УДК 616-006.6-02-07

В. І. Десятерик [1], Є. С. Шевченко [1], О. В. Медведков [2]
[1] ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
[2] КЗ «Криворізький онкологічний диспансер»

ГЕМОСТАТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ГЕМАТОГЕННОГО МЕТАСТАЗУВАННЯ ПУХЛИНИ

В огляді викладено актуальні питання метастазування, як основної причини смерті у хворих з раковою патологією. Недостатнє розуміння механізмів цього процесу пов'язане із різноманітністю характеристик пухлинних клітин. Розглянуто механізми гематогенного метастазування та досліджено залучення тромбоцитів до всіх етапів гематогенного метастазування пухлини. Спираючись на розуміння механізмів гемостатичних взаємодій у контексті розширення спектра терапевтичних стратегій у лікуванні пацієнтів з онкопатологією (зменшення можливості дисемінації пухлини), зазначена роль використання антитромбоцитарних препаратів та нефракціонованих або низькомолекулярних гепаринів. Наведено сучасні дослідження щодо властивості гепарину запобігати взаємодії пухлина — тромбоцити і пухлина — ендотеліальні клітини, що є основним механізмом запобігання метастазуванню. Окреслено шляхи подальших досліджень нових властивостей добре вивчених і доступних препаратів супроводу, завдяки яким можна поліпшити якість медичної допомоги, що надається пацієнтам з онкопатологією, а отже, і якість їх життя.

Ключові слова: рак, метастазування, гепарин.

Метастазування — основна причина смерті хворих з раковою патологією. Терапевтичні можливості обмежені внаслідок недостатнього розуміння механізмів цього процесу. Під час метастатичного дисемінування пухлинні клітини надходять у кровоносні та/або лімфатичні судини. Наявність пухлинних клітин у регіонарних лімфатичних вузлах є одним із критеріїв для визначення стадії раку. Поширення пухлинного процесу у віддалені ділянки відбувається переважно з током крові [18]. Гематогенне метастазування відбувається в такій послідовності: відділення пухлинної клітини від первинної пухлини, 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 в умовах експерименту довів Gasic в 1968 р. Тромбоцитоз виявляють у багатьох пацієнтів з раковими захворюваннями з різними варіантами ураження і типом пухлини. Для більшості злоякісних утворень підвищення кількості тромбоцитів обернено пропорційне виживаності, що дало підставу вважати тромбоцитоз маркером несприятливого прогнозу розвитку захворювання [15]. Це пояснюється тим фактом, що тромбоцити сприяють циркуляції пухлинних клітин у кровоносній системі, а також їх екстравазації та колонізації.

Тромбоцити — маленькі без'ядерні клітини, які походять з прекурсорів (мегакаріоцитів) в кістковому мозку. Циркулюють у кровоносній системі близько 10 діб. З'єднання між рецепторами тромбоцитів та їх лігандами, розташованими на межі із субендотеліальним позаклітинним матриксом (або на деяких пухлинних клітинах) призводить до активації тромбоцитів. Це спричиняє швидке ремоделювання цитоскелета та зміну форми клітини з дископодібної на сферичну. До активації тромбоцитів також призводить екзоцитоз α-гранул і твердих гранул, невеликих внутрішньоклітинних гранул, які містяться лише в тромбоцитах та їх попередниках. Секреція зв'язувальних протеїнів, таких як фактор Віллебранда і фібриноген з

Десятерик Володимир Іванович, д. мед. н., проф., зав. кафедри
Тел. (564) 65-50-55. E-mail: vid7181@gmail.com

© В. І. Десятерик, Є. С. Шевченко, О. В. Медведков, 2015

Стаття надійшла до редакції 10 липня 2015 р.

α-гранул, і так званих медіаторів другої хвилі (аденозиндифосфат (АДФ) і серотонін з твердих гранул) разом з продукцією та секрецією тромбоксану A_2 (TxA_2) призводить до залучення додаткових тромбоцитів у тромб, який збільшується у розмірах [36]. Усі основні тромбоцитарні сигнальні механізми утворюють «фінальний спільний шлях» активації, який спричиняє адгезію та агрегацію тромбоцитів.

Крім тромбоцитів, для ефективного гемостазу також потрібне функціонування системи коагуляції та її центрального продукту — тромбіну, який є посередником у перетворенні фібриногену на фібрин та потужним активатором тромбоцитів. Коагуляційний каскад може бути ініційований тканинним фактором (тромбопластин), котрий вивільняється у відповідь на пошкодження судини, або негативно зарядженими поверхнями вздовж внутрішнього шляху коагуляції та фактором XII. 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, зв'язуючи та активуючи фактор XII. Процеси активації тромбоцитів, коагуляції і утворення тромбу є ключовими при зупинці кровотечі після травми тканин і вирішальним чинником у гематогенному метастазуванні пухлини [29].

РЕЦЕПТОРИ ТРОМБОЦИТІВ ПІДТРИМУЮТЬ АГРЕГАЦІЮ ТРОМБОЦИТІВ, ІНДУКОВАНУ ПУХЛИННИМИ КЛІТИНАМИ

Циркулюючи в крові, пухлинні клітини можуть активувати тромбоцити під час прямого контакту або шляхом вивільнення таких медіаторів, як АДФ, тромбін, TxA_2, або асоційованих з пухлиною протеїназ. Здатність пухлинних клітин до агрегації тромбоцитів вперше описано в 1968 р. Її позначено терміном «індукована пухлиною агрегація тромбоцитів» (tumor cell-induced platelet aggregation (TCIPA)).

