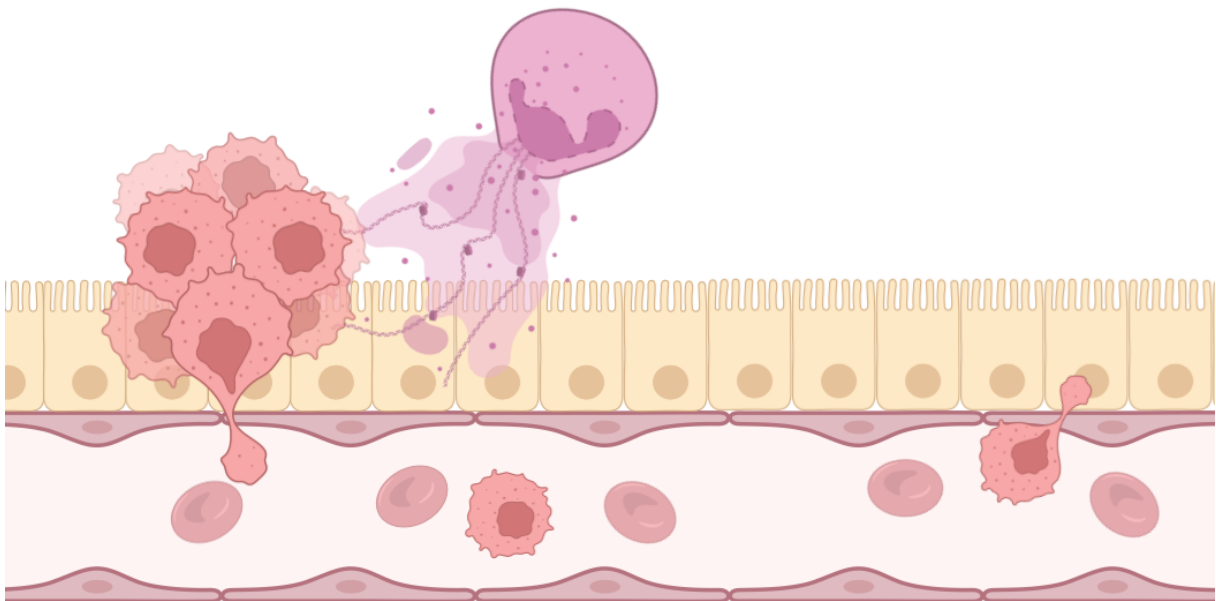
Neutrofiilit ovat kasvaimen mikroympäristön (engl. Tumor microenvironment, TME) runsaslukuisin immuunisolutyyppi (De Meo ja Spicer 2021). Kasvaimissa esiintyvät neutrofiilit (engl. Tumor-associated neutrophils, TANs) tuottavat normaalitiloissa esiintyviin neutrofiileihin verrattuna merkittävästi enemmän neutrofiilien solunulkoisia ansoja. Kasvainsolut välittävät useita tekijöitä, jotka lisäävät TAN-solujen NEToosia. Toisaalta ansat osallistuvat syövän kehittymiseen lisäämällä kasvainsolujen jakautumista, edistämällä immunosuppressiivista TME:tä ja edistämällä syövän metastaasia.

Kasvainsolujen ekspressoimat tulehdukselliset sytokiinit, kuten IL-8 ja TNF- $\alpha$  indusoivat neutrofiilien NEToosia (Cai ja muut 2020). IL-8 on voimakas neutrofiilien kemoattraktantti eli aine, joka houkuttelee soluja siirtymään kohti suurempaa pitoisuutta. IL-8 on havaittu indusoivan NEToosia useissa syövissä, kuten rintasyövässä (B. Zhu ja muut 2021). Rintasyövässä NF- $\kappa$ B (engl. Nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B) transkriptiotekijän mutaatio johtaa sen jatkuvaan aktivaatioon edistäen kasvaimen kehittymistä. NF- $\kappa$ B signalointireitti on IL-8 sytokiinin ekspressoinnin ylävirrassa ja näin sytokiinin tasot ovat TME:ssä lisääntyneet. Toisaalta neutrofiilien solunulkoisissa ansoissa esiintyvä HMGB1 (engl. Human mobility group box protein 1, HMGB1) on RAGE:n (engl. Receptor for advanced glycation end products, RAGE) ligandi, joka aktivoi NF- $\kappa$ B signalointireittiä.

