

BEATA OLAS

*Katedra Biochemii Ogólnej, Uniwersytet Łódzki
Banacha 12/16, 90-237 Łódź,
E-mail: biochogl@biol.lodz.pl*

ZABURZENIA HEMOSTAZY W NOWOTWORACH

WSTĘP

Zaburzenia procesu hemostazy, który obejmuje zespół mechanizmów utrzymujących stan płynny krwi krążącej w naczyniach krwionośnych oraz powodujących zahamowanie krwawienia po uszkodzeniu ściany naczynia krwionośnego, występują często podczas chorób nowotworowych. Nieprawidłowy przebieg hemostazy u ludzi cierpiących na nowotwory może się dodatkowo nasilać pod wpływem różnych form leczenia onkologicznego (chirurgia, chemio-, radio- i hormonoterapia). Głównymi elementami hemostazy zapewniającymi prawidłowy jej przebieg są: ściana naczyń krwionośnych, wyspecjalizowane komórki, w tym płytki krwi oraz układy krzepnięcia krwi i fibrynolizy. Uszkodzona ściana krwionośna jest źródłem czynnika tkankowego (TF), który inicjuje aktywność krzepnięcia krwi. W następstwie dochodzi

do umocnienia czopu płytkowego przez złogi fibryny. Istotę krzepnięcia krwi stanowi przejście fibrynogenu w fibrynę przy udziale trombiny — głównego enzymu krzepnięcia krwi aktywowanego między innymi przez czynnik krzepnięcia Xa. Czynniki Xa może z kolei powstawać w układzie zewnątrz- lub wewnątrzpochodnym. Ważną rolę spełnia również układ fibrynolizy, w którym plazmina powstająca w wyniku działania aktywatorów na plazminogen, zabezpiecza system naczyniowy przed zakrzepami (CIERNIEWSKI i współaut. 1994, KOPEĆ 1996).

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie niektórych danych dotyczących patologii układu hemostazy towarzyszącej chorobom nowotworowym, ze szczególnym uwzględnieniem upośledzenia funkcjonowania układu krzepnięcia krwi i krwinek płytkowych.

NIEPRAWIDŁOWOŚCI W FUNKCJONOWANIU UKŁADU KRZEPNIĘCIA I FIBRYNOLIZY W NOWOTWORACH

Prawie u 90% wszystkich pacjentów chorych na raka występują nieprawidłowości w procesie hemostazy, między innymi w formie nadpłytkowości, której towarzyszą zaburzenia czasu krwawienia, krzepnięcia oraz zmiany poziomu zawartych w osoczu czynników krzepnięcia (GOAD i GRALNICK 1996). Najczęściej dochodzi do zwiększania w osoczu poziomu fibryno-

geny, czynnika krzepnięcia V, VIII, IX, XI i czynnika von Willebranda. W przebiegu nowotworów złośliwych obserwuje się również zmniejszenie poziomu antytrombiny III, białek C i S oraz podwyższoną aktywność inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1). Może ponadto dochodzić do wzrostu poziomu produktów degradacji fibrynogenu i fibryny. Najważniejszą

COX-1 (PGHS-1) — cyklooksygenaza (forma konstytutywna enzymu); COX-2 (PGHS-2) — cyklooksygenaza (forma indukowalna enzymu); CP — nowotworowy prokoagulant; DIC — zespół rozsianego krzepnięcia śródnaczyniowego; 12-HETE — kwas 12-hydroksyeikozatetraenowy; 13-HODE — kwas 13-hydroksyoktadekaenowy; PAI-1 — inhibitor aktywatora plazminogenu; PGG₂ i PGH₂ — nadtlarki prostaglandyn TAF — czynnik angiogenezy; TF — czynnik tkankowy; TXA₂ — tromboksan A₂

rolę w aktywacji układu krzepnięcia u chorych na nowotwory odgrywają prokoagulanty komórek nowotworowych. Istotną funkcję spełniają także monocyty i makrofagi będące źródłem czynnika tkankowego, wspomagającego tworzenie kompleksu protrombinazy i dostarczające substancji aktywujących czynnik X. Z komórek nowotworowych mogą być uwalniane cytokiny (np. interleukina-1 i czynnik martwicy nowotworu) zwiększające syntezę i ekspresję czynnika tkankowego prowadząc do aktywacji zewnątrzpo pochodnego toru krzepnięcia (GOAD i GRALNICK 1996, KOPEĆ 1996). Stwierdzono, że komórki czerniaka oraz raka płuc posiadają czynnik VII, czynnik tkankowy i trombinę (COSTANTINI i ZACHARSKI 1993, HEIMOLLER i współaut. 1996). Trombina przy udziale receptora zbudowanego z siedmiu transbłonowych domen należącego do rodziny serpentyn (NIERODZIK i współaut. 1996) po sekrecji z tych komórek jest zdolna do dodatkowej ich aktywacji (WOJTUKIEWICZ i współaut. 1995). Trombina między innymi stymuluje przemianę polifosfoinozydów, ekspresję czynnika tkankowego czy protoonkogenu *c-myc* (COSTANTINI i ZACHARSKI 1993). Ponadto trombina wzmacnia adhezję i migrację ludzkich komórek gruczolakoraka przez wzrost ekspresji integryn z podjednostką β_3 obecnych na powierzchni komórek nowotworowych (CHIANG i współaut. 1996). Do aktywacji protrombiny w trombinę w obecności czynnika Va niezależnie od czynnika X są zdolne ludzkie komórki raka płuc (SEITZ i współaut. 1993). Trombina może także modulować aktywność fibrynolityczną osocza. W stężeniu fizjologicznym stymuluje uwalnianie z komórek wątrobiaka inhibitora aktywatora plazminogenu i tkankowego aktywatora plazminogenu. Wzrost poziomu krążącego PAI-1 w osoczu pacjentów może wynikać ze stymulacji ekspresji PAI-1 w ko-

mórkach wątrobiaka przez czynniki wzrostowe wydzielane przez płytki krwi (m. in. naskórkowy czynnik wzrostu i transformujący czynnik wzrostu).