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

Існують два основних шляхи активації тромбоцитів. Один із них запускається глікопротеїном (GP) VI і лектиновим рецептором 2 С-типу (C-type lectin receptor 2 (CLEC-2)), вмикаючи каскад фосфориляції тирозину, утворюючи активаційний тирозинвмісний мотив імунорецепторів (Immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM)), який призводить до повної активації тромбоцитів. З іншого боку, розчинні агоністи, такі як тромбін, АДФ і TxA_2 стимулюють рецептори, які з'єднують гетеротримерний G-білок і запускають окремий сигнальний шлях. Багато з основних структурних компонентів тромбоцитів та їх рецепторів, які сприяють гемостазу, також пов'язані з розвитком пухлини [37].

Приєднання GPIbα, субодиниці GPIb IX-V комплексу, до його основного ліганду vWF є ключовим моментом у зменшенні кількості тромбоцитів і подальшої адгезії на ділянках пошкодження кровоносних судин. GPIbα також здатний зв'язувати Р-селектин на поверхні активованих ендотеліальних клітин (ЕК) або тромбоцитів і взаємодіяти з Mac-1, будучи медіатором взаємодії тромбоцитів та лейкоцитів. Роль GPIb IX-V комплексу в процесах TCIPA і метастазуванні пухлини досить сумнівна. Хоча перші експерименти виявили таку властивість цього комплексу, подальші дослідження не показали цих ефектів *in vitro*. *In vivo* функціональне інгібування GPIbα Fab-фрагментом моноклональних антитіл спричиняло метастазування меланоми, демонструючи інгібувальний ефект GPIbα. В експериментах на мишах, у яких був відсутній весь комплекс GPIb IX-V або лише позаклітинний домен GPIbα, відзначено порівняно низький рівень експериментального метастазування. Є дані, що миші, в яких виявлено дефіцит vWF, більшою мірою схильні до експериментального метастазування. Оскільки взаємодії GPIb—vWF є ключовими в адгезії тромбоцитів, можна припустити, що за відсутності vWF адгезія пухлинних тромбоцитарних агрегатів відбувається в капілярах з меншою швидкістю обміну, де умови для екстравазації порівняно кращі, ніж у великих судинах. Важливо, що ефект утворення метастазів не спостерігався у мишей без Р-селектину, тобто відсутність або блокада Р-селектину створює лікувальний ефект в експериментальному метастазуванні [14].

GPVI є ITAM-асоційованим тромбоцитарним специфічним рецептором до колагену, який є медіатором у процесах потужної клітинної активації. Його відсутність знижує експериментальне метастазування у мишей майже наполовину, не впливаючи при цьому на збільшення первинної пухлини. Клінічно цей факт може представляти певний інтерес, оскільки розроблено багато стратегій з використанням GPVI, а його дефіцит мало впливає на гемостатичну функцію тромбоцитів.

CLEC-2, який відкрито відносно нещодавно, є рецептором активації тромбоцитів, бере участь в утворенні тромбу *in vivo* при взаємодії з лігандом, який досі не ідентифіковано. Єдиним відомим фізіологічним лігандом CLEC-2 є подопланін — трансмембранний протеїн, який не виявлено в кровоносних судинах. Тим не менш, подопланін продукується різними типами пухлин, а блокада взаємодії подопланіну та CLEC-2 пригнічує TCIPA *in vitro* і метастазування *in vivo*. Таким чином, вплив на зазначену взаємодію є перспективним щодо запобігання утворенню метастазів.

Тромбоцити виділяють два G-протеїни, які зв'язують рецептори АДФ: Р2У1 і Р2У12. Обидва

сприяють агрегації тромбоцитів. Деякі пухлинні клітини секретують АДФ, прямо ініціюючи агрегацію тромбоцитів, а відсутність Р2У12 знижує чутливість до експериментального метастазування. Більше того, секреція АДФ стимульованими тромбоцитами (наприклад, активованими ITAM-рецепторами) посилює TCIPA. Проте останні дослідження на мишах, які не могли секретувати вміст щільних гранул, а також тих, які не мали ендотеліальних АДФ-рецепторів, показали, що АДФ із тромбоцитів є більш значущим чинником для процесів екстравазації, ніж для TCIPA.

Тромбін — найпотужніший агоніст тромбоцитів, який реалізує свій ефект, роз'єднуючи зв'язані G-протеїном рецептори PAR-1 і PAR-2 у тромбоцитах людини, активовані протеазою. У деяких типах пухлин виявлено тканинний фактор. Припускають, що індукована пухлинними клітинами коагуляція запускає TCIPA за допомогою тромбіну. Терапія з використанням прямого інгібітора тромбіну — гірудину спричиняла інгібування TCIPA *in vitro* у деяких пухлинах. Відсутність PAR-4 призводила до обмеження експериментального метастазування тією ж мірою, що і дефіцит тромбоцитів. Гетерозиготні PAR-4 (які чинять вплив на гемостаз) демонстрували зменшення експериментального метастазування, що свідчило про те, що зниження активності тромбіну достатньо для ослаблення метастазування. Миші, які не мали Gαq (субодиниця G-протеїну, котра критично знижує PAR-4 та інші рецептори), були захищені від експериментального метастазування [32].

Наслідком активації тромбоцитів є конформаційні зміни інтегринів, що робить можливими високоафінні взаємодії з їх лігандами і міцну адгезію та агрегацію. G. Humphries і співавт. були першими, хто показав, що агрегація тромбоцитів за допомогою інтегринів необхідна для вдалого експериментального метастазування, після того як з'ясували, що синтетичний пептид, який містить RGD (аргінілгліциласпарагінову кислоту), отриманий із 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 TCIPA та експериментальному метастазуванні при блокаді GPIIb/IIIa-антитіл, дефіциті інтегрину (при видаленні β_3-субодиниці) або відсутності його головного ліганду — фібриногену. Активація GPIIb/IIIa, можливо, також необхідна для секреції проангіогенних факторів з тромбоцитарних α-гранул, що дає підставу припустити важливу роль GPIIb/IIIa в проліферації метастазів пухлини [6].