Kasvainten indusoimat neutrofiilien solunulkoiset ansat suojaavat myös syöpäsoluja sytotoksisilta T-soluilta ja NK-soluilta (Teijeira ja muut 2020). Ansat kietoutuvat ja peittävät syöpäsoluja suojaten niitä sytotoksisilta soluilta näin estäen syöpäsolujen ja immuunisolujen

kontaktin. Lisäksi Teijeira ja muut (2020) havaitsivat ansojen heikentävän lymfossyyttien liikkumista ja toimintoja tuntemattomalla mekanismilla.

Ansot edistävät myös metastaasia osallistumalla epiteeli-mesenkyymi-muutokseen (engl. epithelial-mesenchymal transition, EMT), jossa epiteelisolut muuttuvat mesenkymaalisoluiksi (T. Zhu ja muut 2021) (Kuva 3). Tutkimuksessa T. Zhu ja muut (2021) tutkivat AGS-solujen (engl. Human gastric cancer cell line, AGS) avulla neutrofiilien solunulkoisten ansojen vaikutusta solujen migraatiokykyyn ja EMT:hen. Tutkijat huomasivat ansojen edistävän AGS-solujen migraatiokykyä, mikä voitiin estää inhiboimalla ansoja. Kun AGS-soluja käsiteltiin ansojen kanssa, tutkijat huomasivat epiteelisolujen ekspressoiman merkkiaineen vähentymisen ja mesenkymaalisten solujen ekspressoiman merkkiaineen lisääntymisen. Myös tämä vaikutus voitiin estää inhiboimalla ansoja.



Kuva 3. Neutrofiilien solunulkoiset ansat aktivoivat kasvainsoluissa epiteeli-mesenkyymi-muutoksen ja näin edistävät syövän metastaasia. Luotu Biorenderillä. Biorender.com.

#### 4.5 Ansat ja Covid-19

SARS-CoV-2 viruksen aiheuttaman COVID-19 infektion oireita ovat hengitystieongelmat ja useiden elinten toimintahäiriöt (Cesta ja muut 2023). Vakavassa koronavirustartunnassa keuhkokudoksen tulehdustila on voimistunut ja seerumin tulehduksellisten sytokiinien taso on noussut. Tulehdustilassa tuotetut sytokiinit ja kemokiinit houkuttelevat paikalle verenkierron

neutrofiilejä ja aktivoivat niitä tuottamaan neutrofiilien solunulkoisia ansoja. Vakavaa koronavirustartuntaa sairastavien neutrofiili-lymfosyytti suhde on merkittävästi suurempi verrattuna lievän tartunnan potilaisiin (Leppkes ja muut 2020). Vakavassa tartunnassa myös verenkierron vapaan DNA:n, sitrullinoitujen histoni-3 proteiinien sekä DNA-MPO-kompleksin ja DNA-NE-kompleksin määrät ovat kohonneet normaalitilaan verrattuna. Useiden patogeenien aiheuttamat infektiotilat johtavat rajalliseen neutrofiilien väräykseen ja ansojen muodostumiseen elimistön puolustamista varten. Vakavissa koronavirustartunnoissa ansojen muodostumista tapahtuu verenkierrossa LDN-solujen toimesta kuitenkin liikaa, mikä voi johtaa nopeaan keuhkojen pienten verisuonien tukkeutumiseen.

