

УДК 616-006-033.2:616.151.5-008.852

**В.І. Десятерик,  
Є.С. Шевченко**

## МЕХАНІЗМИ ГЕМАТОГЕННОГО МЕТАСТАЗУВАННЯ ПУХЛИН

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»  
кафедра хірургії, травматології та ортопедії ФПО  
(зав. – д. мед. н., проф. В.І. Десятерик)  
вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна  
SE «Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine»  
Department of Surgery, Orthopedics and Traumatology faculty Postgraduate education  
Dzerzhinsky str., 9, Dnipropetrovsk, 49044, Ukraine  
e-mail: vid7181@gmail.com

**Ключові слова:** пухлина, рак, метастази, тромбоз, тромбоцити  
**Key words:** tumor, cancer, metastasis, thrombosis, platelets

**Реферат.** Механізми гематогенного метастазування опухолей. Десятерик В.І., Шевченко Є.С. *Метастазування являється самою розпространеною причиною смертності, асоційованою з раком, тем не менше, наше розуміння цих процесів залишається недостаточним. Метастазування - це кінцевий продукт динамічного процесу, при якому різні взаємодії між раковими клітинами та мікросередовищем організму призводять до змін, які дозволяють цим клітинам перевищувати запрограмоване поведіння. Таким чином ракові клітини розповсюджуються по новим тканинам і, в кінцевому підсумку, викликають дисфункцію органів і смерть. Розуміння молекулярних механізмів, пов'язаних з процесом метастазування, може допомогти ефективно і цілеспрямовано запобігти та лікувати ракові метастази. Увага сучасних дослідників направлена на вивчення шляхів активації тромбозу, коагуляції та утворення тромбів, як необхідних умов метастазування пухлинних клітин. Складні механізми індукції та коагуляції тромбоцитів в поєднанні з підвищенням активності фактора, активізуючого ріст ендотелію судин, забезпечують початок розвитку метастатичного вогнища на відстані від первинної пухлини. Вивчення та розробка можливостей блокування цих механізмів представляє перспективний шлях покращення результатів лікування онкологічних хворих. В цій оглядовій статті ми ставили мету надати в стислому вигляді перспективи вивчення механізмів метастазування опухолей, а також розглянути існуючі на сьогоднішній день додаткові можливості для оптимізації результатів лікування онкопатології.*

**Abstract.** Mechanisms of hematogenous tumor metastasis. Desyaterik V.I., Shevchenko Y.S. *Metastasis is the most common cause of mortality associated with cancer, however, our understanding of these processes is insufficient. Metastasis is the end product of a dynamic process in which different interactions between cancer cells and the microenvironment of the organism result in the changes that allow these cells to exceed programmed behavior. Thus, cancer cells spread to new tissues and, ultimately, cause organ dysfunction and death. Understanding the molecular mechanisms involved in the process of metastasis may help to effectively and purposefully prevent and treat cancer metastasis. Attention of the modern researchers aimed at exploring ways to activate thrombosis, coagulation and formation of blood clots, as a prerequisite for metastasis of tumor cells. Sophisticated mechanisms of inducing and coagulation of platelets in combination with the increased activity of the activating vascular endothelial growth factor provide the onset of metastatic foci at a distance from the primary tumor. Learning and development opportunities to block these mechanisms is a promising way to improve the results of treatment of cancer patients. In this review article, we aimed to provide in a concise manner the prospects of studying mechanisms of tumor metastasis, as well as review existing today additional opportunities to optimize the results of treatment of cancer pathology.*

Під час метастатичного дисемінування пухлинні клітини надходять у кровоносні і/або лімфатичні судини. У той час, як присутність пухлинних клітин у регіонарних лімфатичних вузлах є одним з критеріїв у визначенні стадії раку, розповсюдження пухлинного процесу у віддалені ділянки відбувається головним чином з током крові [21]. Гематогенне метастазування відбувається в такій послідовності: відділення пухлинної клітини від первинної пухлини й

інтравазація в кровоносні судини; дисемінування з потоком крові; фіксація ракових клітин в органах; колонізація цих тканин з формуванням вторинних пухлин.

Вперше взаємозв'язок між кількістю тромбоцитів і розвитком метастазів у ході експерименту довів G.Gasic у 1968 році. Більше того, тромбоцитоз спостерігався в значній популяції пацієнтів з раковими захворюваннями, з різними варіантами ураження і залежно від типу

пухлини. Для більшості злоякісних утворень підвищення числа тромбоцитів було обернено пропорційно виживаності, що зробило тромбоцитоз маркером поганого прогнозу розвитку хвороби [10]. Це пояснюється тим фактом, що тромбоцити сприяють циркуляції пухлинних клітин у кровоносній системі, а також сприяють їх екстравазації і колонізації.

З'єднання між рецепторами тромбоцитів і їх лігандами, які знаходяться в суміжності з субендотеліальним позаклітинним матриксом (або на деяких пухлинних клітинах) веде до активації тромбоцитів. Цей процес активації викликає швидке ремоделювання цитоскелету та морфологічні зміни клітини з дисковидної форми на сферичну. До активації тромбоцитів також призводить екзоцитоз  $\alpha$ - і твердих гранул, невеликих внутрішньоклітинних гранул, які є тільки в тромбоцитах і їх попередниках. Секреція зв'язуючих протеїнів, таких як фактор Віллебранда і фібриноген з  $\alpha$ -гранул та так званих медіаторів другої хвилі, як аденозин дифосфат і серотонін з твердих гранул разом з продукцією та секрецією тромбоксану А2 (ТхА2) призводить до залучення додаткових тромбоцитів у зростаючий тромб [34]. Всі основні тромбоцитарні сигнальні механізми зводяться у "фінальний спільний шлях" активації, який веде до адгезії і агрегації тромбоцитів.

Активовані тромбоцити також сприяють коагуляції, тим самим збільшуючи синтез і активність теназ та протромбіназного комплексу на поверхні тромбоцита. Крім того, активовані тромбоцити вивільняють неорганічні поліфосфати, які є тригерами коагуляції, пов'язуючи й активуючи фактор XII. Процеси активації тромбоцитів, коагуляції і утворення тромбу є ключовими не тільки при зупинці кровотечі після травми тканин, але також є вирішальним фактором у гематогенному метастазуванні пухлини [27].