Важливість окремих активаторів тромбоцитів для метастазування пухлини невідома. Деякі дані свідчать про те, що механізми активації тромбоцитів пухлинними клітинами можуть бути специфічними, а в деяких випадках — винятковими.

ТРОМБОЦИТАРНЕ ЕКРАНУВАННЯ ПУХЛИННИХ КЛІТИН

Хоча механізми, за допомогою яких пухлинні клітини індукують агрегацію тромбоцитів, можуть відрізнятися залежно від типу раку, загальним для них є створення умов для виживання. Вважають, що під час циркуляції виживає менше ніж 0,1 % пухлинних клітин, тоді як інші швидко знищуються при атаці імунною системою [12]. Натуральні кілери (NK) забезпечують найефективніший протипухлинний захист з усіх імунних клітин, що циркулюють, однак для їх роботи необхідний безпосередній контакт з пухлинною клітиною. Тромбоцитопенія, спричинена зменшенням кількості тромбоцитів при введенні антитромбоцитарної сироватки або порушенням продукції тромбоцитів, значно знижує експериментальне метастазування. Відомо, що вмісту тромбоцитів 30 % від контрольного рівня достатньо, щоб повною мірою спричинити метастазування в експерименті [28].

Результатом TCIPA є тромбоцитарне екранування пухлинної клітини, яке захищає її від NK. Крім фізичного екранування пухлинних клітин від NK, тромбоцити також знижують активність NK. Частково це відбувається за рахунок активації імунорецептора NKG2D на клітині NK при виділенні з тромбоцитів трансформувального фактора росту β (TGFβ). Більше того, пухлинні клітини експресують ті самі молекули адгезії та рецептори, що і тромбоцити, мімікруючи під клітини господаря, що захищає їх від клітин імунної системи. Крім впливу на клітини NK, TCIPA також уповільнює дозрівання дендритних клітин — основних антигенпрезентувальних клітин імунної системи шляхом вивільнення судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) з α-гранул тромбоцитів [39].

ЕКСТРАВАЗАЦІЯ ПУХЛИНИ

Якщо пухлинній клітині вдається потрапити у кровотік та уникнути імунологічної деструкції, то вона прикріпляється до віддаленого органа і починає процес екстравазації, колонізучи орган-мішень. Для початку процесу екстравазації пухлинній клітині необхідно прикріпитися до люмінального боку ЕК, що сприяє трансендотеліальній міграції. Медіатором цих процесів є рецептори адгезії на поверхні пухлинної та ендотеліальної клітин, які додатково посилюються тромбоцитами. Тромбоцити є сильними регуляторами судинної проникності, особливо при запальних процесах. Вони також перші взаємодіють із пухлинними клітинами в кровоносному руслі [27].

Тромбоцити виділяють з α-гранул фактори росту, такі як фактор росту тромбоцитів (Platelet-derived growth factor, PDGF), TGF), епідермальний фактор росту (EGF), інсуліноподібний фактор росту 1 (IGF-1), фактор росту ендотелію судин (VEGF), сфингозин 1-фосфат (S1P), і лізофосфатидинну кислоту (LPA), які впливають на васку-

лярну цілісність у мікросередовищі агрегатів пухлина — тромбоцити, прикріплених до ЕК. Тромбоцити виділяють $TGF\beta_1$, запускаючи в пухлинних клітинах сигнальний шлях TGFβ/SMAD. Мегакаріоцитарний/тромбоцитарний специфічний дефіцит TGFβ знижує експериментальне метастазування в легеневу тканину мишей. Прямий контакт тромбоцитів з пухлиною індукує в подальшому сигнальний шлях NF-kB. Разом сигнальні шляхи TGFβ/SMAD і NF-kB спричиняють епітеліально-мезенхімальну трансформацію та інвазивну здатність пухлини. S1P стимулює ЕК і є потужним інгібітором судинної проникності. LPA підвищує проникність мікроваскулярних ЕК головного мозку. Це дає підставу припустити, що зазначені α-гранулярні чинники можуть безпосередньо впливати на цілісність судин при екстравазації пухлинних клітин. До того ж, α-гранули містять матриксні металопротеїнази (MMPs), які також відіграють певну роль в інвазії пухлинних клітин, спричиняючи розпад позаклітинного матриксу та ремоделювання навколишніх тканин. Однак прямих доказів цих припущень немає [5, 19].

Крім α-гранул, тромбоцити також містять тверді гранули, до складу яких входять невеликі неорганічні молекули, такі як АТФ, АДФ і серотонін. Тромбоцити сприяють екстравазації пухлинних клітин, вивільняючи АТФ після активації пухлинними клітинами. У мишей з дефіцитом білка Munc13—4, не здатних секретувати тверді гранули, трансміграція пухлинних клітин була знижена. Можна припустити, що сигнальний шлях АТФ-P2Y2 важливий на ранніх стадіях екстравазації для відкриття міжклітинних з'єднань ЕК, тоді як сигнальний шлях $TGF\beta_1$/SMAD необхідний на пізніх стадіях для активізації епітеліально-мезенхімального переходу.

Ще однією важливою біоактивною молекулою є серотонін, здатний спричиняти вазоконстрикцію і вазодилатацію. Відомо, що пухлинні клітини, які циркулюють, можуть підвищувати рівень серотоніну в плазмі, а блокада серотонінових рецепторів зменшує рівень експериментального метастазування пухлини в печінку [26].