Keuhkojen verisuoniston tukkeutumisen ja siitä seuraavien hengitystieongelmien lisäksi neutrofiilien solunulkoiset ansat saattavat myös edistää SARS-CoV-2 viruksen infektiokykyä suoraan (Hong ja muut 2022). Aikaisempien koronavirusten tapaan SARS-CoV-2 infektoi kohdesoluja sen lipidikalvon pinnan piikki-glykoproteiinien avulla, jotka pystyvät sitoutumaan kohdesolujen angiotensiinikonvertaasi 2 eli ACE2 proteiineihin (Sun 2021). Piikkiproteiiniensa reseptoreina SARS-CoV-2 virus pystyy ACE2 proteiinin lisäksi käyttämään myös siaalihappoja, joita esiintyy solujen pinnalla glykolipidien ja glykoproteiinien oligosakkarideissa. Hong ja muut (2022) havaitsivat tutkimuksessaan SARS-CoV-2 virusten tehostuneen tarttuvuuden johtuvan neutrofiilien solunulkoisten ansojen positiivisesti varautuneista H3 ja H4 histoneista. Hong ja muut esittävät virusten käyttävän histoneita negatiivisesti varautuneen piikkiproteiinin S2-alayksikön ja kohdesolujen siaalihapon välisenä siltana.

## 5 Solunulkoiset ansat hoidon kohteena

Edellä mainituissa ja monissa muissa patologisissa tiloissa osallisena olevia ansoja tutkitaan tällä hetkellä paljon mahdollisena terapeuttisena kohteena sairausten oireiden hoidossa. Ansoihin kohdistuva tutkimus on suurimmaksi osaksi vielä prekliinisessä vaiheessa, joka pyrkii joko estämään ansojen muodostumista tai hillitsemään jo muodostuneiden ansojen toimintaa.

Ansojen muodostumisen mekanismit ovat vielä osittain tuntemattomia. Kuitenkin tunnetaan useita proteiineja, jotka osallistuvat ansojen muodostumisen säätelyyn ja vapautumisen mahdollistamiseen. PAD-entsyymiperhe koostuu proteiineista, jotka katalysoivat histoniproteiinien sitrullinaatiota (Bicker ja Thompson 2013). Tarkemmin PAD4 entsyymien on todettu osallistuvan kromatiinin löystämiseen NEToosissa. Vuoden 2015 tutkimuksessa MRL/lpr-hiirissä todettiin kiihtynyt ansojen muodostuminen kontrollihiiriin verrattuna sekä ansoille spesifisten autovasta-aineiden tuottoa (Knight ja muut 2015). Klooriamidiinilla pystyttiin inhiboimaan PAD4 entsyymien toimintaa ja seurauksena ansojen muodostumista hiirissä. PAD-inhibition havaittiin vähentävän proteinuriaa ja immuunikompleksien kertymistä munuaisissa. Haimatulehduksessa yhdeksi kudosaauriota aiheuttavaksi tekijäksi on tunnistettu neutrofiilien solunulkoiset ansat. Disulfiram (DSL) inhiboi GSDMD-proteiinia, joka mahdollistaa ansojen vapautumisen neutrofiileistä muodostamalla huokosia solukalvojen pinnalle (Ling ja muut 2023). Haimatulehduksesta kärsivissä hiirimalleissa neutrofiilien tunkeutuminen haimakudokseen väheni huomattavasti DSL-hoidolla. Lisäksi kyseisissä hiirissä GSDMD-proteiinia ekspressoitiin merkittävästi enemmän normaaleihin hiiriin verrattuna. Ekspressio vähentyi DSL-hoidolla. Disulfiramien huomattiin lisäksi vähentävän haimakudoksessa esiintyvien MPO-DNA-kompleksien määrää. MPO-DNA-kompleksit ovat ansojen merkkiaineita.

