

РОЛЬ АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ В РАЗВИТИИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ

© 2024 г. А. Н. Свешникова^{1, 2, 3, *}, И. П. Тесаков², С. А. Кузнецова^{1, 2}, Е. В. Шамова⁴

¹Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии
и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ, Москва, Россия

³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁴Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

*E-mail: a.sveshnikova@physics.msu.ru

Поступила в редакцию 25.10.2023 г.

После доработки 22.11.2023 г.

Принята к публикации 24.11.2023 г.

Система свертывания крови, состоящая из плазменного звена – активации тромбина и полимеризации фибрина, и сосудисто-тромбоцитарного звена, активно участвует в развитии онкологических заболеваний. Известно, что многие солидные опухоли экспрессируют тканевый фактор – “спусковой крючок” каскада реакций свертывания плазмы крови, что приводит к повышенному риску рак-ассоциированного тромбоза и венозного тромбоза у онкологических больных. Также давно известно, что тромбоциты – небольшие клеточные фрагменты, являющиеся основной тромбов, играют критическую роль в метастазировании, связываясь с опухолевой клеткой после ее выхода в кровеносный сосуд, “экранируя” ее от иммунной системы и способствуя адгезии и экстравазации опухолевой клетки в ткани и формированию метастаза. Кроме того, тромбоциты, будучи мобильными “складами” факторов роста, активно привлекаются и в некоторых случаях поглощаются опухолью, что способствует ее развитию и васкуляризации. Привлечение тромбоцитов происходит как через активацию системы свертывания крови в районе опухоли, так и путем экспонирования опухолью адгезионной поверхности. Активированные в окрестности опухоли тромбоциты привлекают и вызывают активацию нейтрофилов и образование ДНК-ловушек нейтрофилов (NETs), модулируя таким образом микроокружение опухоли. Кроме непосредственного взаимодействия тромбоциты и опухолевые клетки обмениваются мРНК, микро-РНК и другими регуляторными молекулами через микровезикулы, при этом тромбоциты являются контейнерами для распространения по организму опухолевого генетического материала (циркулирующие нуклеиновые кислоты). В настоящем обзоре мы рассматриваем молекулярные механизмы участия тромбоцитов в развитии и метастазировании солидных опухолей, а также обсуждаем возможные варианты фармакологического прерывания этого взаимодействия.

Ключевые слова: тромбоцит, гранулоцит, клеточная адгезия, солидная опухоль, метастазирование, микровезикулы, ДНК-ловушки нейтрофилов

DOI: 10.31857/S0869813924010015, EDN: WUWMEL

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении нескольких последних десятилетий онкологические заболевания “набирают обороты”, при этом наиболее распространенные – рак легкого и рак предстательной железы у мужчин и рак молочной железы у женщин [1] развиваются до достижения пожилого возраста [2]. Система остановки кровотечения – система гемостаза – оказывается задействована в развитии солидных онкологических заболеваний. У пациентов с установленными злокачественными новообразованиями клинически выраженные осложнения со стороны системы гемостаза наблюдаются значительно чаще, чем в общей популяции [3]. Так, по данным крупных ретроспективных и проспективных исследований частота тромбозов легочной артерии у пациентов с онкологическими заболеваниями составляет от 0.6 до 7.8%, в то время как в общей популяции она не превышает 0.1% [4]. В настоящее время установлено, что тромбозы являются ведущей причиной смерти онкологических больных [5, 6]. Тем не менее ни одна из существующих прогностических шкал, используемых сегодня в клинической практике, не позволяет точно предсказать развитие осложнений со стороны системы гемостаза у конкретного пациента. Это может быть связано с недостаточным пониманием сложных механизмов взаимодействия между клетками злокачественной опухоли и ключевыми компонентами системы гемостаза: системой плазменного свертывания и тромбоцитами [7]. Вопросам роли плазменного свертывания был посвящен наш предыдущий обзор [8], а в настоящем обзоре мы фокусируемся на роли тромбоцитов в развитии солидных онкологических заболеваний.