Цікавим фактом є те, що прометастатичний ефект тромбоцитів може мати органоспецифічний характер, оскільки в експерименті вони показали посилення метастазування меланоми в легені, але такого ефекту на метастази в печінку не спостерігали [4].

ПУХЛИННА КОЛОНІЗАЦІЯ ТА АНГІОГЕНЕЗ

У 1971 р. J. Folkman припустив, що розвиток пухлини залежить від ангіогенезу [13]. Збільшення метастатичних вогнищ також великою мірою залежить від формування нових кровоносних судин. Тромбоцити індукують проліферацію ЕК і формування каналів, а втрата тромбоцитів інгібує ангіогенезис на ранніх стадіях та знижує формування нових судин. Більше того, тромбоцити відіграють провідну роль у стабілізації сформованих судин. Гранули тромбоцитів містять багато різних проангіогенних чинників, з них найбільш значущими є VEGF, LPA, IGF, тромбоцитарний фактор росту (PDGF), ангіопоетин, матриксна металопротеїнкіназа (MMP-1,2,9), а також антиангіогенні чинники ($TGF\beta_1$, тромбоспондин-1, S1P, тромбоцитарний фактор-4, ангіостатин і тканинний інгібітор MMP), які можуть секретуватися залежно від стимулу. Важливим проангіогенним чинником є VEGF, який секретується із тромбоцитів після активації PAR-1 і стимулює ангіогенез у метастатичних вогнищах. Цікаво, що секреція VEGF підвищується після стимуляції тромбоцитів тромбіном у пацієнтів з раком грудей. VEGF також стимулює секрецію vWF з ЕК, таким чином підтримуючи адгезію тромбоцитів у метастатичних вогнищах. Активація PAR-4 призводить до секреції антиангіогеного фактора ендостатину [42]. Ці дані дають підставу припустити, що пухлинні клітини можуть використовувати тромбоцити, щоб локально регулювати ангіогенне середовище, але значення кожного із згаданих чинників у розвитку пухлинних метастазів не з'ясовано.

ГЕМОСТАТИЧНІ УСКЛАДНЕННЯ, ЗУМОВЛЕНІ ПУХЛИНОЮ

Тісний взаємозв'язок між пухлиною і тромбозом відомий ще з 1865 р., коли A. Trousseau вперше описав процеси тромбозу в пацієнтів із ще не діагностованим раком. Пухлина спричиняє активацію процесів коагуляції в кровотоку, що призводить до стану гіперкоагуляції або хронічної дисемінованої інтраваскулярної коагуляції (disseminated intravascular coagulation (DIC)). Зміна хоча б в одному з лабораторних показників коагуляції є нормою у таких пацієнтів, навіть без явних тромботичних та/або геморагічних виявів. Результати лабораторних тестів свідчать, що процеси утворення фібрину та фібринолізу відбуваються паралельно з адгезією пухлини, посилюючись за наявності метастазів [8].

Хоча A. Trousseau повідомив про венозні тромбози у пацієнтів з раком шлунка, нині термін «симптом Trousseau» використовують для позначення будь-якого типу тромбоемболічних маніфестацій за наявності пухлини (артеріальні й венозні тромбози, небактеріальні тромботичні ендокардити, тромботичні мікроангіопатії і веноокклюзивні захворювання). Глибокий венозний тромбоз у венозних ложах нижніх кінцівок — найпоширеніший вияв, який супроводжується глибоким венозним тромбозом верхніх кінцівок, легеневим емболізмом, тромбозом церебральних синусів і поверхневим тромбофлебітом. Згідно з даними великих ретроспективних та проспективних досліджень популяцій, загальна кількість венозних тромбоемболій становить від 0,6 до 7,8 % [21].

Такий широкий діапазон пояснюється наявністю багатьох чинників, які пов'язані із загальним ризиком тромбоемболічних ускладнень, серед них провідне місце посідає тип пухлини.

Дані про артеріальний тромбоемболізм більш обмежені, кількість випадків у пухлинних пацієнтів варіюється від 2 до 5 % [35].

У пацієнтів з мієлопроліферативною пухлиною великі тромбози виникають у 10—40 % випадків, з них майже 70 % — як результат артеріальних тромбоемболій (ішемічні атаки, гострий міокардіальний інфаркт та периферична артеріальна оклюзія) [24].

Іншими тромботичними маніфестаціями, які трапляються в онкологічних хворих, є тромботична мікроангіопатія (ТМА) і вено-оклюзивні захворювання (VOD). ТМА — гетерогенна група захворювань, які характеризуються мікроангіопатичною гемолітичною анемією, периферичною тромбоцитопенією та органною недостатністю різного ступеня тяжкості. ТМА в онкологічних хворих — рідкісне, але тяжке ускладнення з несприятливим прогнозом. Може маніфестувати як тромботична тромбоцитопенічна пурпура та гемолітичний уремічний синдром. Діагностована ТМА має насторожити клініцистів, оскільки вона може бути ознакою ракового захворювання у пацієнта [24].

VOD — серйозне захворювання печінки, яке характеризується обструкцією малих внутрішньопечінкових центральних венул мікротромбами та відкладанням фібрину. Найтяжча форма VOD (0—77 % випадків) асоціюється з рівнем смертності до 85 % унаслідок мультиорганної недостатності [3].

У пацієнтів з пухлиною патологічна кровотеча є поширеною причиною смертності, частота якої досягає 10 % (у пацієнтів зі щільними пухлинами) і більше (за наявності гематологічних злоякісних захворювань) [33].

БІОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ КОАГУЛЯЦІЙНИХ ЗМІН

Пухлинні клітини можуть активізувати систему гемостазу через виділення прокоагуляційних ліпідів і протеїнів, запальних цитокінів та мікрочасток, а також при адгезії до васкулярної клітини-носія. Найбільш значущим пухлинним прокоагулянтом 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 останньої є руйнування гепаран сульфату в екстрацелюлярному матриксі, що спричиняє інвазію і метастазування пухлини. Гепараназа може взаємодіяти з інгібітором TF (TF pathway inhibitor (TFPI)), що призводить до збільшення активності TF на поверхні клітин [30].

Ще одним пухлинним прокоагулянтом є раковий прокоагулянт (cancer procoagulant (CP)), який на відміну від TF безпосередньо активує фактор X незалежно від фактора VII. CP виявлено в різних пухлинних, а також в амніон-хоріонних клітинах. У нормально диференційованих клітинах його немає. У пацієнтів з гострою промієлоцитною лейкемією CP виділяли в гострий період захворювання. При досягненні ремісії він зникав [9].

TF може активно виділятися пухлинними клітинами в мембран-асоційованій формі у вигляді TF-вмісних мікрочасток (MP). MP — це везикули плазматичної мембрани 0,1—1,0 мкм у діаметрі, які продукуються при активній везикуляції будь-якого типу клітин. Фосфоліпіди, які виділяються на поверхні MP, є аніонною фосфоліпідною поверхнею, придатною для утворення теназних і протромбіназних комплексів, що ініціює коагуляційний каскад і може супроводжуватися виділенням TF. Підвищений рівень MP виявляють як у пацієнтів зі щільними пухлинами, так і при гематологічних злоякісних новоутвореннях [22]. Патогенетичну роль MP в асоційованих з раком тромбозах продемонстровано при синдромі дисемінованої інтраваскулярної коагуляції (DIC) у мишей після внутрішньовенної ін'єкції великої кількості TF-позитивних MP пухлинного походження [10].

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 та аннексин II (ко-рецептор плазміногену і тканинного активатора плазміногену tPA) [9].

Крім того, пухлинні клітини виділяють велику кількість розчинних прозапальних (фактор некрозу пухлини α (ФНП-α) та інтерлейкін-1β (ІЛ-1β)) і проангіогенних (VEGF, основний фактор росту фібробластів (bFGF)) чинників, що може стимулювати протромботичні властивості васкулярних клітин. В ЕК ці молекули індукують виділення TF, стимулюючи утворення PAI-1 [9]. Здатність пухлинних клітин прилипати до судинного ендотелію сприяє утворенню кров'яного зсідка і формуванню тромбу.

В останнє десятиліття молекулярні дослідження експериментальних моделей людського раку продемонстрували, що онкоген і генно-опосередкована неопластична трансформація активації зсідання — це невід'ємна складова неопластичної трансформації [16].

Активація коагуляції і ріст пухлини тісно пов'язані. Збільшення пухлини та її агресивність значною мірою залежать від здатності ракових клітин спричиняти неоангіогенез і метастазування. Внесок у ці процеси різних компонентів системи гемостазу, включаючи тромбін, TF, фактор VIIa, фактор Xa, фібриноген і васкулярні клітини, доведено на пухлинних моделях *in vivo* та *in vitro*. Описані механізми включають як процеси, пов'язані з утворенням кров'яного зсідка, що призводить до активації тромбоцитів і відкладання фібрину, так і процеси, не пов'язані з цим [9].

Механізми, пов'язані з утворенням зсідка. Відкладання фібрину в пухлинних судинних сплетен-

нях посилює ангіогенез, тому є основою для утворення нових судин. Більше того, матрикс фібрину зв'язує та ізолює фактори росту (VEGF, bFGF та IGF-1), захищаючи їх від протеолітичної деградації [9]. Фібриновий матрикс у пухлинній тканині перебуває в постійній динаміці, депонуючись та розчиняючись фібринолітичною системою для заміщення сполучною тканиною. Дефіцит фібриногену не порушує ріст та ангіогенез основної пухлини, але значно знижує метастазування, можливо, зменшуючи адгезію і стабільність метастатичних клітин. Тромбоцити можуть бути активовані незалежно від тромбіну, шляхом виділення проагрегувальних субстанцій та механізмів адгезії [31].

Механізми, не пов'язані з утворенням зсідка. Тромбін і TF беруть участь у прогресуванні пухлинного процесу через механізми, пов'язані з утворенням зсідка, оскільки взаємодіють зі специфічними рецепторами, що належать до сімейства рецепторів, які активуються протеазами (PAR), виділеними раковими клітинами, тромбоцитами, ЕК, клітинами гладенької мускулатури судин і макрофагами [9]. Розщеплена тромбіном PAR-1 стимулює фактори росту, хемокіни, а також виділення позаклітинних протеїнів, які сприяють проліферації і міграції пухлинних клітин. В ЕК тромбін регулює багато факторів, пов'язаних з ангіогенезом (VEGF, bFGF, VEGFR і MMP-2). Тромбін і фактор Ха можуть стимулювати ген Cyr61, що запускає ангіогенез, а також виділення фактора росту сполучної тканини (CTGF) [34]. В результаті активовані тромбіном тромбоцити стають проангіогенними після виділення проангіогенних факторів зі своїх гранул, зокрема VEGF і PDGF [34]. Прометастатичну активність тромбіну доведено в експериментальних моделях, в яких кількість легеневих метастазів значно збільшилася після введення тромбіну [9]. Приєднання фактора VII до TF запускає сигнальний каскад, який спричиняє збільшення адгезії і міграції ендотеліальних клітин. Крім того, TF у комплексі з факторами VIIa і Ха активує один або кілька PARS, зокрема ендотеліальний PAR-2, щоб підтримати ангіогенез *in vivo* [40].