Jako pierwszy O'MARA (1958) stwierdził możliwość powstawania złogów fibryny w litych nowotworach. Opłaszczenie guza warstwą fibryny stanowić może barierę zabezpieczającą przed działaniem komórek cytostatycznych. Z drugiej strony złogi fibryny w układzie naczyniowym mogą stanowić zrab dla formowania się przerzutów. LAKI i YANCEY (1968) wykazali, że do wytwarzania fibryny z fibrynogenu może dochodzić przy udziale komórek nowotworowych, na przykład czerniaka złośliwego, komórek raka płuc i komórek raka nerki; jednak dokładny mechanizm tego zjawiska nie jest znany.

Za nadkrzepliwość w chorobach nowotworowych jest odpowiedzialny również nowotworowy prokoagulant (CP), który jest proteinazą cysteinową o masie cząsteczkowej 68 kDa. Jego obecność stwierdzono w ludzkich i zwierzęcych komórkach nowotworowych i we krwi ludzi cierpiących na nowotwory. Nie występuje on natomiast we krwi osób zdrowych i tkankach prawidłowych (z wyjątkiem kosmówki i owodni łożyska ludzkiego) (WOJTUKIEWICZ 1997). CP aktywuje bezpośrednio czynnik X układu krzepnięcia krwi niezależnie od obecności fosolipidów, czynnika VII i VIII (AMIRKHOSRAVI i współaut. 1996, GOAD i GRALNICK 1996). Prokoagulacyjna aktywność niektórych nowotworów może również wynikać z aktywacji niektórych czynników układu krzepnięcia na przykład II, VII, IX oraz X (BHATTI i współaut. 1996). Stwierdzono ponadto, że śluz gruczolakoraków wpływa na nieproteolityczną aktywację krzepnięcia krwi. Za to przypuszczalnie odpowiedzialne są reszty kwasu sjałowego w śluzie (GORDON 1992).

PATOLOGIE HEMOSTAZY A TERAPIA ANTYNOWOTWOROWA

Liczne procedury terapeutyczne stosowane w leczeniu chorób nowotworowych również mogą być źródłem pojawienia się patologii układu hemostazy. Chemioterapia, radioterapia i hormonoterapia zwiększają ryzyko zakrzepicy. Spowodowane jest to między innymi obniżeniem poziomu naturalnych antykoagulantów, efektu toksycznego na komórki śródbłonka i sekrecji prokoagulantów z komórek nowotworowych. Zespół rozsianego krzepnięcia śródnaczyniowego (DIC) u chorych na nowotwory pojawia się także ze zwiększoną częstością, gdy są stosowane różne formy leczenia onkologicznego (HOLM i współaut. 1996, VAN DER WALL i

współaut. 1995, WOJTUKIEWICZ 1997). Najbardziej częstym i najpoważniejszym niekorzystnym następstwem chemioterapii jest granulocytopenia i małopłytkowość. Obniżenie ilości neutrofilów oraz ograniczenie ich funkcji może prowadzić na przykład do posocznicy i do zwiększenia częstości infekcji. Leczeniu wieloma cytostatykami często towarzyszy niedokrwistość (zespoły mielodysplastyczne, ostre białaczki, niedokrwistość aplastyczna). Niedokrwistość może być wywoływana przez wiele czynników, między innymi krwawienia, hemolizę oraz niskie stężenie erytropoetyny w surowicy (HOKOM i współaut. 1995, ONAT i współaut. 1993,

ROBAK 1994). Niektóre z leków cytostatycznych: mitomycyna (KOPEĆ 1996) czy cisplatyna (OLAS i WACHOWICZ 1997) hamują aktywację płytek krwi. Może to stać się przyczyną zaburzeń w

procesie krzepnięcia, między innymi w formie krwotoków na skutek ograniczenia tworzenia agregatów płytkowych i uwalniania związków oddziałujących na naczynia krwionośne.

ROLA PŁYTEK KRWI W NOWOTWORACH

Płytki krwi są najmniejszymi elementami morfotycznymi krwi (średnica 2–4 μm), pochodzącymi z fragmentacji olbrzymich komórek szpiku kostnego — megakariocytów. Płytką krwi ma kształt dysku; charakteryzuje się obecnością licznych, centralnie zlokalizowanych α -ziarnistości, osmofilnych ziarnistości o dużej gęstości elektronowej oraz lizosomów. W specyficznych dla płytki ziarnistościach są zmagazynowane substancje uwalniane w procesie sekrecji, uczestniczące w rozwoju nowotworu, co ilustruje tabela 1.