Під час циркуляції в крові пухлинні клітини можуть активувати тромбоцити під час прямого контакту або шляхом вивільнення таких медіаторів, як АДФ, тромбін, тромбоксан А2 або асоційованих з пухлиною протеїназ. Здатність пухлинних клітин до агрегації тромбоцитів вперше була описана в 1968 році й отримала назву "індукована пухлиною агрегація тромбоцитів" (tumor cell-induced platelet aggregation, або ТСІРА).

Було виявлено, що ТСІРА впливає на гематогенне метастазування, полегшуючи затримку емболу пухлинної клітини в мікроциркуляції. Надалі агрегація тромбоцитів захищає пухлинну клітину від імунологічної атаки в циркуляції.

Існує 2 основних шляхи активації тромбоцитів. Один з них запускається глікопротеїном (GP) VI і лектиновим рецептором 2 С-типу (CLEC-2, або C-type lectin receptor 2), включаючи каскад фосфориляції тирозину, утворюючи активіційний тирозинмістний мотив імунорецепторів (ITAM, або Immunoreceptor tyrosine-based activation motif), що веде до повної активації тромбоцитів. З іншого боку, розчинні агоністи, такі як тромбін, АДФ і ТхА2 стимулюють рецептори, які з'єднують гетеротримерний G-білок і запускають окремий сигнальний шлях. Багато з основних структурних компонентів тромбоцитів і їх рецепторів, які сприяють гемостазу, також пов'язані з розвитком пухлини [36].

GPVI є ITAM-асоційованим тромбоцитарним специфічним рецептором до колагену, який виступає медіатором у процесах потужної клітинної активації, його відсутність знижує експериментальне метастазування у мишей близько 50%, при цьому не впливаючи на зростання первинної пухлини. Клінічно цей факт може представляти певний інтерес, оскільки розроблено безліч стратегій з використанням GPVI, а його дефіцит чинить мінімальний вплив на гемостатичну функцію тромбоцитів. CLEC-2 відкрито відносно недавно – він є рецептором активації тромбоцитів, бере участь в утворенні тромбу *in vivo* при взаємодії з лігандом, який до теперішнього часу не ідентифікований. Єдиним відомим фізіологічним лігандом CLEC-2 є подопланін - трансмембранний протеїн, який не був знайдений у кровоносних судинах. Тим не менш, подопланін продукується різними типами пухлин, а блокада взаємодій подопланін - CLEC-2 пригнічує ТСІРА *in vitro* і метастазування *in vivo*. Таким чином, втручання в ці взаємодії є багатообіцяючим у стратегії попередження утворення метастазів.

Тромбоцити виділяють два G-протеїни, які зв'язують рецептори АДФ: P2Y<sub>1</sub> і P2Y<sub>12</sub>, обидва з яких сприяють агрегації тромбоцитів. Деякі пухлинні клітини секретують АДФ, прямо ініціюючи агрегацію тромбоцитів, а відсутність P2Y<sub>12</sub> знижує чутливість до експериментального метастазування. Більше того, секреція АДФ зі стимульованих тромбоцитів (наприклад, активованих ITAM рецепторами) посилює ТСІРА. Проте останні дослідження на мишах, які не могли секретувати вміст щільних гранул, а також тих, у яких були відсутні ендотеліальні АДФ рецептори, показали, що АДФ з тромбоцитів є більш значущим фактором у процесах екстравазації, ніж для ТСІРА. Тромбін – найбільш потужний агоніст тромбоцитів, який реалізує

свій ефект, роз'єднуючи пов'язані G-протеїном активовані протеазою рецептори PAR-1 і PAR-2 в тромбоцитах людини. У деяких типах пухлин був виявлений тканинний фактор - це викликало припущення, що індукована пухлинними клітинами коагуляція запускає ТСПА за допомогою тромбіну. Терапія з використанням прямого інгібітора тромбіну гірудину приводила до інгібування ТСПА *in vitro* у випадках деяких пухлин. Поряд з цим, відсутність PAR-4 приводила до обмеження експериментального метастазування тою ж мірою, що й неолік тромбоцитів. До того ж, уже гетерозиготні PAR-4 (які чинять середній вплив на гемостаз) показували зниження експериментального метастазування, вказуючи на те, що зниження активності тромбіну достатньо для ослаблення метастазування. Таким чином, миші, у яких був відсутній  $G\alpha_q$ , субодиниця G-протеїну, що критично знижує PAR-4 та інші рецептори, були захищені від експериментального метастазування [15].

Зрештою, наслідком активації тромбоцитів є конформаційні зміни інтегринів, що робить можливими високоафінні взаємодії з їх лігандами і результуючу міцну адгезію й агрегацію. Humphries і співавт. були першими, хто показав, що агрегація тромбоцитів за допомогою інтегринів необхідна для результативного експериментального метастазування, після того як з'ясували, що синтетичний, який містить RGD (Аргінілглутаміласпарагінову кислоту), пептид, отриманий з фібронектинової послідовності, може пригнічувати експериментальне метастазування клітин меланоми у мишей. Пізніші дослідження підтвердили ключову роль головного інтегрину тромбоцитів  $\alpha IIb\beta 3$  (GPIIb / IIIa) у процесах ТСПА та експериментальному метастазуванні при блокаді GPIIb / IIIa-антитіл, дефіциті інтегрину (при видаленні  $\beta 3$ -субодиниці) або відсутності його головного ліганду – фібриногену. Активація GPIIb / IIIa також, мабуть, необхідна для секреції проангіогенних факторів з тромбоцитарних  $\alpha$ -гранул, що дає можливість припустити важливу роль GPIIb / IIIa в проліферації метастазів пухлини [20].

Істинна важливість кожного активатора тромбоцитів для метастазування пухлини на сьогоднішній день залишається невідомою, а деякі дані свідчать про те, що механізми активації тромбоцитів пухлинними клітинами можуть бути специфічними, а в деяких випадках – винятковими.