Ansojen toiminnan kannalta tärkein komponentti on niiden tukirangan muodostava DNA. Verenkierrrossa esiintyvät ansat vangitsevat ja edistävät syöpäsolujen metastaasia DNA:n muodostamien verkkojen avulla (Cools-Lartigue ja muut 2013). Hiirimallissa DNAaseilla onnistuttiin vähentämään ansojen aiheuttama syövän kehittyminen. DNAasi-hoidon ongelmana on kuitenkin epäspesifisyys ja siitä johtuva DNAasien haitallinen aktiivisuus. DNAasi-hoidon tehokkuutta vähentää lisäksi DNAasien lyhyt puoliintumisaika sekä verenkierrrossa esiintyvät DNAasi-inhibiittorit. Geeniterapia tarjoaa lupaavan ratkaisun perinteisessä injektiossa esiintyviin ongelmiin. AAV (engl. Adeno-associated virus, AAV) vektorin pakkaaminen Anc80L65 kapsidiin mahdollisti DNAasi I geenin siirtämisen maksaan ja pidempiaikaisen

DNaasi I ekspresion (Xia ja muut 2020). Tutkimuksessa Xia ja muut selvittivät AAV:n avulla maksaan siirretyn DNaasi I geenin tehokkuutta metastasoituneen paksusuolen syövän hoidossa. Sekä naaras- että uroshiirillä metastaasin kehittyminen väheni geeniterapian myötä. DNaasi I -hoidon myönteiset vaikutukset yhdistettiin neutrofiilien solunulkoisten ansojen merkittävien merkkiaineiden vähentymiseen syöpäsoluissa ja verenkierrossa. Esimerkiksi sitrullinoitujen histoni H3 proteiinien taso oli merkittävästi pienempi AAV-DNaasi I -hoitoa saaneilla hiirillä kontrollihiiriin verrattuna. Lisäksi verenkierron ansojen määrä MPO-DNA-kompleksien määrällä mitattuna todettiin vähentyneen merkittävästi.

Neutrofiilien solunulkoisten ansojen kohdistaminen eri sairauksien ja tautien hoidossa on lupaava, mutta vielä pitkälti tuntematon hoitomuoto. Ansoilla tiedetään olevan negatiivinen rooli lukuisissa patologisissa tiloissa ja ansojen muodostumista ja toimintaa vähentämällä on jo saatu aikaan positiivisia tuloksia. Toisaalta ansat ovat tärkeä osa immuunipuolustusta ja virheellinen inhibitio voi aiheuttaa patologisten tilojen kehittymistä huonompaan suuntaan. Siksi ansoihin kohdistuvan hoidon potentiaalin saavuttaminen vaatii vielä paljon ansojen muodostumismekanismeja ja toimintaa selvittävää tutkimusta.

## Lähteet

- Amulic, B., Cazalet, C., Hayes, G. L., Metzler, K. D. & Zychlinsky, A. (2012) Neutrophil Function: From Mechanisms to Disease. *Annu Rev Immunol* **30**:459–489.
- Autoimmuunisairaudet (2025, marraskuuta 13). <https://www.terveyskirjasto.fi/dlk00010> (Luettu 4.2.2026)
- Barr, F. D., Ochsenbauer, C., Wira, C. R. & Rodriguez-Garcia, M. (2018) Neutrophil extracellular traps prevent HIV infection in the female genital tract. *Mucosal Immunol* **11**:1420–1428.
- Bicker, K. L. & Thompson, P. R. (2013) The protein arginine deiminases (PADs): Structure, Function, Inhibition, and Disease. *Biopolymers* **99**:155–163.
- Branzk, N., Lubojemska, A., Hardison, S. E., Wang, Q., Gutierrez, M. G., Brown, G. D. & Papayannopoulos, V. (2014) Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens. *Nat Immunol* **15**:1017–1025.
- Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B. & al, et (2004) Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science* **303**:1532–1535.
- Cai, Z., Zhang, M., Bofo Kwantwi, L., Bi, X., Zhang, C., Cheng, Z., ... Wu, Q. (2020) Breast cancer cells promote self-migration by secreting interleukin 8 to induce NET formation. *Gene* **754**:144902.
- Carmona-Rivera, C., Carlucci, P. M., Goel, R. R., James, E., Brooks, S. R., Rims, C., ... Kaplan, M. J. (2020) Neutrophil extracellular traps mediate articular cartilage damage and enhance cartilage component immunogenicity in rheumatoid arthritis. *JCI Insight* **5**.
- Carmona-Rivera, C., Zhao, W., Yalavarthi, S. & Kaplan, M. J. (2015) Neutrophil extracellular traps induce endothelial dysfunction in systemic lupus erythematosus through the activation of matrix metalloproteinase-2. *Ann Rheum Dis* **74**:1417–1424.
- Cesta, M. C., Zippoli, M., Marsiglia, C., Gavioli, E. M., Cremonesi, G., Khan, A., ... Balk, R. (2023) Neutrophil activation and neutrophil extracellular traps (NETs) in COVID-19 ARDS and immunothrombosis. *Eur J Immunol* **53**:2250010.
- Clark, S. R., Ma, A. C., Tavener, S. A., McDonald, B., Goodarzi, Z., Kelly, M. M., ... Kubes, P. (2007) Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med* **13**:463–469.
- Cools-Lartigue, J., Spicer, J., McDonald, B., Gowing, S., Chow, S., Giannias, B., ... Ferri, L. (2013) Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis. *J Clin Invest* **123**:3446–3458.
- De Meo, M. L. & Spicer, J. D. (2021) The role of neutrophil extracellular traps in cancer progression and metastasis. *Semin Immunol* **57**:101595.
- Díaz-Godínez, C. & Carrero, J. C. (2019) The state of art of neutrophil extracellular traps in protozoan and helminthic infections. *Biosci Rep* **39**:BSR20180916.
- Domon, H. & Terao, Y. (2021) The Role of Neutrophils and Neutrophil Elastase in Pneumococcal Pneumonia. *Front Cell Infect Microbiol* **11**.