Rola płytek krwi nie ogranicza się zatem tylko do uczestnictwa w procesie hemostazy. Płytki biorą udział w tworzeniu zakrzepów, uczestniczą w procesach zapalnych i w procesie metastazy. Krwinki płytkowe szczególnie aktywnie uczestniczą w transporcie, zatrzymywaniu i przedostawaniu się komórek nowotworowych do tkanki objętej przerzutem oraz ich wroście w nowym miejscu (GASIC i współaut. 1968, GASIC 1984, GÓRSKI 1992, HONN i współaut. 1992, WACHOWICZ i OLAS 1994). Podstawowymi etapami kaskady przerzutowej są:

- oddzielenie się komórek nowotworowych od pierwotnego nowotworu,
- przedostanie się komórek nowotworowych do mikrokrążenia lub naczyń limfatycznych,
- transport komórek nowotworowych w krwiobiegu,
- interakcja komórek nowotworowych z komórkami krwi, w tym z krwinkami płytkowymi,
- przyleganie do komórek śródbłonna i warstwy podśródbłonkowej naczynia krwionośnego — zatrzymanie komórek nowotworowych,
- przedostanie się komórek nowotworowych do nowej tkanki,
- wzrost komórek nowotworowych w nowym miejscu — tworzenie przerzutu nowotworu.

Aktywacja płytek krwi odgrywa ważną rolę w procesie metastazy. Wiele komórek nowotworowych ma zdolność aktywowania płytek krwi gospodarza, ale mechanizmy tego procesu nie są całkowicie jeszcze poznane. Aktywacja płytek wywołana przez komórki nowotworowe może zachodzić dzięki bezpośredniemu kontaktowi płytek z komórkami nowotworowymi (BHATTI i

współaut. 1996, GASIC 1984), wydzielaniu przez nie ADP, tromboksanu A_2 (TXA₂) (POGGI i współaut. 1995), czy też proteaz, w tym także trombiny (GOAD i GRALNICK 1996, WOJTUKIEWICZ i współaut. 1995) oraz dzięki zmianom w metabolizmie kwasu arachidonowego płytek na drodze zależnej głównie od lipoksygenazy. W chorobach nowotworowych zaobserwowano generowanie trombiny przy udziale zawartych w osoczu czynników krzepnięcia krwi gospodarza

Tabela 1. Związki zmagazynowane w płytkowych α -ziarnistościach umożliwiające interakcję krwinek płytkowych z komórkami nowotworowymi

Związki uwalniane przez płytki krwi	Piśmiennictwo
Cytokiny i chemokiny	
PDGF — płytkopochodny czynnik wzrostu	ROSS i REINES 1990
TGF — transformujący czynnik wzrostu	ASSOIAN i współaut. 1983
EGF — naskórkowy czynnik wzrostu	OKA i ORTH 1983
HGF — hepatocytowy czynnik wzrostu	KOPEĆ 1996
PF4 — płytkowy czynnik 4	KOPEĆ 1996
β -TG — β -tromboglobulina	NIEWIAROWSKI i HOLT 1987
PBP — zasadowe białko płytek	NIEWIAROWSKI i HOLT 1987
IL-1 — interleukina 1	HAWRYLOWICZ i współaut. 1991
VPF — czynnik przepuszczalności naczyń	DVORAK i współaut. 1991
Białka adhezyjne i ich receptory	
czynnik von Willebranda	KOUTTS i współaut. 1978
fibronektyna	FRAZIER 1987
trombospondyna	NIEWIAROWSKI i HOLT 1987
selektyna P (GMP140, PADGEM)	MODDERMAN i współaut. 1994
Białka czynne w krzepnięciu krwi i fibrynolizie	
PAI-1 — inhibitor aktywatora plazminogenu	HILL i współaut. 1996
α_2 -antyplazmina	LANG i SCHLEEF 1996
fibrynogen	BLOCKMANS i współaut. 1995
białko S	KOPEĆ 1996
czynnik V i XI	KOPEĆ 1996

(GASIC 1984, PACCHIARINI i współaut. 1991, STEINERT i współaut. 1993, WACHOWICZ i OLAS 1994). Aktywacja płytek krwi wywołana trombiną wzmacnia adhezję komórek HeLa do komórek śródbłonna w warunkach *in vitro* oraz stymuluje produkcję przez płytki krwi wolnych rodników, mogących odgrywać ważną rolę w fazie inicjacji oddziaływań pomiędzy komórkami nowotworowymi a komórkami śródbłonna (HELLAND i współaut. 1997). Badania ostatnich lat podkreślają znaczenie w metastazie i aktywacji płytek krwi gangliozydów bogatych w kwas sialowy, występujących na powierzchni komórek nowotworowych. Gangliozydy z komórek nowotworowych (GD3) aktywują znajdujące się w krwiobiegu płytki krwi modulując bezpośrednio funkcję receptorów integrynowych dla kolagenu ($\alpha_2\beta_1$) obecnych na płytce czy też zmieniając właściwości fizykochemiczne błony i powinowactwo tych receptorów do ligandu białkowego (FANG i współaut. 1997, UGORSKI i KŁOPOCKI 1996, VALENTIANO i LADISCH 1994, 1996). W wyniku pobudzenia krwinek płytkowych przez komórki nowotworowe dochodzi do interakcji płytek krwi z tymi komórkami, a nadto z komórkami śródbłonna (De GROOT i SIXMA 1990, POGGI i współaut. 1995). Ponieważ aktywacji płytek krwi towarzyszy odsłonięcie na ich powierzchni selektyny P — białka wiążącego sialoglikokoniugaty zlokalizowane na powierzchni komórek nowotworowych (UGORSKI i KŁOPOCKI 1996) dochodzi w tym przypadku do powstawania

zlepów płytek z komórkami nowotworowymi. IWAMURA i współpracownicy (1997) stwierdzili, że na powierzchni komórek raka trzustki (SUIT-2) obecna jest także selektyna P, umożliwiającą oddziaływanie z innymi rodzajami komórek. W tym zjawisku upatruje się przyczyny powstawania i rozwoju mikrozakrzepów oraz inwazyjności i rozsiewu nowotworów. Doświadczalna małopłytkowość zapobiega zagnieżdżeniu się komórek nowotworowych i powstawaniu przerzutów (KOPEĆ 1996). Szczegółowe informacje dotyczące roli płytek krwi w metastazie są zawarte w artykule WACHOWICZ i OLAS (1994).