Хоча механізми, за допомогою яких пухлинні клітини індукують агрегацію тромбоцитів,

можуть відрізнятися залежно від типу раку, загальним для них є особлива перевага для виживання. Вважається, що під час циркуляції виживає менше 0,1% пухлинних клітин, у той час як інші швидко знищуються рушійною силою або при атаці імунною системою [22]. Натуральні кілери (НК) забезпечують найбільш ефективний протипухлинний захист серед усіх циркулюючих імунних клітин, однак для їх роботи необхідний прямий контакт з пухлинною клітиною. Тромбоцитопенія, викликана зменшенням числа тромбоцитів при введенні анти-тромбоцитарної сироватки або порушенням продукції тромбоцитів, значно знижує експериментальне метастазування. Відомо, що рівня тромбоцитів у 30% від контрольного рівня достатньо, щоб повною мірою викликати метастазування в експерименті [26].

Результатом ТСПА є тромбоцитарне екранування пухлинної клітини, що захищає її від натуральних кілерів. На додаток до фізичного екранування пухлинних клітин від НК, тромбоцити також знижують активність останніх. Частково це відбувається за рахунок активації іммунорецептора NKG2D на клітці НК при виділенні з тромбоцитів трансформуючого ростового фактору  $\beta$  (TGF $\beta$ ). Більше того, пухлинні клітини приймають від тромбоцитів головний комплекс гістосумісності, а також експресують ті ж молекули адгезії і рецептори, що і тромбоцити, таким чином мімікуючи під клітини господаря і йдучи з поля зору клітин імунної системи. Крім впливу на клітини НК, ТПА також уповільнює дозрівання дендритних клітин - основних антигенпрезентуючих клітин імунної системи шляхом вивільнення судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) з  $\alpha$ -гранул тромбоцитів [35].

Коли пухлинній клітині вдається вступити в кровотік і уникнути імунологічної деструкції, вони зміцнюються у віддалених органах і починають процес екстравазації, колонізуючи орган-мішень. Для початку процесу екстравазації пухлинній клітині необхідно прикріпитися до люмінального боку ендотеліальної клітини, роблячи можливою подальшу трансендотеліальну міграцію. Медіатором цих процесів є різні рецептори адгезії на поверхні пухлинної та ендотеліальної клітин (ЕК), які в доповненні посилюються тромбоцитами. Тромбоцити є сильними регуляторами судинної проникності, особливо при запальних процесах, вони також перші, хто взаємодіє з пухлинними клітинами в кровоносному руслі [12].

Тромбоцити виділяють з  $\alpha$ -гранул фактори росту, такі як фактор росту тромбоцитів (Platelet-

derived growth factor, PDGF), трансформуючий ростовий фактор бета (TGF $\beta$ ), епідермальний фактор росту (EGF), інсуліноподібний фактор росту 1 (IGF-1), фактор росту ендотелію судин (VEGF), сфінгозин 1-фосфат (S1P) і лізофосфатидну кислоту (LPA), які впливають на васкулярну цілісність у мікросередовищі агрегати пухлина - тромбоцити, прикріплені до ЕК. Тромбоцити виділяють TGF $\beta$ 1, таким чином запускаючи в пухлинних клітинах сигнальний шлях TGF $\beta$  / SMAD, а мегакаріоцитарний / тромбоцитарний специфічний дефіцит TGF $\beta$  знижує експериментальне метастазування в легеневі тканини мишей. У доповненні до вищесказаного, прямий контакт тромбоцитів з пухлиною індукує в подальшому сигнальний шлях NF-kB (ядерний фактор «каппа-бі»). Разом сигнальні шляхи TGF $\beta$  / SMAD і NF-kB сприяють епітеліальній-мезенхімальної трансформації і інвазивній здатності пухлини. S1P стимулює ендотеліальні клітини й виступає потужним інгібітором судинної проникності. LPA підвищує проникність мікроваскулярних ендотеліальних клітин головного мозку, це дає підстави припустити, що ці 2  $\alpha$ -гранулярні фактори можуть безпосередньо впливати на цілісність судин при екстравазації пухлинних клітин. До того ж,  $\alpha$ -гранули містять матричні металопротеїнази (MMPs), які, при секреції, можуть робити свій внесок в інвазію пухлинних клітин, викликаючи розпад позаклітинного матриксу та ремоделювання навколишніх тканин. Важливо відзначити, що прямі докази цих припущень до теперішнього часу відсутні [1, 19].

Крім  $\alpha$ -гранул, тромбоцити також мають тверді гранули, які містять невеликі неорганічні молекули, такі як АТФ, АДФ і серотонін. Тромбоцити активно сприяють екстравазації пухлинних клітин, вивільняючи АТФ після спровокованої пухлинними клітинами активації. У мишей з дефіцитом протеїну Munc13-4, не здатних секретувати тверді гранули, трансміграція пухлинних клітин була знижена. Можна припустити, що сигнальний шлях АТФ-P2Y2 важливий на ранніх етапах екстравазації для відкриття міжклітинних з'єднань ендотеліальних клітин, у той час як сигнальний шлях TGF $\beta$ 1/SMAD необхідний на більш пізніх стадіях для активізації епітеліального-мезенхімального переходу. Ще однією важливою біоактивною молекулою є серотонін, який здатний викликати і вазоконстрикцію, і вазодилатацію. Давно відомо, що циркулюючі пухлинні клітини можуть підвищувати рівень серотоніну в плазмі, а блокада серотонінових рецепторів зменшує рівень експе-

риментального метастазування пухлини в печінку [24].

Цікавим фактом є те, що про-метастатичний ефект тромбоцитів може мати органоспецифічність, оскільки в експерименті вони показали посилення метастазування меланоми в легені, але на метастази в печінку такого ефекту не спостерігалося [9].