- Dwyer, M., Shan, Q., D'Ortona, S., Maurer, R., Mitchell, R., Olesen, H., ... Gadjeva, M. (2014) Cystic Fibrosis Sputum DNA Has NETosis Characteristics and Neutrophil Extracellular Trap Release Is Regulated by Macrophage Migration-Inhibitory Factor. *J Innate Immun* **6**:765–779.
- Engelmann, B. & Massberg, S. (2013) Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol* **13**:34–45.
- Fresneda Alarcon, M., McLaren, Z. & Wright, H. L. (2021) Neutrophils in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus: Same Foe Different M.O. *Front Immunol* **12**:649693.
- Fuchs, T. A., Abed, U., Goosmann, C., Hurwitz, R., Schulze, I., Wahn, V., ... Zychlinsky, A. (2007) Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* **176**:231–241.
- Fuchs, T. A., Brill, A., Duerschmied, D., Schatzberg, D., Monestier, M., Myers, D. D., ... Wagner, D. D. (2010) Extracellular DNA traps promote thrombosis. *Proc Natl Acad Sci* **107**:15880–15885.
- Gao, F., Peng, H., Gou, R., Zhou, Y., Ren, S. & Li, F. (2025) Exploring neutrophil extracellular traps: Mechanisms of immune regulation and future therapeutic potential. *Exp Hematol Oncol* **14**:80.
- Gravallese, E. M. & Firestein, G. S. (2023) Rheumatoid Arthritis—Common Origins, Divergent Mechanisms. *N Engl J Med* **388**:529–542.
- Grover, S. P. & Mackman, N. (2018) Neutrophils, NETs, and immunothrombosis. *Blood* **132**:1360–1361.
- Hakkim, A., Fürnrohr, B. G., Amann, K., Laube, B., Abed, U. A., Brinkmann, V., ... Zychlinsky, A. (2010) Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis. *Proc Natl Acad Sci* **107**:9813–9818.
- Hong, W., Yang, J., Zou, J., Bi, Z., He, C., Lei, H., ... Wei, X. (2022) Histones released by NETosis enhance the infectivity of SARS-CoV-2 by bridging the spike protein subunit 2 and sialic acid on host cells. *Cell Mol Immunol* **19**:577–587.
- Hu, S. C.-S., Yu, H.-S., Yen, F.-L., Lin, C.-L., Chen, G.-S. & Lan, C.-C. E. (2016) Neutrophil extracellular trap formation is increased in psoriasis and induces human  $\beta$ -defensin-2 production in epidermal keratinocytes. *Sci Rep* **6**:31119.
- Ingelsson, B., Soderberg, D., Strid, T., Soderberg, A., Bergh, A.-C., Loitto, V., ... Rosen, A. (2018) Lymphocytes eject interferogenic mitochondrial DNA webs in response to CpG and non-CpG oligodeoxynucleotides of class C. *Proc Natl Acad Sci U S A* **115**:E478–E487.
- Kenny, E. F., Herzig, A., Krueger, R., Muthu, A., Mondal, S., Thompson, P. R., ... Zychlinsky, A. (2017) Diverse stimuli engage different neutrophil extracellular trap pathways. *Elife* **6**:e24437.
- Knight, J. S., Subramanian, V., O'Dell, A. A., Yalavarthi, S., Zhao, W., Smith, C. K., ... Kaplan, M. J. (2015) Peptidylarginine deiminase inhibition disrupts NET formation and protects against kidney, skin and vascular disease in lupus-prone MRL/lpr mice. *Ann Rheum Dis* **74**:2199–2206.