ТРОМБОЦИТЫ И ПЛАЗМЕННЫЙ ГЕМОСТАЗ

Тромбоциты представляют собой форменные элементы крови, которые циркулируют в кровотоке в концентрации 200–400 тыс./мкл. Они лишены клеточного ядра и представляют собой фрагменты цитоплазмы, образующиеся из мегакариоцитов костного мозга и поступающие в системный кровоток [9]. В случае повреждения сосуда тромбоциты способны адгезировать к поврежденным тканям, активироваться и агрегировать с образованием гемостатической пробки, которая может перекрыть повреждение и предотвратить кровопотерю [10, 11]. Активация тромбоцитов может происходить по разнообразным путям трансдукции сигнала, чувствительным к растворимым и нерастворимым маркерам нарушения целостности сосуда. Тромбоциты могут реализовать несколько функциональных ответов: активация тромбоцитарных β_3 интегринов, изменение формы, секреция гранул и инициация плазменного звена свертывания крови [12]. В контексте рассмотрения онкологических заболеваний представляется наиболее значимым тот факт, что тромбоциты “набиты” гранулами, содержащими различные медиаторы и факторы роста [13], которые они секретируют даже при небольшой активации. Также в последние годы развивается представление о тромбоцитах как о “дозорных” иммунной системы, так как они играют важную роль в обнаружении бактерий в циркулирующей крови и регулируют экстравазацию иммунных клеток в ответ на внешние и внутренние стимулы [14–16].

Начальным этапом тромбообразования является адгезия тромбоцита к субэндотелиальным белкам – коллагену и фактору Виллебранда, которые становятся доступными после повреждения сосуда. Активация приводит к перестройке цитоскелета и изменению формы тромбоцита, а также к секреции тромбоцитом вторичных активаторов, таких как тромбоксан A_2 и аденозиндифосфат (АДФ). Также вследствие активации тромбоцита происходит активация гликопротеина IIb/IIIa, последующее связывание его с фибриногеном и образование своеобразного “мостика” между двумя активированными тромбоцитами. Описанные процессы называются агрегацией и лежат в основе формирования тромбов [17]. Кроме коллагена среди физиологических активаторов

тромбоцитов наиболее известными являются АДФ и тромбин – сериновая протеаза, один из основных ферментов системы свертывания. Стимуляция рецептора приводит к активации сложной системы внутриклеточной сигнализации, которая может привести к активации тромбоцита и последующей агрегации [12, 18].

Одновременно с активацией тромбоцитов в месте повреждения сосуда происходит активация системы свертывания крови – сети ферментативных реакций, управляющей образованием фибринового сгустка, запечатывающего место повреждения [19]. Традиционно принято рассматривать механизм свертывания крови как каскад, а вернее, сеть протеолитических реакций [20], в которой фермент, образующийся в результате предыдущей реакции, катализирует следующую [19]. Несмотря на то, что в каскадной модели свертывания крови некоторые реакции все еще обсуждаются [21, 22], все основные компоненты этой модели и связи между ними остаются неизменными на протяжении последних тридцати лет [19]. В классической модели выделяют два основных механизма инициации свертывания: внешний путь (путь тканевого фактора) и внутренний (контактный) путь [19].

Клетки почти всех тканей организма экспрессируют тканевый фактор, являющийся трансмембранным гликопротеином. При повреждении сосуда происходит связывание активного фактора VII (VIIa) с тканевым фактором и образование внешней теназы – комплекса VIIa/TF [8], обладающего мощной ферментативной активностью и способного активировать факторы IX и X [23]. Эти события и запускают процесс свертывания крови. Фактор IXa может напрямую активировать фактор X, а тот, в свою очередь, – катализировать превращение протромбина в активный тромбин [23]. Тромбин превращает растворимый фибриноген в фибрин с последующей полимеризацией последнего и образованием сгустка [19]. Интересно, что все перечисленные реакции протекают на поверхности богатых фосфатидилсерином мембран погибших клеток, причем в первую очередь эти мембраны предоставляют гиперактивированные тромбоциты [24].