Уже в 1971 році Y Folkman припустив, що для уникнення викликаних гіпоксією затримки росту і некрозу, розвиток пухлини залежить від ангиогенезу [25]. Зростання метастатичних вогнищ також великою мірою залежить від формування нових кровоносних судин. Тромбоцити індукують проліферацію ендотеліальних клітин і формування каналів, а втрата тромбоцитів інгібує ангиогенез на ранніх стадіях і знижує формування нових судин. Більше того, тромбоцити відіграють ключову роль у стабілізації сформованих судин. Гранули тромбоцитів містять безліч різних розділених на осередки проангіогенних факторів, серед яких найбільш значущими є фактор росту ендотелію судин (VEGF, Vascular endothelial growth factor), лізофосфатидна кислота (LPA), інсуліноподібний фактор росту (IGF), тромбоцитарний фактор росту (PDGF), ангиопоетину, матриксна металопротеїназа-1, 2 і 9 (MMP-1,2,9), а також антиангіогенні фактори (TGF $\beta$ 1, тромбоспондин-1, S1P, тромбоцитарний фактор-4, ангиостатин і тканинний інгібітор матриксної металопротеїнази), які можуть секретуватись залежно від стимулу. Важливим проангіогенним фактором є VEGF, який секретується з тромбоцитів після активації PAR-1 (активуються протеазою рецептор) і стимулює ангиогенез у метастатичних вогнищах. Цікаво, що секреція VEGF підвищується після стимуляції тромбоцитів тромбіном у пацієнтів з раком грудей. VEGF також стимулює секрецію vWF з ендотеліальних клітин, таким чином підтримуючи адгезію тромбоцитів у метастатичних вогнищах. У свою чергу, активація PAR-4 призводить до секреції антиангіогенних факторів ендостатину [4]. Ці дані припускають, що пухлинні клітини можуть використовувати тромбоцити, щоб точно регулювати ангиогенне середовище, але частка кожного перерахованого вище чинника у розвитку пухлинних метастазів до теперішнього часу залишається нез'ясованою.

Тісний взаємозв'язок між пухлиною і тромбозом відома ще з 1985 року, коли Armand Trousseau вперше описав процеси тромбозу в ще не діагностованому раку. Пухлина сприяє активації процесів коагуляції в кровотоці, що

призводить до стану гіперкоагуляції або хронічної дисемінованої інтраваскулярної коагуляції (DIC, disseminated intravascular coagulation). Відхилення як мінімум в одному з лабораторних показників коагуляції є нормою у таких пацієнтів, навіть без явних тромботичних та/або геморагічних проявів. Результати лабораторних тестів демонструють, що процеси утворення фібрину та фібринолізу розвиваються паралельно з пухлиною, посилюючись при наявності метастазів [16].

Хоча А. Trousseau повідомляв насамперед щодо венозних тромбозів у пацієнтів з раком шлунка, зараз термін "симптом Trousseau" служить для позначення будь-якого типу тромбоемболічних маніфестацій при наявності пухлини. До цієї групи входять: артеріальні й венозні тромбози, небактеріальні тромботичні ендокардити, тромботичні мікроангіопатії і венооклюзивні захворювання. Глибокий венозний тромбоз у венозних ложах нижніх кінцівок є найпоширенішим проявом і супроводжується глибоким венозним тромбозом верхніх кінцівок, легенеvim емболізмом, тромбозом церебральних синусів і мігруючим поверхневим тромбофлебітом. Великі ретроспективні і проспективні дослідження популяцій показують загальну кількість венозних тромбоемболій у межах 0,6%-7,8% [32]. Такий широкий діапазон пояснюється наявністю багатьох різних факторів, які пов'язані із загальним ризиком тромбоемболічних ускладнень, серед яких провідне місце посідає тип пухлини.

Дані про артеріальний тромбоемболізм більш обмежені, кількість випадків у пухлинних пацієнтів варіюється від 2% до 5% [17].

У пацієнтів з мієлопроліферативною пухлиною обширні тромбози виникають у 10-40% випадків, з них до 70% як результат артеріальних тромбоемболій, включаючи ішемічні атаки, гострий міокардальний інфаркт та периферичну артеріальну оклюзію [3].

Іншими тромботичними маніфестаціями, що зустрічаються у ракових хворих, є тромботична мікроангіопатія (ТМА) та вено-оклюзивні хвороби (VOD). ТМА представляють собою гетерогенну групу хвороб, що характеризуються мікроангіопатичною гемолітичною анемією, периферичною тромбоцитопенією та органною недостатністю різного ступеня тяжкості. ТМА у ракових хворих є рідким, але тяжким ускладненням з поганим прогнозом та може маніфестувати як тромботична тромбоцитопенічна пурпура та гемолітичний уремічний синдром. Щойно діагностована ТМА повинна на-

сторожити клініцистів, оскільки може бути ознакою ракової хвороби у пацієнта [14]. VOD є серйозним захворюванням печінки, що характеризується обструкцією малих внутрішньопечінкових центральних венул мікротромбами та відкладаннями фібрину. У найтяжчі своїй формі, VOD, кількість випадків якої знаходиться в межах 0-77%, це ускладнення асоціюється з рівнем смертності до 85%, як наслідок мультиорганної недостатності [29].

У пацієнтів з пухлиною патологічна кровотеча є досить поширеною причиною смертності, досягаючи 10% у пацієнтів з щільними пухлинами і вище при наявності гематологічних зловиякних захворювань [13].

Пухлинні клітини можуть активізувати систему гемостазу за допомогою виділення прокоагуляційних ліпідів і протеїнів, запальних цитокінів і мікрочастин, а також при адгезії до васкулярної клітини-носія. Найбільш відмітним пухлинним прокоагулянтном є тканинний фактор (TF). Активність TF на пухлинній клітині може бути потенційована виділенням аніонних фосфоліпідів на зовнішній шар клітинної мембрани, а також секрецією гепаранази. Основною функцією гепаранази є руйнування гепарансульфату в екстрацелюлярному матриксі, таким чином викликаючи інвазію і метастазування пухлини. Тим не менш, гепараназа може взаємодіяти з TF інгібітором (TF pathway inhibitor, TFPI), що веде до збільшення активності TF на поверхні клітин [8].

Ще одним пухлинним прокоагулянтном є раковий прокоагулянт (cancer procoagulant, CP), який, на відміну від TF, прямим шляхом активує FX, незалежно від FVII. CP був виявлений у різних пухлинних, а також в амніон-хоріонних клітинах, але виявився відсутнім у нормально диференційованих клітинах. У пацієнтів з гострою промієлоцитарною лейкемією CP виділявся в гострий період хвороби і зникав по досягненні ремісії [5].