Ostatnio doniesiono, że płytki krwi są zdolne do niszczenia komórek nowotworowych. Badania OKADY i współpracowników (1996) wykonane na dwóch różnych typach komórek nowotworowych (białaczki szpikowej przewlekłej (K562) i komórkach raka płuc (LU99A)) wykazały, że krwinki płytkowe są zdolne do zabijania tych komórek. Odbywa się to na drodze zależnej od cyklooksygenazy lub na drodze zależnej od tlenu azotu. Zastosowanie inhibitorów cyklooksygenazy (aspiryny lub indometacyny) pozwoliło stwierdzić, że płytki są zdolne do niszczenia komórek raka płuc, natomiast przeprowadzenie doświadczeń z inhibitorami drogi zależnej od tlenu azotu (N^G -nitro-L-argininy) wykazało zabijanie przez płytki krwi komórek K562. Komórki K562 natomiast były zdolne do stymulacji syntezy tromboksanu A_2 w płytkach krwi (OKADA i współaut. 1996).

ROLA INTEGRYN W PRZERZUTACH NOWOTWOROWYCH

Zdolność komórek nowotworowych do przerzutów jest uzależniona między innymi od interakcji z innymi komórkami. Receptory integrynowe są odpowiedzialne za rozpoznawanie i przyleganie komórek do składników macierzy zewnątrzkomórkowej oraz oddziaływania komórek między sobą. W oddziaływaniu komórek nowotworowych z płytkami uczestniczą przede wszystkim następujące integryny: $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_{IIb}\beta_3$, $\alpha_v\beta_3$. Pośredniczą one nie tylko w biernym oddziaływaniu komórek, ale również w przekazywaniu informacji, umożliwiając adhezję komórek, ich agregację lub ukierunkowaną migrację podczas procesu metastazy. Podobną funkcję spełniają integryny obecne na powierzchni leukocytów ($\alpha_L\beta_2$, $\alpha_M\beta_2$, $\alpha_X\beta_2$) i komórek śródbłonna ($\alpha_V\beta_3$) (POGGI i współaut. 1995). W oddziaływaniu płytek krwi z komórkami nowotworowymi uczestniczy przede wszystkim płytkowy receptor $\alpha_{IIb}\beta_3$. Obecność tej integryny stwierdzono także na wielu komórkach nowotworowych, między innymi ludzkich komór-

kach czerniaka, szczurzych komórkach rakomięsaka Walker 256 i komórkach raka płuc (CHIANG 1994, FELDING-HABERMANN i współaut. 1996, KLEIN i współaut. 1991, POGGI i współaut. 1995, TRIKHA i współaut. 1996). Nie zidentyfikowano jeszcze, jakie białko adhezyjne pełni rolę ligandu łączącego komórki nowotworowe z płytkami. Zwraca się uwagę na fibronektynę, czynnik von Willebranda, fibrynogen oraz przede wszystkim na trombospondynę (FELDING-HABERMANN i współaut. 1996, HUGO i współaut. 1995, POGGI i współaut. 1995, TUSZYŃSKI i współaut. 1997, WOJTUKIEWICZ i współaut. 1995). Trombospondyna jest glikoproteiną pochodzącą z α -ziarnistości stymulowanych płytek krwi, z pneumocytów, komórek śródbłonna, makrofagów, fibroblastów i niektórych komórek nowotworowych na przykład czerniaka. Oprócz zdolności adhezji do komórek nowotworowych trombospondyna stymuluje proces wzrostu nowotworu, między innymi raka piersi (BOMSTEIN i SAGE 1994, BOUKERCHE i współaut.

1995, INCORDONA i współaut. 1993 i 1996, HUGO i współaut. 1995). Trombospondyna ponadto w warunkach *in vivo* ma zdolność hamowania pobudzonej angiogenezy w czasie metastazy (WEINSTAT-SASLOW i STEEG 1994). Oddziaływanie trombospondyny z komórkami zachodzi przy udziale licznych receptorów komórkowych, między innymi płytkowych glikoprotein GPIV, GPIIb oraz integrzyn z podjednostkami β_3 i β_1 . Trombospondyna wiąże się z receptorem przez sekwencję RFYVVM (Arg-Phe-Tyr-Val-Val-Met) znajdującą się na C-końcu (GAO i współaut. 1996).

EIKOZANOIDY A NOWOTWORY

Prawidłowe funkcjonowanie układu hemostazy zależy między innymi od aktywacji krwinek płytkowych, której towarzyszy przemiana kwasu arachidonowego (kwas 5, 8, 11, 14-eikozatetraenowy; ω_9 , C20:4, $\Delta^{5, 8, 11, 14}$). Metabolity kwasu arachidonowego, tak zwane eikozanoidy, odgrywają także istotną rolę w procesie karcynogenezy. W płytkach krwi kwas arachidonowy jest metabolizowany na trzech enzymatycznych drogach: (1) zależnej od cyklooksygenazy, (2) zależnej od lipoksygenazy i (3) zależnej od epoksygenazy współdziałającej z cytochromem P450. Na drodze nieenzymatycznej natomiast z arachidonianu powstają izoprostany (LESLIE 1997). Główny szlak przemian arachidonianu w płytce krwi prowadzi do wytworzenia w równomolowych ilościach tromboksanu A₂ i dialdehydu malonowego (MDA) — markera tego procesu oraz do syntezy prostaglandyn. Tworzenie tromboksanu A₂ w płytkach poprzez cykliczne nadtlenki prostaglandyn PGG₂ i PGH₂, katalizuje jedna z izoform cyklooksygenazy, określana jako COX-1 albo PGHS-1. COX-1 jest nazywana formą konstytutywną enzymu i jest obecna nie tylko w płytkach krwi ale również w komórkach śródbłonna i neutrofilach. W komórkach śródbłonna znajduje się jeszcze druga forma cyklooksygenazy określana jako COX-2 lub PGHS-2 (tzw. indukowalna). Obie izoformy cyklooksygenazy wykazują duży stopień homologii aminokwasowej (około 60%) i są kodowane przez geny znajdujące się na różnych chromosomach. Zarówno TXA₂, jak i PGG₂ i PGH₂, powstające przy udziale COX-1, powodują agregację krwinek płytkowych oraz skurcz naczyń krwionośnych.