- Lazar, S. & Kahlenberg, J. M. (2023) Systemic Lupus Erythematosus: New Diagnostic and Therapeutic Approaches. *Annu Rev Med* **74**:339–352.
- Lee, W. L., Harrison, R. E. & Grinstein, S. (2003) Phagocytosis by neutrophils. *Microbes Infect* **5**:1299–1306.
- Leppkes, M., Knopf, J., Naschberger, E., Lindemann, A., Singh, J., Herrmann, I., ... Herrmann, M. (2020) Vascular occlusion by neutrophil extracellular traps in COVID-19. *EBioMedicine* **58**:102925.
- Leshner, M., Wang, S., Lewis, C., Zheng, H., Chen, X. A., Santy, L. & Wang, Y. (2012) PAD4 mediated histone hypercitrullination induces heterochromatin decondensation and chromatin unfolding to form neutrophil extracellular trap-like structures. *Front Immunol* **3**:307.
- Ling, X., Nie, C., Sheng, L. P., Han, C. Q. & Ding, Z. (2023) Disulfiram relieves severe acute pancreatitis by inhibiting GSDMD-dependent NETs formation. *J Dig Dis* **24**:359–368.
- Lood, C., Blanco, L. P., Purmalek, M. M., Carmona-Rivera, C., De Ravin, S. S., Smith, C. K., ... Kaplan, M. J. (2016) Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease. *Nat Med* **22**:146–153.
- Malawista, S., Vanblaricom, G. & Breitenstein, M. (1989) Cryopreservable Neutrophil Surrogates—Stored Cytoplasts from Human Polymorphonuclear Leukocytes Retain Chemotactic, Phagocytic, and Microbicidal Function. *J Clin Invest* **83**:728–732.
- Massberg, S., Grahl, L., Von Bruehl, M.-L., Manukyan, D., Pfeiler, S., Goosmann, C., ... Engelmann, B. (2010) Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat Med* **16**:887–896.
- Papayannopoulos, V. (2018) Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol* **18**:134–147.
- Petretto, A., Bruschi, M., Pratesi, F., Croia, C., Candiano, G., Ghiggeri, G. & Migliorini, P. (2019) Neutrophil extracellular traps (NET) induced by different stimuli: A comparative proteomic analysis. *PLoS ONE* **14**:e0218946.
- Pilszczek, F. H., Salina, D., Poon, K. K. H., Fahey, C., Yipp, B. G., Sibley, C. D., ... Kubes, P. (2010) A Novel Mechanism of Rapid Nuclear Neutrophil Extracellular Trap Formation in Response to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol* **185**:7413–7425.
- Pinegin, B., Vorobjeva, N. & Pinegin, V. (2015) Neutrophil extracellular traps and their role in the development of chronic inflammation and autoimmunity. *Autoimmun Rev* **14**:633–640.
- Rosazza, T., Warner, J. & Sollberger, G. (2021) NET formation – mechanisms and how they relate to other cell death pathways. *FEBS J* **288**:3334–3350.
- Saffarzadeh, M., Juenemann, C., Queisser, M. A., Lochnit, G., Barreto, G., Galuska, S. P., ... Preissner, K. T. (2012) Neutrophil Extracellular Traps Directly Induce Epithelial and Endothelial Cell Death: A Predominant Role of Histones. *PLOS ONE* **7**:e32366.
- Sollberger, G., Choidas, A., Burn, G. L., Habenberger, P., Di Lucrezia, R., Kordes, S., ... Zychlinsky, A. (2018) Gasdermin D plays a vital role in the generation of neutrophil extracellular traps. *Sci Immunol* **3**:eaar6689.