TF може активно виділятися пухлинними клітинами в мембран-асоційованій формі у вигляді TF-містних мікрочасток (MP). MP-є везикулами плазматичної мембрани 0.1-1µm в діаметрі, виробленими при активній везикуляції практично будь-якого типу клітин. Фосфоліпиди, що виділяються на поверхні MP, є підходящою аніонною фосфоліпідною поверхнею для утворення теназних і протромбіназних комплексів, таким чином, ініціюючи коагуляційний каскад, що може супроводжуватись супутнім виділенням TF. Підвищений рівень MP присутній як у пацієнтів з щільними пухлинами, так і при

гематологічних злоякісних новоутвореннях [7]. Патогенетична роль МР в асоційованих з раком тромбозах була продемонстрована при синдромі диссемінованої інтраваскулярної коагуляції (DIC) у мишей після внутрішньовенної ін'єкції великої кількості TF-позитивних МР пухлинного походження [11].

Пухлинні клітини також здатні взаємодіяти з фібринолітичною системою хазяїна завдяки виділенню активаторів плазміногену (uPA і t-PA), їх інгібіторів (PAI-1 і PAI-2), а також рецепторів, таких як uPAR і аннексін II (ко-рецептор плазміногену і тканинного активатора плазміногену tPA) [5].

Більше того, пухлинні клітини виділяють велику кількість розчинних прозапальних (фактор некрозу пухлини альфа [TNF- $\alpha$ ] і інтерлейкін-1 бета [IL-1 $\beta$ ]) і проангіогенних (васкулярний ендотеліальний фактор росту [VEGF], основний фактор росту фібробластів [bFGF]) факторів, що може стимулювати протромботичні властивості васкулярних клітин. В ендотеліальних клітинах ці молекули індують виділення TF, стимулюючи утворення PAI-1 [5]. Здатність пухлинних клітин прилипати до судинного ендотелію сприяє локалізації утворення кров'яного згустку і формуванню тромбу.

В останнє десятиліття молекулярні дослідження експериментальних моделей людського раку продемонстрували, що онкоген і генно-опосередкована неопластична трансформація активації згортання є невід'ємною рисою неопластичної трансформації [33].

Активация коагуляції і ріст пухлини тісно пов'язані. Зростання пухлини та її агресивність великою мірою залежать від здатності ракових клітин викликати неоангіогенез і метастазування. Внесок у ці процеси різних компонентів системи гемостазу, включаючи тромбін, TF і FVIIa, FXa, фібриноген і васкулярні клітини, було ретельно доведено на *in vivo* й *in vitro* пухлинних моделях. Описані механізми включають як процеси, пов'язані з утворенням кров'яного згустку, що призводить до активації тромбоцитів і відкладення фібрину, так і процеси, що не залежать від такого [5].

Відкладення фібрину в пухлинних судинних сплетеннях підсилюють ангіогенез, тому є хорошим фундаментом для утворення нових судин. Більше того, матрикс фібрину пов'язує й ізолює фактори росту (VEGF, bFGF і інсуліноподібний фактор росту-1), захищаючи їх від протеолітичної деградації [5]. Фібриновий матрикс у пухлинній тканині знаходиться в постійній динаміці, одночасно зазнаючи депонування і

розчинення фібринолітичною системою, щоб бути заміщеним сполучною тканиною. У той же час, дефіцит фібриногену не порушує ріст і ангіогенез основної пухлини, але значно знижує метастазування, можливо зменшуючи адгезію і стабільність метастатичних клітин. Тромбоцити можуть бути активовані незалежно від тромбіну, шляхом виділення проагрегуючих субстанцій та механізмів адгезії [31].

Тромбін і TF беруть участь у прогресуванні пухлинного процесу через механізми, пов'язані з утворенням згустку, оскільки взаємодіють зі специфічними рецепторами, які належать до сімейства рецепторів, що активуються протеазами (PAR), виділеними раковими клітинами, тромбоцитами, ендотеліальними клітинами, клітинами гладкої мускулатури судин і макрофагами [5]. Розщеплена тромбіном PAR-1 стимулює фактори росту, хемокіни, а також виділення позаклітинних протеїнів, які сприяють проліферації і міграції пухлинних клітин. В ендотеліальних клітинах тромбін регулює безліч факторів, пов'язаних з ангіогенезом, таких як VEGF, bFGF, VEGFR і металопротеїназа (MMP) - 2. Тромбін і FXa можуть стимулювати ген Ctgf1, що запускає ангіогенез, а також виділення фактора росту сполучної тканини (CTGF) [30]. У результаті активовані тромбіном тромбоцити стають значною мірою проангіогенними після виділення проангіогенних факторів зі своїх гранул, включаючи VEGF і тромбоцитарний фактор росту (PDGF) [30]. Прометастатична активність тромбіну була доведена в експериментальних моделях, в яких кількість легеневи метастазів значно збільшилася після введення тромбіну [5]. Приєднання FVII до TF викликає розгортання сигнального каскаду, який викликає збільшення адгезії і міграції ендотеліальних клітин. Крім того, TF в комплексі з FVIIa і FXa активує один або кілька PARS, в тому числі ендотеліальних PAR-2, щоб підтримати ангіогенез *in vivo* [23].

Лейкоцити також залучені до процесів росту пухлини і метастазування. Нейтрофіли, активовані в пухлинному мікросередовищі місцевими медіаторами запалення (TNF- $\alpha$ ), можуть приєднуватися до пухлинних клітин і посилювати їх міграцію через ендотеліальний бар'єр. Виділяючи металопротеїнази, вони можуть гідролізувати компоненти матриксу ендотеліальних клітин і сприяти рухливості пухлини [6].

Пухлинні клітини активують коагуляцію як прямим шляхом, так і опосередковано. Прямі механізми стосуються активності тканинного фактора і пухлинного прокоагулянту (cancer

procoagulant - CPA). TF і CPA були виявлені в клітинах різних пухлин, при цьому ТФ активує фактор X через комплекс TF-фактор VIIa, а CPA надає пряму дію на фактор X. Непрямі механізми активації є результатом взаємодії пухлинної клітини з моноцитами, тромбоцитами і ендотелієм за допомогою молекул адгезії, інтерлейкіну (IL) -1, фактора росту ендотелію судин (VEGF) і фактора некрозу пухлини (TNF), що продукуються пухлиною. У свою чергу, активовані тромбоцити, моноцити і ендотеліоцити можуть запускати коагуляційний каскад шляхом вивільнення TF або активації тромбоцитів [18, 37].