Znacznie mniej wydajny w płytce jest metabolizm arachidonianu katalizowany przez 12-lipoksygenazę, gdzie dochodzi do powstania głównie hydroksykwasów ((kwas 12-hydroperoksyekozatetraenowy (12-HPETE) i kwas 12-

Ostatnio zwrócono uwagę na szczególną rolę dezintegryn (peptydów posiadających sekwencję RGD, które są izolowane z jadów węży) w ograniczaniu metastazy. Dezintegryny mogą hamować agregację krwinek płytkowych oraz ich adhezję. Trigramina — peptyd otrzymany z jadu węża *Trimeresurus gramineus* blokuje przyleganie komórek nowotworowych czerniaka do fibronektyny i fibrynogenu. Podobnie zachowywały się inne dezintegryny, takie jak triflavina i batroxostatina (POGGI i współaut. 1995).

hydroksyeikozatetraenowy (12-HETE)) oraz hepoksylin (hepoksyliny A₃ i hepoksyliny B₃). Hepoksylina A₃ może ulegać w dalszym etapie skoniugowaniu z glutationem w formie zredukowanej (GSH) przy udziale S-transferazy glutationowej lub może być przekształcona w obecności hydrolazy epoksydowej do trioksyliny A₃. 12-lipoksygenaza w płytce krwi również katalizuje przemianę leukotrienu A₄ pochodzącego z leukocytów do lipoksyn. Epoksygenaza współdziałająca z cytochromem P450 przekształca natomiast kwas arachidonowy w kwasy epoksyekozatrienowe (EET): 5,6-EET, 8,9-EET, 11, 12-EET, a głównie do 14,15-EET. Kwas 12-HETE, podobnie jak hepoksylina A₃ i epoksykwasy, hamuje agregację płytek krwi (BLOCKMANS i współaut. 1995, HONN i współaut. 1994, KROLL i SCHAFER 1995, OLAS i WACHOWICZ 1995).

Enzymatyczna przemiana arachidonianu zachodzi ponadto w ścianie naczynia krwionośnego, gdzie przy udziale syntetazy prostacykliny z nadtlenków prostaglandyn powstaje prostacyklina, hamująca agregację płytek krwi i działająca rozkurczowo na naczynia krwionośne. Niektóre komórki nowotworowe posiadają także właściwość hamowania syntezy prostacykliny w śródbłonku naczyniowym, co sprzyja ich adhezji do ściany naczynia krwionośnego (GÓRSKI 1992, HONN i współaut. 1992).

Komórki nowotworowe mają nie tylko możliwość modyfikowania metabolizmu arachidonianu w płytkach krwi, ale są także same zdolne do jego przemiany. W procesie oddziaływania komórek nowotworowych z komórkami śródbłonna oraz z krwinkami płytkowymi dochodzi do uwolnienia z tych komórek metabolitów kwasu arachidonowego. Powstający w znacznych ilościach kwas 12-hydroksyeikozatetraenowy w komórkach nowotworowych zwiększa ekspresję integrzyn $\alpha_{IIb}\beta_3$ na ich powierz-

chni i umożliwia oddziaływanie z płytkami krwi, tak zwany etap „locking”, gdzie łącznikiem pomiędzy komórkami może być fibrynogen lub trombospondyna. Mogą też istnieć oddziaływania typu słabego bez udziału integryn, tak zwany etap „docking”. Kwas 12-HETE z komórek nowotworowych, podobnie jak i z płytek zwiększa ekspresję integryn $\alpha\text{v}\beta_3$ komórek śródbłonna, natomiast kwas 13-hydroksyoktadekaenowy (13-HODE) — produkt powstający z kwasu linolenowego ($\omega 6$, C18:3, $\Delta^{6,9,12}$) pochodzący z komórek nowotworowych i komórek śródbłonna, hamuje to zjawisko (CHIANG 1994, HONN i współaut. 1994, POGGI i współaut. 1995, TANG i współaut. 1993). Zdolność komórek nowotworowych do syntezy kwasu 12-HETE jest

ściśle skorelowana ze zdolnością do tworzenia przerzutów (HONN i współaut. 1994). Komórki nowotworowe HM340, które charakteryzują się wysoką zdolnością do tworzenia przerzutów nowotworowych cztery razy szybciej syntetyzują kwas 12-HETE niż komórki LM180 o niskiej zdolności do przerzutowania (YAMAMOTO i współaut. 1997). Stwierdzono także, że prostaglandyna PGD₂, powstająca w płytkach krwi hamuje wzrost nowotworu (GOROSPE i współaut. 1996). Inne wyniki badań wskazują, że prostaglandyny mogą też wywoływać ekspresję urokinazy — enzymu pełniącego ważną rolę w migracji komórek nowotworowych (GRĘBECKA 1995).