Кроме своей роли в полимеризации фибрина тромбин является активатором клеточных рецепторов протеаз – PAR-рецепторов. Именно благодаря наличию на тромбоцитах PAR1 и PAR4 рецепторов и происходит их активация тромбином [25]. Далее мы подробно обсудим значение того факта, что клетки сосудистого эндотелия, клетки иммунной системы и большинство опухолевых клеток также содержат PAR1-рецепторы.

РОЛЬ ТРОМБОЦИТОВ В ПРОЛИФЕРАЦИИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИИ ОПУХОЛЕЙ

Участие тромбоцитов крови человека в процессе развития онкологических заболеваний было продемонстрировано еще в 1968 г. [26], и далее исследования велись по трем основным направлениям: 1) тромбоцитоз как признак развития опухоли и/или неблагоприятного прогноза [27]; 2) участие тромбоцитов в пролиферации опухолевых клеток и васкуляризации опухоли; 3) участие тромбоцитов в метастазировании опухоли и экстравазации циркулирующих опухолевых клеток [28, 29]. Можно заметить, что первое направление на самом деле является следствием либо второго, либо третьего и свидетельствует о важности тромбоцитов для прогресса онкологического процесса, при этом многие детали механизмов взаимодействия клеток опухолей и тромбоцитов до сих пор не уточнены.

Изменение количества тромбоцитов в общем анализе крови при онкологических заболеваниях известно давно, и в 2013 г. было продемонстрировано, что многие опухоли, синтезируя цитокин интерлейкин-6, индуцируют синтез тромбопоэтина, который, в свою очередь, приводит к повышенному производству тромбоцитов мегакариоцитами – паранеопластическому тромбоцитозу [30]. Паранеопластический тромбоцитоз является одним из факторов, способствующих негативному прогнозу при терапии он-

кологических заболеваний [31, 32]. Так, при раке яичников наблюдается увеличение количества тромбоцитов, связанное с курсом лечения и прогрессированием заболевания, а снижение количества тромбоцитов менее чем на 25% после химиотерапии было неблагоприятным прогностическим фактором и ассоциировалось с риском рецидива [33]. В недавнем исследовании 112 тысяч онкологических пациентов, для которых был проведен анализ крови с подсчетом количества тромбоцитов за месяц до постановки диагноза, было показано, что уровень смертности от рака был выше среди лиц с высоким количеством тромбоцитов и ниже среди лиц с низким количеством тромбоцитов [34]. Таким образом, количество тромбоцитов однозначно важно для прогресса многих онкологических заболеваний.

Вопрос о влиянии тромбоцитов непосредственно на канцерогенез в настоящее время остается открытым [35]. Непосредственное “потребление” тромбоцитов опухолью было показано только для таких сосудистых опухолей, как гемангиомы [36]. При активации тромбоциты секретируют большое количество про-ангиогенных факторов – VEGF, PDGF, EGF [13]. Данные факторы способствуют пролиферации эндотелия, что приводит к образованию новых сосудов и васкуляризации опухолей [37, 38], а также ускорению пролиферации клеток самой опухоли [39, 40]. В частности, тромбоциты секретируют трансформирующий фактор роста бета-1 (TGF- β 1) [41, 42]. Labelle и соавт. на мышиных моделях рака толстой кишки и молочной железы показали, что TGF- β 1, секретируемый тромбоцитами, способствует запуску в опухолевых клетках сигнальных путей TGF β /Smad и NF- κ B, что, в свою очередь, приводит к изменению их фенотипа и увеличению метастатического потенциала [43]. Вопросам активации тромбоцитов в окрестности опухоли посвящен второй раздел настоящего обзора, а вопросам васкуляризации опухоли под действием тромбоцитов и плазменного звена свертывания крови – четвертый раздел.