VEGF- один з членів сімейства структурно близьких між собою білків, які є лігандами для сімейства рецепторів VEGF. VEGF впливає на розвиток нових кровоносних судин і виживання незрілих кровоносних судин, зв'язуючись з двома близькими за будовою мембранними тирозинкіназними рецепторами (рецептором-1 VEGF і рецептором-2 VEGF) і активує їх. Ці рецептори експресуються клітинами ендотелію стінки кровоносних судин. Зв'язування VEGF з цими рецепторами запускає сигнальний каскад, який в кінцевому результаті стимулює ріст ендотеліальних клітин судини, їх виживання і проліферацію. Ендотеліальні клітини беруть участь у таких різноманітних процесах, як вазоконстрикція і вазодилатація, презентація антигенів, а також служать важливим елементом всіх типів кровоносних судин. Таким чином, стимулюючи ендотеліальні клітини, VEGF відіграє центральну роль у процесі ангіогенезу [37].

Інгібування VEGF являє собою новаторський підхід до протипухлинної терапії, який може: привести до зворотного розвитку незрілих кровоносних судин, типових для пухлин; знизити проникність судин і, тим самим, внутрішньопухлинний тиск; зменшити ймовірність метастазування пухлини [37].

Багато дослідників впевнені, що найбільш значущою властивістю тромбоцитів є їхня

здатність екранувати пухлинні клітини від імунної відповіді. Отже, запобігання викликаній пухлинними клітинами агрегації тромбоцитів повинно зробити циркулюючі пухлинні клітини доступними для імунної чистки.

Функціональна регуляція GPIIb / IIIa є загальним шляхом для активації тромбоцитів усіма основними агоністами і, таким чином, явною мішенню для запобігання ТСПА. Кілька GPIIb / IIIa антагоністів мають клінічне застосування і їх цілющі ефекти були продемонстровані в експериментальному метастазуванні. Відносно недавно кілька клінічних досліджень виявили потенційний антиметастатический ефект ацетилсаліцилової кислоти, - антитромбоцитарний препарат "золотого стандарту", який пригнічує синтез ТхА2 і, таким чином, блокує один зі шляхів активації тромбоцитів.

Альтернативною стратегією щодо зниження дисемінації пухлини може бути використання нефракціонованого або низькомолекулярного гепарину. Слід зауважити, що не антикоагуляційні властивості гепарину, а його здатність пригнічувати взаємодії Р-селектину – таким чином запобігаючи взаємодії пухлина – тромбоцити і пухлина - ендотеліальні клітини - є основним механізмом запобігання метастазування. Тим не менше, недавні дослідження виявили, що антикоагуляційний ефект гепарину знижує секрецію ангіогенних факторів з тромбоцитів.

Проведений огляд свідчить, що тромбоцити залучені практично у всі етапи гематогенного метастазування пухлин. З причини великої різноманітності характеристик пухлинних клітин та їх адаптивного потенціалу не може бути дослідження, яке б відповідало на всі питання про взаємодії пухлинних клітин з тромбоцитами. Сподіваємося, що краще розуміння взаємодій цих механізмів приведе до розширення спектра терапевтичних стратегій у лікуванні пацієнтів, які страждають на рак.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Abnormal megakaryocyte development and platelet function in Nbeal2 mice / W.H. Kahr, R.W. Lo, L.Li [et al.] // *Blood*. – 2013. – Vol.122. – P. 3349-3358.
2. Anticoagulation inhibits tumor cell-mediated release of platelet angiogenic proteins and diminishes platelet angiogenic response / E.M. Barinelli // *Blood*. – 2014. – Vol. 123. – P. 101-112.
3. Blake-Haskins J.A. Thrombotic microangiopathy with targeted cancer agents / J.A. Blake-Haskins, R.J. OLechleider, R.J. Kreitman // *Clin. Cancer. Res* – 2011. – Vol. 17. – P. 5858-5866.
4. Clotting mechanisms and cancer: implications in thrombus formation and tumor progression / A. Falanga, M. Marchetti, A. Vignoli [et al.] // *Clin. Adv. Hematol. Oncol.* – 2003. – N 1. – P. 673-678.
5. Elevated levels of circulating platelet microparticles, VEGF, IL-6 and RANTES in patients with gastric cancer: possible role of a metastasis predictor / H.K.Kim, K.S.Song, Y.S. Park [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2003. – Vol. 39. – P. 184-191.
6. Falanga A. Coagulation and cancer: biological and clinical aspects / A. Falanga, M. Marchetti,