Лейкоцити також залучені до процесів росту пухлини і метастазування. Нейтрофіли, активовані в пухлинному мікросередовищі місцевими медіаторами запалення (ФНП-α), можуть приєднуватися до пухлинних клітин і посилювати їх міграцію крізь ендотеліальний бар'єр. Виділяючи MMP, вони можуть гідролізувати компоненти матриксу ЕК і сприяти рухливості пухлини [23].

ПРОФІЛАКТИКА І ЛІКУВАННЯ

Існує потреба у дослідженні нових властивостей добре вивчених і доступних препаратів супроводу (додаткові методи лікування онкологічного захворювання), завдяки яким можна поліпшити якість медичної допомоги, яку надають пацієнтам з онкологічними захворюваннями, а отже, і якість їх життя.

Одним із таких препаратів є беміпарин — низькомолекулярний гепарин II покоління, який тривалий час застосовують для профілактики тромбоемболії у пацієнтів з високим ризиком, зокрема у пацієнтів з онкологічними захворюваннями. Нещодавно стало відомо про наявність у беміпарину унікальних додаткових властивостей, не пов'язаних з його основним механізмом дії, які можна використовувати для уповільнення прогресування злоякісних захворювань. Крім того, у дослідженні CANBESURE (CANcerBEmiparin and SURgery Evaluton) показано доцільність застосування подовженої тромбопрофілактики беміпарином у пацієнтів з онкологічними захворюваннями після хірургічного лікування [20].

Професор А. Вігнолі та співавт. провели дослідження, в якому виявили здатність беміпарину інгібувати пухлинний ангіогенез. Відомо, що зв'язок між раком і тромбозом є взаємним. З одного боку, хворі на рак мають вищий ризик розвитку епізодів венозного тромбоемболізму; з іншого — активація коагуляції може впливати на ріст і метастатичну дисемінацію пухлини.

Пухлинні клітини активують коагуляцію як прямим шляхом, так і опосередковано. Прямі механізми впливають на активність TF і CPA, виявлені в клітинах різних пухлин, при цьому TF активує фактор X через комплекс TF-фактор VIIa, а CPA безпосередньо впливає на фактор X. Непрямі механізми активації є результатом взаємодії пухлинної клітини з моноцитами, тромбоцитами та ендотелієм за допомогою молекул адгезії, ІЛ-1, VEGF і ФНП, які продукуються пухлиною. Своєю чергою, активовані тромбоцити, моноцити та ендотеліоцити можуть запускати коагуляційний каскад шляхом вивільнення TF або активації тромбоцитів [7, 11].

VEGF належить до сімейства структурно близьких 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) та активує їх. Ці рецептори експресуються клітинами ендотелію стінки кровоносних судин. Зв'язування VEGF з цими рецепторами запускає сигнальний каскад, який стимулює ріст ЕК судини, їх виживання і проліферацію. Ендотеліальні клітини беруть участь у таких процесах, як вазоконстрикція і вазодилатація, презентація антигенів, а також є важливим елементом усіх типів кровоносних судин. Таким чином, стимулюючи ЕК, VEGF відіграє центральну роль у процесі ангіогенезу [11].

Інгібування VEGF — це новаторський підхід до протипухлинної терапії, який може сприяти зворотному розвитку незрілих кровоносних судин, типових для пухлин; знизити проникність судин, а

отже, внутрішньопухлинний тиск; зменшити ймовірність метастазування пухлини [11].

Проведено дослідження на трьох лініях пухлин людини: H69 (недрібноклітинний рак легенів), MDA.MB.231 (рак молочної залози) і NB4 (гострий промієлобластний лейкоз). Людські мікросудинні ендотеліоцити протягом доби культивували з пухлинними клітинами або очищеними факторами ангіогенезу (VEGF, bFGF) за наявності або відсутності різних концентрацій (від 0,01 до 10 МО/мл) беміпарину, RO-14 і нефракціонованого гепарину [25]. Результати дослідження свідчать про те, що всі пухлинні лінії достовірно ($p < 0,05$) збільшували ангіогенез (у середньому — на 42—68 % порівняно з контрольним середовищем). Цей ефект дозозалежно пригнічувався беміпарином, RO-14 і меншою мірою — нефракціонованим гепарином. Усі гепарини аналогічним чином інгібували формування судин, індуковане VEGF і bFGF. Отже, беміпарин і RO-14 ефективно протидіють як проангіогенним стимулам пухлинних клітин, так і звичайним проангіогенним чинникам мікросудинного ендотелію [25].

ВИСНОВКИ

З того часу, як S. Gasic та співавт. отримали перше експериментальне підтвердження того, що зниження рівня тромбоцитів зменшує дисемінацію пухлини, знання механізмів участі тромбоцитів у раковому метастазуванні значно розширилися [7]. Проте багато аспектів залишаються невивченими. На думку багатьох дослідників, найбільш значущою властивістю тромбоцитів є їх здатність екранувати пухлинні клітини від імунної відповіді. Отже, запобігання спричиненій пухлинними клітинами агрегації тромбоцитів має зробити пухлинні клітини, що циркулюють, доступними для імунної системи [41].

Функціональна регуляція GPIIb/IIIa є загальним шляхом для активації тромбоцитів усіма основними агоністами, а отже, мішенню для запобігання TCIPA. Кілька блокаторів GPIIb/IIIa антагоністів мають клінічне застосування. Їх позитивні ефекти продемонстровано при експериментальному метастазуванні. Відносно нещодавно кілька клінічних досліджень виявили потенційний антиметастатичний ефект ацетилсаліцилової кислоти — антитромбоцитарного препарату золотого стандарту, який пригнічує синтез TxA_2 і таким чином блокує один зі шляхів активації тромбоцитів [38].