Секретируемые тромбоцитами факторы роста также приводят к эпителиально-мезенхимальному переходу [44]. Radziwon-Balicka и соавт. продемонстрировали, что во время инкубации тромбоцитов с клетками колоректального рака линий Caco-2 и HT29 происходит секреция тромбоцитами тромбоспондина-1 и кластерина, которые приводят к увеличению инвазивного потенциала опухолевых клеток за счет повышения активности MMP-9 через сигнальный путь p38 MAPK [45]. Участие тромбоцитов в метастазировании показано во множестве работ [46, 47]. Так, у SCID мышей, нокаутных по ядерному фактору эритроидного происхождения 2 (Nf-E2), у которых вследствие дефекта созревания мегакариоцитов тромбоциты практически отсутствуют, а также у нокаутных по PAR-4 (рецептор к тромбину) или фибриногену мышей при внутривенном введении клеток меланомы значительно снижена вероятность образования метастаз [48]. Многократно было продемонстрировано, что антитромбоцитарная терапия аспирином или двойная антитромбоцитарная терапия аспирином и антагонистами P2Y₁₂-рецепторов (клопидогрел, тиклопидин и др.) подавляет метастазирование [49, 50]. Вопросам участия тромбоцитов и антитромбоцитарной терапии в метастазировании посвящены последние разделы настоящего обзора.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ КЛЕТКАМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

На сегодняшний день описан ряд молекулярных механизмов взаимодействия тромбоцитов с клетками злокачественных опухолей, которые могут приводить к активации и агрегации тромбоцитов.

Известно, что некоторые клеточные линии меланомы, нейробластомы, рака яичников и молочной железы в разной степени способны секретировать АДФ [51]. Boukerche и соавт. показали, что клетки меланомы линии M₃Da. вызывают необратимую агрега-

цию тромбоцитов *in vitro* за счет присутствующего в среде (возможно, секретируемого клетками) АДФ [52]. Авторы сделали предположение о том, что АДФ, высвобождаемая опухолевыми клетками, может играть ведущую роль в агрегации тромбоцитов *in vitro* в присутствии опухолевых клеток некоторых клеточных линий [52]. Hainmüller и соавт. [53] установили, что для клеток различных линий рака легкого характерны разные механизмы взаимодействия с тромбоцитами.

В клетках колоректального рака [54], рака легкого [55], папиллярного рака щитовидной железы [56] и остеосаркомы [57] наблюдается высокая экспрессия гена тромбосан-синтазы, синтезирующей активатор тромбоцитов тромбосан A_2 [58]. Установлено, что в клетках колоректального рака продукция тромбосана A_2 необходима для пролиферации [54]. De Leval и соавт. показали, что фармакологическое ингибирование как тромбосан-синтазы, так и рецепторов к тромбосану полностью подавляет агрегацию тромбоцитов в присутствии клеток остеосаркомы линии MG-63 [57]. В исследовании *in vivo* было показано, что ингибирование синтеза тромбосана A_2 приводит к снижению метастазирования рака легкого [58].