- A. Vignoli // *J. Thromb. Haemost.* – 2013 – N 11. – P. 223-233.
7. Falanga A. Marchetti. Microparticles in tumor progression / A. Falanga, C.J. Tartari // *Thromb. Res.* – 2012. – Vol. 129. – P. 132-136.
  8. Falanga A. Procoagulant mechanisms in tumour cells / A. Falanga, M. Panova-Noeva, L. Russo // *Best. Pract. Res. Clin. Haematol.* – 2009. – Vol. 22. – P. 49-60.
  9. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications / J. Folkman // *N. Engl. J. Med.* – 1971. – Vol. 285. – P. 1182-1186.
  10. Gao J. Increased platelet count is an indicator of metastasis in patients with nasopharyngeal carcinoma / J. Gao, H.Y. Zhang, Y.F. Xia // *Tumour Biol.* – 2013. – Vol. 34. – P. 39-45.
  11. Genetic pathways linking hemostasis and cancer / D.Garnier, N.Magnus, E.D'Asti [et al.] // *Thromb. Res.* – 2012. – Vol. 129 – P. 22-29.
  12. Gray platelet syndrome and defective thromboinflammation in Nbeal2-deficient mice / C. Deppermann, D. Cherpokova, Nurden P [et al.] // *Clin. Invest.* – 2013. – Vol. 123 – P. 3331-3342.
  13. Heparanase induces tissue factor pathway inhibitor expression and extracellular accumulation in endothelial and tumor cells / Y. Nadir, B. Brenner, S. Gingis-Velitski [et al.] // *Thromb. Haemost.* – 2008. – Vol. 99 – P. 133-1341.
  14. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome / J.A. Coppell, P.G.Richardson, R. Soiffer [et al.] // *Biol. Blood. Marrow. Transplant.* – 2010. – Vol. 16 – P. 157-168.
  15. Inhibition of in vivo tumor growth by the blocking of host alpha(v)beta3 alphaII(b)beta3 integrins / O. Engebraaten, M. Trikha, S. Juell [et al.] // *Anticancer Res.* – 2009. – Vol. 29. – P. 131-137.
  16. Khorana A.A. Assessing risk of venous thromboembolism in the patient with cancer // A.A. Khorana, G.C. Connolly / *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – P. 4839-4847.
  17. Landolfi R. Thrombosis in myeloproliferative disorders: pathogenetic facts and speculation / R. Landolfi, L. Di Gennaro, A. Falanga // *Leukemia.* – 2008. – Vol. 22. – P. 2020-2028.
  18. LMWH bempiparin and ULMWH RO-14 reduce the endothelial angiogenic features elicited by leukemia, lung cancer, or breast cancer cells / A. Vignoli, M. Marchetti., L. Russo [et al.] // *Cancer Investigation.* – 2011. – Vol. 29. – P. 153-161.
  19. Medina V.A. Histamine [Receptors and cancer pharmacology] / V.A. Medina // *Rivera Pharmacol.* – 2010. – Vol. 161.– P. 755-767.
  20. Metastasis: quantitative analysis of distribution and fate of tumor embolilabeled with 125 I-5-iodo-2'-deoxyuridine / J. Fidler // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1970. – Vol. 45 – P. 773-782.
  21. Microenvironmental regulation of metastasis / J.A. Joyce, J.W. Pollard, F. Muller, N. Mutch [et al.] // *Nat. Rev. Cancer.* – 2009. – N 9. – P. 239-252.
  22. Only severe thrombocytopenia result in bleeding and defective thrombus formation in mice / M. Morowski, T. Vogtle, P. Kraft [et al.] // *Blood.* – 2013. – Vol. 121. – P. 4938-4947.
  23. Ovarian cancer cells modulate human blood neutrophils response to activation in vitro / M. Klink, K. Jastrzemska, M. Nowak [et al.] // *Scand. J. Immunol.* – 2008. – Vol. 68. – P. 328-336.
  24. Parish. Platelets and P-selectin control tumor cell metastasis in an organ-specific manner and independently of NK cells / L.A. Coupland, B.H. Chong // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72. – P. 4662-4671.
  25. Platelet-derived thrombospondin-1 is a critical negative regulator and potential biomarker of angiogenesis / A. Zaslavsky, K.H. Baek, R.C. Lynch [et al.] // *Blood.* – 2010. – Vol. 115. – P. 4605-4613.
  26. Platelet-mimicry of cancer cells: epiphenomenon with clinical significance / J. Tovari, E. Raso [et al.] // *J. Timar. Oncology.* – 2005. – Vol. 69. – P. 185-201.
  27. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo / F. Muller, W. Schenk, F. Muller, N. Mutch [et al.] // *Cell.* – 2009. – Vol. 139. – P. 1143-1156.
  28. Platelets and fibrinogen increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells / J.S. Palumbo, K.E. Talmage, J.V. Massari [et al.] // *Blood.* – 2005. – Vol. 105 – P. 178-185.
  29. Reeves B.N. Acquired hemophilia in malignancy / B.N. Reeves, N.S. Key // *Thromb. Res.* – 2012. – Vol. 129. – P. 66-68.
  30. Role of protease activated receptor 1 and 2 signaling in hypoxia-induced angiogenesis / H.Uusitalo-Jarvinen, B.M. Mueller [et al.] // *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* – 2007. – Vol. 27. – P. 1456-1462.
  31. Ruf W. Tissue factor and PAR signaling in tumor progressi / W. Ruf // *Thromb. Res.* – 2007. – Vol. 120. – P. 7-12.
  32. Sanon S. Peripheral arterial ischemic events in cancer patients // S. Sanon, D.J. Lenihan, E. Mouhayar / *Vasc. Med.* – 2011. – N 16 – P. 119-130.
  33. Spontaneous hematogenous and lymphatic metastasis, but not primary tumor growth or angiogenesis, is diminished in fibrinogen-deficient mice/ J.S.Palumbo, J.M.Potter, L.S. Kaplan [et al.] // *Cancer Res.* – 2002. – Vol. 62. – P. 6966-6972.
  34. Stegner D. Platelet receptor signaling in thrombus formation / D. Stegner, D. Stegner, B. Nieswandt // *J. Mol. Med.* – 2011. – Vol. 89. – P. 109-121.
  35. Stepping out of the flow: capillary extravasation in cancer metastasis / F.L. Miles, F.L. Pruitt, K.L. van Golen [et al.] // *Clin. Exp. Metastasis.* – 2008. – Vol. 25. – P. 305-324.
  36. Suzuki-Inoue K. Novel platelet activation receptor CLEC-2: from discovery to prospects / K. Suzuki-Inoue, O. Inoue, Y. Ozaki // *J. Thromb. Haemost.* – 2011. – N 1. – P. 44-45.
  37. The role of aspirin in cancer prevention / M.J. Thug // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2012. – N 9. – P. 259-267.
  38. VEGF-A isoform-specific regulation of calcium ion flux, transcriptional activation and endothelial cell migration / G.W. Fearnley, A.F. Bruns, S. Wheatcroft [et al.] // *Biol. Open.* – 2015. – N 1. – P. 87-89.