Альтернативною стратегією щодо зниження дисемінації пухлини може бути використання нефракціонованого або низькомолекулярного гепарину. Не антикоагуляційні властивості гепарину, а його здатність пригнічувати взаємодію P-селектину, запобігаючи взаємодії пухлина—тромбоцити і пухлина—ЕК, є основним механізмом запобігання метастазуванню. Недавні дослідження виявили, що антикоагуляційний ефект гепарину знижує секрецію ангіогенних чинників з тромбоцитів [1].

Проведений аналіз літератури свідчить, що тромбоцити задіяні практично на всіх етапах гематогенного метастазування пухлини. Через різноманітність характеристик пухлинних клітин та їх адаптивного потенціалу не можна провести дослідження, яке б дало відповіді на всі питання щодо взаємодії пухлинних клітин з тромбоцитами. Краще розуміння механізмів цієї взаємодії сприятиме розширенню спектра терапевтичних стратегій лікування пацієнтів, які страждають на онкологічні захворювання.

Література

1. Barinelli E. M. Anticoagulation inhibits tumor cell-mediated release of platelet angiogenic proteins and diminishes platelet angiogenic response // Blood. — 2014. — Vol. 123. — P. 101—112.
2. Blake-Haskins J. A., Lechleider R. J., Kreitman R. J. Thrombotic microangiopathy with targeted cancer agents // Clin. Cancer Res. — 2011. — Vol. 17. — P. 5858—5866.
3. Coppell J. A., Richardson P. G., Soiffer R. et al. Hepatic veno-occlusive disease following stem cell transplantation: incidence, clinical course, and outcome // Biol. Blood Marrow Transplant. — 2010. — Vol. 16. — P. 157—168.
4. Coupland L. A., Chong B. H., Parish C. R. Platelets and P-selectin control tumor cell metastasis in an organ-specific manner and independently of NK cells // Canser Res. — 2012. — Vol. 72. — P. 4662—4671.
5. Deppermann C., Cherpokova D., Nurden P. et al. Gray platelet syndrome and defective thrombo-inflammation in Nbeal2-deficient mice // Clin. Invest. — 2013. — Vol. 123. — P. 3331—3342.
6. 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. — Vol. 29. — P. 131—137.
7. Falanga A., Marchetti M., Vignoli A. Coagulation and cancer: biological and clinical aspects // J. Thromb. Haemost. — 2013. — N 11. — P. 223—233.
8. Falanga A., Marchetti M, Vignoli A. et al. Clotting mechanisms and cancer: implications in thrombus formation and tumor progression // Clin. Adv. Hematol. Oncol. — 2003. — N 1. — P. 673—678.
9. Falanga A., Panova-Noeva M., Russo L. Procoagulant mechanisms in tumour cells // Best Pract. Res. Clin. Haematol. — 2009. — Vol. 22. — P. 49—60.
10. Falanga A., Tartari C. J., Marchetti M. Microparticles in tumor progression // Thromb. Res. — 2012. — Vol. 129. — P. 132—136.
11. Fearnley G. W., Bruns A. F., Wheatcroft S. B. et al. VEGF-A isoform-specific regulation of calcium ion flux, transcriptional activation and endothelial cell migration // Biol Open. — 2015.
12. Fidler I. J. Metastasis: guantitative analysis of distribution and fate of tumor embolilabeled with 125 I — 5-iodo-2'-deoxyuridine // J. Natl. Cancer Inst. — 1970. — Vol. 45. — P. 773—782.
13. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications // N. Engl. J. Med. — 1971. — Vol. 285. — P. 1182—1186.
14. Frauke M., Hagedorn I., Pleines I. et al. CLEC-2 is an essential platelet-activating receptor in hemostasis and thrombosisIna // Blood. — 2009. — Vol. 114. — P. 3464—3472.