Как говорилось выше, в присутствии опухолевых клеток происходит генерация тромбина [53], вероятно, благодаря экспрессии на их поверхности тканевого фактора [59]. Тканевый фактор является кофактором внешней теназы – протеазы плазмы крови, катализирующей образование активного фактора X, который и катализирует образование тромбина [60]. Тромбин является наиболее сильным индуктором активации и агрегации тромбоцитов [61]. Для некоторых типов злокачественных опухолей характерна избыточная экспрессия тканевого фактора [51, 61]. В исследовании Zaga и др. было продемонстрировано, что тканевый фактор, экспрессируемый на поверхности клеток рака молочной железы, вызывает генерацию тромбина, активацию и агрегацию тромбоцитов в буфере в присутствии минимального (< 1%) количества плазмы крови [62]. Кроме того, установлено, что тканевый фактор, экспрессируемый на поверхности опухолевых клеток, является триггером локальной и системной активации каскада свертывания крови и возможной причиной тромбозов у онкологических больных [61]. Liu и др. установили на мышинной модели рака молочной железы, что повышение экспрессии тканевого фактора опухолевыми клетками является критически важным для прогрессирования опухоли [63]. Авторы продемонстрировали, что введение мышам высокоаффинного ингибитора активированного фактора VII значительно тормозит рост первичной опухоли [63].

Агрегация тромбоцитов как в норме, так и при патологии происходит через специфические тромбоцитарные интегрины $\alpha_{IIb}\beta_3$, связывающиеся с белком плазмы фибриногеном [64]. *In vitro* было показано, что блокирование интегринов $\alpha_{IIb}\beta_3$ снижает адгезию тромбоцитов к клеткам колоректального рака линий СТ26 и НСТ8 [65]. Эксперименты *in vivo* на мышинных моделях колоректального рака и меланомы показали, что антитела против фактора фон Виллебранда (лиганда тромбоцитарного рецептора GPIb и интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$) предотвращают развитие легочных метастазов на 53–64% и 45%, соответственно [65].

Особый интерес в последние годы вызывает еще один тромбоцитарный белок адгезии – подоплагин [66]. Подоплагин способен напрямую связываться с лектин-подобным рецептором С-типа 2 (CLEC-2), который экспрессируется на поверхности миелоидных клеток, НК-клеток, а также тромбоцитов [67]. Takagi и др. установили, что взаимодействие между подоплагинном, экспрессируемым на поверхности клеток рака легкого, и CLEC-2 тромбоцитов обеспечивает пролиферацию опухолевых клеток *in vitro*, а также способствует метастазированию *in vivo* в мышинной модели [68]. Подоплагин экспрессируется почти во всех типах опухолей мягких тканей, особенно в веретенноклеточной саркоме и миксоидных опухолях. Хи и др. с помощью ПЦР в реальном времени продемонстрировали высокую экспрессию мРНК подоплагина при миксоидной липосаркоме, недифференцированной липосаркоме, злокачественных опухолях из оболочки периферических нервов, рабдомиосаркоме, лейомиосаркоме, фибросаркоме,

хондросаркоме [69]. Экспрессия подопланина в опухолевых клетках обычно ассоциирована с плохим прогнозом, особенно при глиобластоме и плоскоклеточных карциномах кожи, пищевода, головы и шеи [70, 71]. Примечательно, что при раке шейки матки [72] и плоскоклеточном раке легкого [73–75] высокая экспрессия подопланина, напротив, связана с благоприятным прогнозом. Функция подопланина в опухолевых клетках до конца не ясна. Тем не менее есть данные о его роли в эпителиально-мезенхимальном переходе и метастазировании [76, 77]. В нескольких исследованиях была продемонстрирована связь между неблагоприятным клиническим прогнозом у пациентов с солидными опухолями и повышенной концентрацией растворимого подопланина в крови [78, 79].

УЧАСТИЕ НЕЙТРОФИЛОВ В РАЗВИТИИ ОПУХОЛИ

Значительную часть опухолевого микроокружения составляют клетки иммунной системы, среди которых наиболее многочисленной группой являются нейтрофилы, ответственные за развитие процесса воспаления и во многом влияющие на опухолевый иммунитет [80]. В свете микроокружения опухоли известна особая патологическая роль гибели нейтрофилов в результате гиперактивации, сопровождаемая “высвобождением” ДНК нейтрофилов – NET-оз (neutrophil extracellular traps, NETs - внеклеточные ДНК-ловушки нейтрофилов) [81]. Тромбоциты в целом модулируют микроокружение опухоли, хотя их роль здесь разнообразна и во многом еще не исследована [82], однако не вызывает сомнений, что тромбоциты индуцируют образование ДНК-ловушек нейтрофилов [83]. NET-ы в свою очередь индуцируют свертывание крови [84], а также приводят к васкуляризации опухоли и ее развитию [85].