DISTURBANCES IN HEMOSTASIS IN TUMORS

Summary

This review presents the disturbances of hemostasis in tumor, and the role of blood coagulation, fibrinolytic system, and increased platelet responses in tumor growth and metastasis. Activation of the clotting cascade and the

stimulation of blood platelets is mediated by tumor cells. These processes may form one of the important steps in the metastatic pathway.

PIŚMIENNICTWO

- AMIKHOSRAVI A., BIGGERSTAFF J. P., WARNES G., FRANCIS D. A., FRANCIS J. L., 1996. *Determination of tumor cell procoagulant activity by Sonoclot analysis in whole blood*. *Thromb. Res.* 84, 323-332.
- ASSOIAN R. K., KAMORIYA A., MEYERS C. A., MILLER D. M., SPORN M. B., 1983. *Transforming growth factor-beta in human platelets*. *J. Biol. Chem.* 258, 7155-7160.
- BHATTI R. A., GADAROWSKI J., RAY P., 1996. *Potential role of platelets and coagulation factors in the metastasis of prostatic cancer*. *Invasion Metastasis* 16, 49-55.
- BLOCKMANS D., DECKMYN H., VERMYLEN J., 1995. *Platelet activation*. *Blood Rev.* 9, 143-156.
- BOMSTEIN P., SAGE E. H., 1994. *Thrombospondin*. *Methods in Enzymology* 245, 62-85.
- BOUKERCHE H., BERTHIER-VERGNES O., MCGREGOR J. L., 1995. *Thrombospondin modulates melanoma-platelet interactions and melanoma tumor cell growth in vivo*. *Br. J. Cancer* 72, 108-116.
- CHIANG T. M., 1994. *Activation of phospholipase D in human platelets by collagen and thrombin and its relationship to platelet aggregation*. *Biochim. Biophys. Acta* 1224, 147-155.
- CHIANG H. S., YANG R. S., HUANG T. F., 1996. *Thrombin enhances the adhesion and migration of human colon adenocarcinoma cells via increased α -integrin expression on the tumour cell surface and their inhibition by snake venom peptide, rhodostonin*. *Br. J. Cancer* 73, 902-908.
- CIERNIEWSKI C. S., ŚWIĄTKOWSKA M., KRZESŁOWSKA M., 1994. *Regulacja ekspresji inhibitora aktywatorów plazminogenu (PAI-1) w komórkach śródbłonna ludzkiego. [W:] Białka komórek prawidłowych i patologicznych. Z. KILIAŃSKA, W. KRAJEWSKA, A. LIPIŃSKA, (red.) ŁTN, Łódź, 184-198.*
- COSTANTINI V., ZACHARSKI L. R., 1993. *Fibrin and cancer*. *Thromb. Haemost.* 69, 406-414.
- DE GROOT P. G., SIXMA J. J., 1990. *Platelet adhesion*. *Br. J. Haematol.* 75, 308-312.
- DVORAK H. F., MAGY J. A., DVORAK A. M., 1991. *Structure of solid tumors and their vasculature: implications for therapy with monoclonal antibodies*. *Cancer Cells* 3, 77-85.
- FANG L. H., LUCERO M., KAZARIAN T., WEI Q., LUO F. Y., VALENTIN L. A., 1997. *Effects of neuroblastoma tumor gangliosides on platelet adhesion to collagen*. *Clin. Exp. Metastasis.* 15, 33-40.
- FELDING-HABERMANN B., HABERMANN R., SALVIDAR E., RUGGERI Z. M., 1996. *Role of α 3 integrins in melanoma cell adhesion to activated platelets under flow*. *J. Biol. Chem.* 271, 5892-5900.
- FRAZIER W. A., 1987. *Thrombospondin: a modular adhesive glycoprotein of platelets and nucleated cells*. *J. Cell Biol.* 105, 625-632.
- GAO A. G., LINDBERG F. P., FINN M. B., BLYSTONE S. D., BROWN E. J., FRAZIER W. A., 1996. *Integrin-associated protein is a receptor for the C-terminal domain of thrombospondin*. *J. Biol. Chem.* 271, 21-24.
- GASIC G., 1984. *Role of plasma, platelets, and endothelial cells in tumor metastasis*. *Cancer Met. Rev.* 3, 46-56.
- GASIC G. J., GASIC T., STEWART C. C., 1968. *Anti-metastatic effects associated with platelet reduction*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 61, 99-116.
- GOAD K. E., GRALNICK H. R., 1996. *Coagulation disorders in cancer*. *Complic. Cancer* 10, 457-484.
- GORDON S. G., 1992. *Cancer cell procoagulants and their role in malignant disease*. *Semin. Thromb. Hemost.* 18, 424-433.
- GOROSPE M., LIU Y., XU Q., CHREST J., HOLBROOK N. J., 1996. *Inhibition of G₁ cyclic-dependent kinase activity during growth arrest of human breast carcinoma cells by prostaglandin A₂*. *Mol. Cell. Biol.* 16, 762-770.
- GÓRSKI J., 1992. *Rola płytek krwi w powstawaniu przerzutów nowotworowych*. *Medycyna* 2000 23/24, 60-64.
- GRĘBECKA L., 1995. *Migracja komórek nowotworowych w organizmie*. *Kosmos* 44, 405-436.
- HAWRYŁOWICZ C. M., HOWELLS G. L., FELDMANN M., 1991. *Platelet-derived interleukin 1 induces human endothe-*