- Sun, X.-L. (2021) The role of cell surface sialic acids for SARS-CoV-2 infection. *Glycobiology* **31**:1245–1253.
- Teijeira, Á., Garasa, S., Gato, M., Alfaro, C., Migueliz, I., Cirella, A., ... Meleró, I. (2020) CXCR1 and CXCR2 Chemokine Receptor Agonists Produced by Tumors Induce Neutrophil Extracellular Traps that Interfere with Immune Cytotoxicity. *Immunity* **52**:856-871.e8.
- Thanabalasuriar, A., Scott, B. N. V., Peiseler, M., Willson, M. E., Zeng, Z., Warrenner, P., ... Kubes, P. (2019) Neutrophil Extracellular Traps Confine *Pseudomonas aeruginosa* Ocular Biofilms and Restrict Brain Invasion. *Cell Host Microbe* **25**:526-+.
- Urban, C. F., Ermert, D., Schmid, M., Abu-Abed, U., Goosmann, C., Nacken, W., ... Zychlinsky, A. (2009) Neutrophil Extracellular Traps Contain Calprotectin, a Cytosolic Protein Complex Involved in Host Defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathog* **5**:e1000639.
- Wang, C., Wang, S., Li, D., Chen, P., Han, S., Zhao, G., ... Wang, J. (2021) Human Cathelicidin Inhibits SARS-CoV-2 Infection: Killing Two Birds with One Stone. *ACS Infect Dis* **7**:1545–1554.
- Xia, Y., He, J., Zhang, H., Wang, H., Tetz, G., Maguire, C. A., ... Tsung, A. (2020) AAV-mediated gene transfer of DNase I in the liver of mice with colorectal cancer reduces liver metastasis and restores local innate and adaptive immune response. *Mol Oncol* **14**:2920–2935.
- Yago, T., Liu, Z., Ahamed, J. & McEver, R. P. (2018) Cooperative PSGL-1 and CXCR2 signaling in neutrophils promotes deep vein thrombosis in mice. *Blood* **132**:1426–1437.
- Yipp, B. G., Petri, B., Salina, D., Jenne, C. N., Scott, B. N. V., Zbytnuik, L. D., ... Kubes, P. (2012) Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo. *Nat Med* **18**:1386–1393.
- Yousefi, S., Mihalache, C., Kozłowski, E., Schmid, I. & Simon, H. U. (2009) Viable neutrophils release mitochondrial DNA to form neutrophil extracellular traps. *Cell Death Differ* **16**:1438–1444.
- Zhu, B., Zhang, X., Sun, S., Fu, Y., Xie, L. & Ai, P. (2021) NF- $\kappa$ B and neutrophil extracellular traps cooperate to promote breast cancer progression and metastasis. *Exp Cell Res* **405**:112707.
- Zhu, S., Yu, Y., Ren, Y., Xu, L., Wang, H., Ling, X., ... Guo, K. (2021) The emerging roles of neutrophil extracellular traps in wound healing. *Cell Death Dis* **12**:984.
- Zhu, T., Zou, X., Yang, C., Li, L., Wang, B., Li, R., ... Wu, Q. (2021) Neutrophil extracellular traps promote gastric cancer metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Int J Mol Med* **48**:1–13.