Показано повышение уровня NET-ов в тканях и периферической крови у пациентов с солидными опухолями [86, 87]. NET-ы, образуя своеобразную разветвленную сеть, с одной стороны маскируют опухолевые клетки от иммунной защиты организма, а с другой стороны способствуют тромбозам, что приводит к неблагоприятным исходам [88]. Одним из механизмов стимуляции NET-ы является активация нейтрофилов цитокинами G-CSF и IL-8, секретируемыми опухолевыми клетками [89], а также в результате взаимодействия с активированными тромбоцитами [90].

Следует отметить, что существует два основных механизма образования NET-ов: прижизненный и “суицидальный”. Главное отличие данных механизмов заключается в том, что при прижизненном NET-озе нейтрофилы сохраняют свои фагоцитарные функции и целостность плазматической мембраны [91]. Показано, что прижизненный NET-оз индуцируют активированные липополисахаридами тромбоциты через активацию рецептора тромбоцитов TLR4 [92]. Данный процесс протекает быстрее классического “суицидального” NET-оза, и занимает от 5 до 60 минут. Однако точные механизмы, приводящие к данному типу NET-оза, изучены недостаточно. Классический “суицидальный” NET-оз сопровождается деконденсацией хроматина и активацией эластазы и миелопероксидазы. Данный механизм в основном является зависимым от активных форм кислорода и инициируется при активации НАДФН-оксидазы [93]. Прижизненный NET-оз не зависит от активных форм кислорода, однако зависит от деминазы PAD4, участвующей в цитрулировании гистонов, но при этом не происходит активации НАДФН-оксидазы [94, 95]. Механизмы NET-оза, индуцированного тромбоцитами и тромбоцитарными микровезикулами в микроокружении опухоли, а также влияние данного процесса на опухолевый рост, изучены недостаточно и требуют исследования зависимости от таких факторов как степень активации тромбоцитов, тип и стадия опухоли и других. Также остается невыясненным вопрос, как нейтрофилы и NET-ы, образованные в результате взаимодействия с активированными тромбоцитами и тромбоцитарными микровезикулами, влияют на процессы пролиферации опухолевых клеток различного типа.

РЕГУЛЯЦИЯ АНГИОГЕНЕЗА СО СТОРОНЫ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

Одним из ключевых элементов прогрессии опухоли является ее васкуляризация – образование новых сосудов, по которым опухоль может получать питательные вещества из крови. Баланс про- и анти-ангиогенных факторов управляет местом и временем образования новых сосудов, при этом ключевым проангиогенным фактором является фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [96]. α -гранулы активированных тромбоцитов содержат множество про-ангиогенных факторов роста, в том числе VEGF [97, 98], однако, для его использования необходимо инициировать секрецию тромбоцитами их гранул в окрестности опухоли. При этом необходимо создать направляющий неоангиогенез градиент, роль которого, как предполагают многие авторы, играет фибрин/фибриноген [37, 99], а градиент фибрина “считывают” именно тромбоциты [100]. Отсюда следует, что в точке роста новых сосудов может быть достаточно инициировать генерацию тромбина, которая приведет к активации тромбоцитов и созданию необходимого градиента фибрина.