- lial adhesion molecule expression and cytokine production. *J. Exp. Med.* 174, 785-790.
- HEIMOLLER E., WEINEL R. J., HEIDTMANN H. H., SALGE U., SEITZ R., SCHMITZ I., MULLER K. M., ZIRNGIBL., 1996. *Studies on tumor-cell-induced platelet aggregation in human lung cancer cell lines.* *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 122, 735-744.
- HELLAND I. B., KLEMENTSEN B., JORGENSEN L., 1997. *Addition of both platelets and thrombin in combination accelerates tumor cells to adhere to endothelial cells in vitro.* *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.* 33, 182-186.
- HILL S. A., SHANGHENESSY S. G., JOSUA P., RIBOU J., AUSTIN R. C., PODOR T. J., 1996. *Differential mechanisms targeting type I plasminogen activator inhibitor and vitronectin into the storage granules of a human megakaryocytic cell line.* *Blood* 87, 5061-5073
- HOKOM M. M., LACEY D., KINSTLER O. B., CHOI E., KAUFMAN S., FAUST J., ROWAN CH., DWYER E., NICHOL J. L., GASEL T., WILSON J., STEUNBRINK R., HECHT R., WINTERS D., BOONE T., HUNT P., 1995. *Regulated megakaryocyte growth and development factor abrogates the lethal thrombocytopenia associated with carboplatin and irradiation in mice.* *Blood* 86, 486-4492.
- HOLM T., SINGNOMKLAOM T., RUTQVIST L. E., CEDERMARK B., 1996. *Adjuvant preoperative radiotherapy in patients with rectal carcinoma. Adverse effects during long term follow-up of two randomized trials.* *Cancer*, 339, 78, 968-976.
- HONN K. V., DEAN G., TANG M. D., CHEN Y. Q., 1992. *Platelets and cancer metastasis: more than an epiphenomenon.* *Semin. Thromb. Haemost.* 4, 392-415.
- HONN K. V., TANG D. G., GROSSI I., DUNIEC M., TIMAR J., RENAUD C., LEITHAUSER M., BLAIR I., JOHNSON C. R., DIGLIO C. A., KIMLER V. A., TAYLOR J. D., MAMETT L. J., 1994. *Tumor cell-derived 12 (s)-hydroxyeicosatetraenoic acid induced microvascular endothelial cell retraction.* *Cancer Res.* 54, 565-574.
- HUGO CH., PICHLER R., MEEK R., GORDON K., KYRIAKIDES T., FLOEGE J., BORNSTEIN P., COUSER W. G., JOHNSON R. J., 1995. *Thrombospondin 1 is expressed by proliferating mesangial cells and is up-regulated by PDGF and bFGF in vivo.* *Kidney Int.* 48, 1846-1856.
- INCORDONA F., CALVO F., FAUVEL-LEFEVE F., LEGRAND Y., LEGRAND C., 1993. *Involvement of thrombospondin in the adherence of human breast-adenocarcinoma cells: a possible role in the metastatic process.* *Int. J. Cancer* 55, 471-477.
- INCORDONA F., LAWLER J., CATALDO D., PANET A., LEGRAND Y., FOIDART J. M., LEGRAND C., 1996. *Heparin-binding domain, type 1 and type 2 repeats of thrombospondin mediate its interaction with human breast cancer cells.* *J. Cell. Biochem.* 62, 431-442.
- IWAMURA T., CAFFREY T. C., KITAMURA N., YAMANARI H., SETOGUCHI T., HOLLINGSWORTH M. A., 1997. *P-selectin expression in a metastatic pancreatic tumor cell line (SUIT-2).* *Cancer Res.* 57, 1206-1212.
- KLEIN C. E., STEINMAYER T., KOUFMANN D., WABER L., BROCKER E. B., 1991. *Identification of a melanoma progression antigen as integrin VLA-2.* *J. Invest. Dermatol.* 96, 281-284.
- KOPEĆ M., 1996. *Zakrzepy a nowotwory.* [W:] *Zakrzepy i zatory.* S. ŁOPACIUK (red.) Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 80-111.
- KOUTTS J., WALSH P. N., PLOW E. F., FENTON J. W., BOUMA B. N., ZIMMERMAN T. S., 1978. *Active release of human platelet factor VIII-related antigen by adenosine diphosphate, collagen, and thrombin.* *J. Clin. Invest.* 62, 1255-1263.
- KROLL M. H., SCHAFFER A. J., 1995. *The analysis of ligand-receptor interaction in platelet activation.* *Immunopharmacol.* 5, 31-65.
- LAKI K., YANCEY S. T., 1968. *Fibrinogen and the tumor problem.* [W:] *Cancer.* LAKI K. (red.) Marcel Dekker, New York, 359-367.
- LANG I. M., SCHLEEF R. R., 1996. *Calcium-dependent stabilization of type I plasminogen activator inhibitor within platelet-granules.* *J. Biol. Chem.* 271, 2754-2761.
- LESLIE C. C., 1997. *Properties and regulation of cytosolic phospholipase A₂.* *J. Biol. Chem.* 272, 16709-16712.
- MODDERMAN P. W., VON DEM BORNE A. E., SONNENBERG G. K., 1994. *Tyrosine phosphorylation of P-selectin in intact platelets and in a disulphide-linked complex with immunoprecipitated pp60^{c-src}.* *Biochem. J.* 299, 613-621.
- NIERODZIK M. L., BAIN R. M., LIU L. X., SHIVJI M., TAKESHIKA K., KARPATKIN S., 1996. *Presence of the seven transmembrane thrombin receptor on human tumour cells: effect of activation on tumour adhesion to platelets and tumor tyrosine phosphorylation.* *Br. J. Haematol.* 92, 452-457.
- NIEWIAROWSKI S., HOLT J. C., 1987. *Biochemistry and physiology of secreted platelet proteins.* *Thromb. Haemost.* 283, 618-630.
- O'MARA R. A. Q., 1958. *Coagulative properties.* *Irish. J. Med. Sci.* 394, 474-479.
- OKADA M., SAGAWA T., TOMINAGA A., KODOMA T., HITSUMOTO Y., 1996. *Two mechanisms for platelet-mediated killing of tumour cells: one cycle-oxygenase dependent and the other nitric oxide dependent.* *Immunology* 89, 158-164.
- OKA Y., ORTH D. N., 1983. *Human Plasma Epidermal growth factor/β-urogastrone is associated with blood platelets.* *J. Clin. Invest.* 72, 249-259.
- OLAS B., WACHOWICZ B., 1995. *Aktywacja płytek krwi; mechanizm przekazywania sygnałów.* *Post. Biol. Kom.* 22, 359-378.
- OLAS B., WACHOWICZ B., 1997. *Inhibitory effects of cisplatin and its conjugate with glutathione on blood platelet activity.* *Platelets* 8, 1-4.
- ONAT H., INANC S E., DALAY N., KARALOGLU D., ERTURK N., YASASEVER V., 1993. *Effect of cisplatin on erythropoietin and iron changes.* *Eur. J. Cancer* 29A: 777.
- PACCHIARINI L., ZUCHELL M., MILANESI G., TACCANI F., BONOMI E., CANEVARI A., GRIGNANI G., 1991. *Thromboxane production by platelets during tumor cell-induced platelet activation.* *Invasion and Metastasis* 11, 102-109.
- POGGI A., ROSSI C., BEVIGLIA L., CALABRESE R., DONATI M. B., 1995. *Platelet-tumor cell interactions.* *Immunopharmacol. Platelets* 8, 151-165.
- ROBAK T., 1994. *Zastosowanie krwiotwórczych czynników wzrostowych w onkologii i hematologii.* *Medycyna* 2000 45/46, 76-81.
- ROSS R., RAINES E. W., 1990. *Platelet-derived growth factor and cell proliferation.* *Growth Factors* 11, 193-199.
- SEITZ R., HEIDMAN H. H., MAASBERG M., IMMEL A., EGBRING R., HAVEMANN K., 1993. *Activators of coagulation in cultured human lung-tumor cells.* *Int. J. Cancer* 53, 514-520.
- STEINERT B. W., TANG D. G., GROSSI I. M., UMBARGER L. A., HONN K. V., 1993. *Studies on the role of platelet eicosanoid metabolism and integrin IIb3 in tumor-cell-induced platelet aggregation.* *Int. J. Cancer* 54, 92-101.
- TANG D. G., CHEN Y. Q., DIGLIO C. A., HONN K. V., 1993. *Protein kinase C-dependent effects of 12 (s)-HETE on endothelial cell vitronectin receptors and fibronectin receptors.* *J. Cell Biol.* 121, 689-704.
- TRIKHA M., TIMAR J., LUNDY S. K., SZEKERES K., TANG K., GRIGNON D., PORTER A. T., HONN K. V., 1996. *Human prostate carcinoma cells express functional IIb3 integrin.* *Cancer Res.* 56, 5071-5078.
- TUSZYŃSKI G. P., WANG T. N., BERGER D., 1997. *Adhesive proteins and the hematogenous spread of cancer.* *Acta Haematol.* 97, 29-39.
- UGORSKI M., KŁOPOCKI A. G., 1996. *Udział antygenów sjalo-LE^a i sjalo-LE w adhezji i progresywnym wzroście nowotworowym.* *Post. Hig. Med. Dośw.* 50, 209-231.