**REFERENCES**

1. Kahr WH, Lo RW, Li L et al. Abnormal megakaryocyte development and platelet function in Nbeal2 mice. *Blood*. 2013;122:3349–58.
2. Barinelli EM. Anticoagulation inhibits tumor cell-mediated release of platelet angiogenic proteins and diminishes platelet angiogenic response. *Blood*. 2014;123:101–12.
3. Blake-Haskins JA, Lechleider RJ, Kreitman RJ. Thrombotic microangiopathy with targeted cancer agents. *Clin Cancer Res*. 2011;17:5858–66.
4. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A et al. Clotting mechanisms and cancer: implications in thrombus formation and tumor progression. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2003;1:673–8.
5. Kim HK, Song KS, Park YS et al. Elevated levels of circulating platelet microparticles, VEGF, IL-6 and RANTES in patients with gastric cancer: possible role of a metastasis predictor. *Eur J Cancer*. 2003;39:184-91.
6. Falanga A, Marchetti M, Vignoli A. Coagulation and cancer: biological and clinical aspects. *J Thromb Haemost*. 2013;11:223–33.
7. Falanga A, Tartari CJ, Marchetti M. Microparticles in tumor progression. *Thromb Res*. 2012;129:132–6.
8. Falanga A, Panova-Noeva M, Russo L. Procoagulant mechanisms in tumour cells. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2009;22:49-60.
9. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *J. Folkman. N Engl J Med*. 1971; 285:1182–6.
10. Gao J, Zhang HY, Xia YF [Increased platelet count is an indicator of metastasis in patients with nasopharyngeal carcinoma]. *Tumour Biol*. 2013;34:39-45.
11. Garnier D, Magnus N, D’Asti E et al. Genetic pathways linking hemostasis and cancer. *Thromb Res*. 2012;129:22–9.
12. Deppermann C, Cherpokova D, Nurden P et al. Gray platelet syndrome and defective thrombo-inflammation in Nbeal2-deficient mice. *Clin Invest*. 2013;123:3331–42.
13. Nadir Y, Brenner B, Gingis-Velitski S et al. Heparanase induces tissue factor pathway inhibitor expression and extracellular accumulation in endothelial and tumor cells. *Thromb Haemost*. 2008;99:133-41.
14. Coppell JA, Richardson PG, Soiffer R et al. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16:157–68.
15. Engebraaten O, Trikha M, Juell S et al. Inhibition of in vivo tumor growth by the blocking of host alpha(v)beta3 alphaII(b)beta3 integrins. *Anticancer Res*. 2009; 29:131-7.
16. Khorana AA Connolly GC. Assessing risk of venous thromboembolism in the patient with cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27:4839–47.
17. Landolfi R, Di Gennaro L, Falanga A. Thrombosis in myeloproliferative disorders: pathogenetic facts and speculation. *Leukemia*. 2008;22:2020–8.
18. Vignoli A, Marchetti M, Russo L et al. LMWH bempiparin and ULMWH RO-14 reduce the endothelial angiogenic features elicited by leukemia, lung cancer, or breast cancer cells. *Cancer Investigation*. 2011;29:153-61.
19. Medina VA, Histamine ES. [Receptors and cancer pharmacology]. *Rivera / Pharmacol*. 2010;161:755-67.
20. Fidler IJ. Metastasis: quantitative analysis of distribution and fate of tumor embolilabeled with 125 I-5-iodo-2'-deoxyuridine. *J Natl Cancer Inst*. 1970;45:773-82.
21. Joyce JA, Pollard JW, Muller F, Mutch N, Schenk W et al. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2009;9:239-52.
22. Morowski M, Vogtle T, Kraft P et al. Only severe thrombocytopenia result in bleeding and defective thrombus formation in mice. *Blood*. 2013;121:4938-47.
23. Klink M, Jastrzebska K, Nowak M et al. Ovarian cancer cells modulate human blood neutrophils response to activation in vitro. *Scand J Immunol*. 2008;68:328–36.
24. Coupland LA, Chong BH, Parish CR. Platelets and P-selectin control tumor cell metastasis in an organ-specific manner and independently of NK cells. *Cancer Res*. 2012;72:4662-71.
25. Zaslavsky A, Baek KH, Lynch RC et al. Platelet-derived thrombospondin-1 is a critical negative regulator and potential biomarker of angiogenesis. *Blood*. 2010;115:4605–13.
26. Tovari J, Raso E et al. Platelet-mimicry of cancer cells: epiphenomenon with clinical significance. *J. Timar. Oncology*. 2005;69:185-201.
27. Muller F, Schenk W, Muller F, Mutch N, Schenk W et al. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo. *Cell*. 2009;139:1143-56.
28. Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV et al. Platelets and fibrinogen increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells. *Blood*. 2005;105:178–85.
29. Reeves BN, Key NS. Acquired hemophilia in malignancy. *Thromb Res*. 2012;129:66–8.
30. Uusitalo-Jarvinen H, Kurokawa, Mueller BM et al. Role of protease activated receptor 1 and 2 signaling in hypoxia-induced angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:1456–62.
31. Ruf W. Tissue factor and PAR signaling in tumor progression. *Thromb Res*. 2007;120:7-12.
32. Sanon S, Lenihan DJ, Mouhayar E. Peripheral arterial ischemic events in cancer patients. *Vasc Med*. 2011;16:119-30.
33. Palumbo JS, Potter JM, Kaplan LS et al. Spontaneous hematogenous and lymphatic metastasis, but not primary tumor growth or angiogenesis, is diminished in fibrinogen-deficient mice. *Cancer Res*. 2002;62:6966-72.
34. Stegner D, Stegner D, Nieswandt B. Platelet receptor signaling in thrombus formation. *J Mol Med (Berl)*. 2011;89:109-21.
35. Miles FL, Pruitt FL, van Golen KL et al. Stepping out of the flow: capillary extravasation in cancer metastasis. *Clin Exp Metastasis*. 2008;25:305-24.
36. Suzuki-Inoue K, Inoue O, Ozaki Y. Novel platelet activation receptor CLEC-2: from discovery to prospects. *J. Thromb Haemost*. 2011;1:44–45.
37. Thug MJ. The role of aspirin in cancer prevention. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012;9:259–67.
38. Fearnley GW, Bruns AF, Wheatcroft S. et al. VEGF-A isoform-specific regulation of calcium ion flux, transcriptional activation and endothelial cell migration. *Biol Open*. 2015;1:87–89.

Стаття надійшла до редакції  
16.12.2015