Тромбин играет особую роль в активации опухолевых клеток [101], так как он не только обеспечивает превращение фибриногена в фибрин, но и активирует через PAR-рецепторы тромбоциты, эндотелиоциты и опухолевые клетки [25]. Известно, что опухолевые клетки способны синтезировать эндогенный тромбин [102], однако, основной путь – это генерация тромбина по пути тканевого фактора, экспрессирующегося большинством опухолевых клеток, эндотелием сосудов опухоли, различными клетками микроокружения опухоли, на мембранах продуцируемых опухолевыми клетками везикул, таких как экзосомы [8]. Тромбин вызывает пролиферацию самих опухолевых клеток и рост опухоли через PAR-1, что приводит к переходу покоящихся клеток в S фазу за счет снижения активности p27^{Kip1} и стимуляции Skp2 и циклинов D и A [103], однако, пролиферация подавляется при высоких концентрациях тромбина [104, 105]. Кроме воздействия на клеточный цикл PAR-1 также стимулирует подвижность опухолевых клеток и их защиту от апоптоза [106].

Во множестве исследований было показано, что высокая экспрессия тканевого фактора клетками опухоли коррелирует с высокой плотностью сосудов в опухоли [8]. Было показано [107], что фибробласты человека экспрессируют повышенный уровень VEGF при активации клеток тромбином или FXa через PAR-рецепторы, инициирующие кальциевую сигнализацию и активацию пути протеинкиназы C [108]. Этот путь зависит также от присутствия фактора роста тромбоцитарного происхождения (PDGF), также секретируемого из α -гранул тромбоцитов [109]. Клетки опухоли экспрессируют VEGF по аналогичному механизму через PAR-зависимую и PDGF-зависимую сигнализацию [110]. Исследования *in vitro* и *in vivo* показали взаимосвязь между повышенной экспрессией PAR-1 опухолевыми клетками и их инвазивным и метастатическим потенциалом, а в клинических исследованиях для некоторых опухолей экспрессия PAR-1 служила независимым неблагоприятным прогностическим маркером общей выживаемости и местного рецидивирования опухоли [111–113]. В частности, при прививании нокаутным по PAR-1 мышам опухоли у трансгенных животных рост опухоли происходил медленнее, чем у животных дикого типа, хотя пальпируемые новообразования появлялись в одно и то же время [114].

Кроме проангиогенного тромбин может оказывать также и анти-ангиогенное действие: при активации тромбин отщепляет от тромбоцитарного рецептора PAR-1 пептид парстатин, а от коллагена межклеточного матрикса – эндостатин, которые подавляют рост опухоли и васкуляризацию [115, 116]. Кроме того, тромбоцитарные гранулы содержат и антиангиогенные факторы и пептиды [117], в том числе эндостатин, подавляющие рост сосудов [118]. Таким образом, вопрос, как опухолевые клетки используют тромбоциты для стимуляции неоангиогенеза, остается открытым.

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ И ТРОМБОЦИТЫ

Выживание циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) в кровотоке имеет решающее значение для метастазирования [119]. Не более 0.1% ЦОК выживает в кровотоке более 24 часов, а время полужизни одиночных циркулирующих опухолевых клеток составляет примерно 1 час [120]. Комплексы циркулирующих опухолевых клеток с тромбоцитами, обнаруживаемые как в мышинных моделях [121–123], так и *in vivo* [124], как предполагается, могут играть роль в защите ЦОК от клеток иммунной системы [121, 125].

Кроме того, известно, что на поверхности многих опухолевых клеток снижена экспрессия главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса [126], что позволяет им избежать уничтожения цитотоксическими Т-лимфоцитами [123]. Placke и др. установили *in vitro*, что при со-инкубации тромбоцитов с клетками различных опухолей происходит перенос молекул МНС I класса на поверхность опухолевых клеток, что было подтверждено электронной микроскопией [127]. Таким образом было установлено, что благодаря взаимодействию с тромбоцитами опухолевые клетки способны приобретать “псевдонормальный” фенотип, экспрессировать на своей поверхности МНС I класса и тем самым “ускользнуть” от распознавания NK-клетками.