15. Gao J., Zhang H. Y., Xia Y. F. Increased platelet count is an indicator of metastasis in patients with nasopharyngeal carcinoma // Tumour Biol. — 2013. — N 34. — P. 39—45.
16. Garnier D., Magnus N., D'Asti E. et al. Genetic pathways linking hemostasis and cancer // Thromb. Res. — 2012. — Vol. 129. — P. 22—29.
17. Gasic G. J., Gasic T. B., Stewart C. C. Antimetastatic effect associated with platelet reduction // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1968. — Vol. 61. — P. 46—52.
18. Joyce J. A., Pollard J. W. icroenviromental regulation of metastasis // Nat. Rev. Cancer. — 2009. — N 9. — P. 239—252.
19. Kahr W. H., Lo R. W., Li L. et al. Abnormal megakaryocyte development and platelet function in Nbeal2-/-mice // Blood. — 2013. — Vol. 122. — P. 3349—3358.
20. Kakkar V. V., Balibrea J. L., Martínez-González J.Extended prophylaxis with bemiparin for the prevention of venous thromboembolism after abdominal or pelvic surgery for cancer: the CANBESURE randomized study // J. Thromb. Haemost. — 2010. — N 8. — P. 1223—1229.
21. Khorana A. A., Connolly G. C. Assessing risk of venous thromboembolism in the patient with cancer // J. Clin. Oncol. — 2009. — Vol. 27. — P. 4839—4847.
22. Kim H. K., Song K. S., Park Y. S. 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. — Vol. 39. — P. 184—191.
23. Klink M., Jastrzembska K., Nowak M. et al. Ovarian cancer cells modulate human blood neutrophils response to activation in vitro // Scand. J. Immunol. — 2008. — Vol. 68 — P. 328—336.
24. Landolfi R., Di Gennaro L., Falanga A. Thrombosis in myeloproliferative disorders: pathogenetic facts and speculation // Leukemia. — 2008. — Vol. 22 — P. 2020—2028.
25. Marchetti M., Russo L. et al. LMWH bemiparin and ULMWH RO-14 reduce the endothelial angiogenic features elicited by leukemia, lung cancer, or breast cancer cells // Cancer Investigation. — 2011. — Vol. 29. — P. 153—161.
26. Medina V. A., Rivera E. S. Histamine receptors and cancer pharmacology // Pharmacol. — 2010. — Vol. 161. — P. 755—767.
27. Miles F. L., Pruitt F. L., van Golen K. L. et al. Stepping out of the flow: capillary extravasation in cancer metastasis // Clin. Exp. Metastasis. — 2008. — Vol. 25. — P. 305—324.
28. Morowski M., Vogtle T., Kraft P. et al. Only severe thrombocytopenia result in bleeding and defective thrombus formation in mice // Blood. — 2013. — Vol. 121. — P. 4938—4947.
29. Muller F., Mutch N., Schenk W. et al. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo // Cell. — 2009. — Vol. 139. — P. 1143—1156.
30. 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. — Vol. 99. — P. 133—141.
31. Palumbo J. S., Potter J. M., Kaplan L. S. et al. Spontaneous hematogenous and lymphatic metastasis, but not primary tumor growth or angiogenesis, is diminished in fibrinogen-deficient mice // Cancer Res. — 2002. — Vol. 62. — P. 6966—6972.
32. Palumbo J. S., Talmage K. E., Massari J. V. et al. Platelets and fibrinogen increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells // Blood. — 2005. — Vol. 105. — P. 178—185.
33. Reeves B. N., Key N. S. Acquired hemophilia in malignancy // Thromb. Res. — 2012. — Vol. 129. — P. 66—68.
34. Ruf W. Tissue factor and PAR signaling in tumor progression // Thromb. Res. — 2007. — Vol. 120. — P. 7—12.
35. Sanon S., Lenihan D. J., Mouhayar E. Peripheral arterial ischemic events in cancer patients // Vasc. Med. — 2011. — Vol. 16. — P. 119—130.
36. Stegner D., Nieswandt B. Platelet receptor signaling in thrombus formation // J. Mol. Med. (Berl.). — 2011. — Vol. 89. — P. 109—121.
37. Suzuki-Inoue K., Inoue O., Ozaki Y. Novel platelet activation receptor CLEC-2. — P. from discovery to prospects // J. Thromb. Haemost. — 2011. — N 1. — P. 44—45.
38. Thug M. J. The role of aspirin in cancer prevention // Nat. Rev. Clin. Oncol. — 2012. — N 9. — P. 259—267.
39. Timar J., Tovari J., Raso E. et al. Platelet-mimicry of cancer cells: epiphenomenon with clinical significance // Oncol. — 2005. — Vol. 69. — P. 185—201.
40. Uusitalo-Jarvinen H., Kurokawa T., Mueller B. M. et al. Role of protease activated receptor 1 and 2 signaling in hypoxia-induced angiogenesis // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2007. — Vol. 27. — P. 1456—1462.
41. Viver E. What is natural in natural killer cells? // Immunol. Lett. — 2006. — Vol. 107. — P. 1—7.
42. Zaslavsky A., Baek K. H., Lynch R. C. et al. Platelet-derived thrombospondin-1 is a critical negative regulator and potential biomarker of angiogenesis // Blood. — 2010. — Vol. 115. — P. 4605—4613.

В. И. Десятерик [1], Е. С. Шевченко [1], А. В. Медведков [2]
[1] ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»
[2] КУ «Криворожский онкологический диспансер»

ГЕМОСТАТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕМАТОГЕННОГО МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ОПУХОЛИ

В обзоре изложены актуальные вопросы метастазирования, как основной причины смерти у больных раковой патологией. Недостаточное понимание механизмов данного процесса связано с разнообразием характеристик опухолевых клеток. Рассмотрены механизмы гематогенного метастазирования и исследовано привлечение тромбоцитов ко всем этапам гематогенного метастазирования опухоли. Опираясь на понимание механизмов гемостатических взаимодействий в контексте расширения спектра терапевтических стратегий в лечении пациентов с онкопатологией (снижение возможности диссеминации опухоли), отмечена роль использования антитромбоцитарных препаратов и нефракционированных или низкомолекулярных гепаринов. Приведены современные исследования относительно свойства гепарина предотвращать взаимодействия опухоль — тромбоциты и опухоль — эндотелиальные клетки, что является основным механизмом предотвращения метастазирования. Очерчены пути дальнейших исследований новых свойств хорошо изученных и доступных препаратов сопровождения, благодаря которым можно улучшить качество медицинской помощи, предоставляемой пациентам с онкопатологией, а следовательно, и качество их жизни.

Ключевые слова: рак, метастазирование, гепарин.

V. I. Desyaterik [1], E. S. Shevchenko [1], O. V. Medvedkov [2]
[1] SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine»
[2] CI «Kryvyi Rig Oncology Centre»

HEMOSTATIC MECHANISMS OF HEMATOGENOUS TUMOR METASTASIS

In this review the current issues of metastasis as the main cause of death in patients with cancer pathology is explicated. The lack of the mechanisms understanding in this process is associated with a variety of tumour cells characteristics. The mechanisms of haematogenous metastases have been revealed and the platelets involvement during all stages of haematogenous metastasis has been studied. The role of the antiplatelet agents and unfractionated or low molecular weight heparins is marked according to the haemostatic interactions mechanisms understanding in the context of therapeutic strategies range expanding in the oncologic patients (tumour dissemination reduce). The current research on the heparin properties to prevent the tumour — platelet and tumour-endothelial cells interaction, which are the main mechanism for metastasis prevention. The way for further research of new properties and well-studied drugs available support is outlined, through that, the health care quality provided to oncologic patients, and consequently the quality of their lives should be improved.

Key words: cancer, metastasis, heparin.