- VALENTIANO L. A., LADISCH S., 1996. *Tumor gangliosides enhance α_1 integrin-dependent platelet activation*. *Biochim. Biophys. Acta* 1316, 19–28.
- VALENTIANO L., LADISCH S., 1994. *Circulating tumor gangliosides enhance platelet activation*. *Blood* 83, 2872–2877.
- VAN DER WALL E., NOOIJEN W. J., BAARS J. W., HOLTKAMP M. J., SCHORANEL J. H., RICHEL D. J., RUTGERS E. J., SLAPER – CORTENBACH I. C., VAN DER SCHOOT C E., RODENHUIS S. 1995. *High-dose carboplatin, thiotepa and cyclophosphamide (CTC) with peripheral blood stem cell support in the adjuvant therapy of high – risk breast cancer: a practical approach*. *Br. J. Cancer* 71, 857–862.
- WACHOWICZ B., OLAS B., 1994. *Rola płytek krwi w metastazie*. [W:] *Białka komórek prawidłowych i patologicznych*. Z. KILIAŃSKA, W. KRAJEWSKA, A. LIPIŃSKA, (red.) ŁTN, Łódź, 199–209.
- WEINSTAT-SASLOW D., STEEG P. S., 1994. *Angiogenesis and colonization in the tumor metastasis process: basic and applied advances*. *FASEB* 8, 400–407.
- WOJTUKIEWICZ M. Z., 1997. *Kliniczne aspekty aktywacji krzepnięcia krwi w chorobie nowotworowej*. *Acta Haematol. Pol.* 28, 79–93.
- WOJTUKIEWICZ M. Z., TANG D. G., BEN-JOSEF E., RENAUD C., WALZ D. A., HONN K. V., 1995. *Solid tumor cells express functional tethered ligand thrombin receptor*. *Cancer Res.* 55, 698–704.
- YAMAMOTO S., SUZUKI H., UEDA N., 1997. *Arachidonate 12-lipoxygenases*. *Prog. Lipid Res.* 36, 23–41.