Кроме того, установлена роль секретируемого тромбоцитами TGF- β в ингибировании противоопухолевой активности NK-клеток [128]. Корр и др. продемонстрировали, что инкубация NK-клеток с TGF- β , секретируемым тромбоцитами как после взаимодействия с опухолевыми клетками линии HCT116 (колоректальный рак), так и после стимуляции тромбоцитов “классическими” активаторами (коллагеном и тромбином), способствует снижению цитотоксичности NK-клеток, уменьшению продукции интерферона альфа и мобилизации гранул [128]. Полученные результаты подтверждают способность тромбоцитов способствовать метастазированию опухолевых клеток путем подавления иммунного ответа.

Таким образом, данные, полученные *in vitro* и *in vivo* свидетельствуют о том, что взаимодействия тромбоцитов с опухолевыми клетками играют важную роль в развитии и прогрессировании онкологических заболеваний.

УЧАСТИЕ МИКРОВЕЗИКУЛ В РАЗВИТИИ ОПУХОЛИ

Внеклеточные везикулы – общий термин, используемый для обозначения трех типов везикул: микрочастиц, экзосом и апоптотических телец [51]. Микровезикулы представляют собой небольшие (диаметром от 50 до 1000 нм) мембранные пузырьки, которые отделяются от клеток под действием различных стимулов, во время апоптоза или вследствие опухолевой трансформации [51]. Одной из главных функций микровезикул является обеспечение межклеточной коммуникации [129].

Nilsson и соавт. [130] описали прямой захват РНК тромбоцитами, коинкубированными с микровезикулами опухолевых клеток. Показано, что в тромбоцитах здоровых доноров после инкубации с микровезикулами клеток глиобластомы была обнаружена мРНК мутантного EGFRvIII (мутантного варианта гена мембранного рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), который наблюдается при глиобластоме [131]).

Показано увеличение содержания тромбоцитарных микровезикул в плазме крови при онкологических заболеваниях, однако, их роль в прогрессировании опухоли противоречива и остается до конца неизученной [132, 133]. С одной стороны, тромбоцитарные микровезикулы содержат адгезионные молекулы и рецепторный аппарат тромбоцитов, а также ряд цитокинов (PDGF, bFGF и VEGF), участвующих в ангиогенезе и метастазировании опухоли [132, 134]. С другой стороны, микровезикулы тромбоцитов содержат малые интерферирующие РНК (микроРНК), участвующие в регуляции онкогенов и опухолевых супрессоров. Показано, что тромбоцитарные микровезикулы

проникают в опухоль, перенося содержащиеся в них микроРНК в опухолевые клетки [135–137]. В зависимости от типа опухоли микроРНК, содержащиеся в тромбоцитарных микровезикулах (микроРНК-155, микроРНК-233, микроРНК-195, микроРНК24, микроРНК27 и др.), могут оказывать как позитивное, так и негативное действие на прогрессирование опухоли и рассматриваться в качестве диагностических и прогностических маркеров онкологических заболеваний [138, 139]. Так, показано, что микроРНК-24, переносимая с помощью тромбоцитарных микровезикул в опухолевые клетки карциномы легкого, индуцирует апоптоз за счет супрессии гена mt-ND2 (НАДФН-дегидрогеназа) и малой РНК Snora-75 [135], а микроРНК-223 способствует опухолевой инвазии за счет супрессии гена EPB41L3 при данной патологии [137].

Таким образом, можно считать, что микровезикулы являются универсальным механизмом “общения” между клетками крови. Так как тромбоциты являются безъядерными клетками, *de novo* синтез белков в них зависит от мРНК состава, унаследованного от мегакариоцитов – с течением времени количество мРНК в тромбоцитах уменьшается, что является одним из признаков их старения [140]. Было продемонстрировано, что полученные из микровезикул мРНК также могут приводить к синтезу белков в тромбоцитах, которые не присутствуют в тромбоцитах здоровых доноров [141]. Данный механизм используется клетками опухолей для “обучения” тромбоцитов [142]. Также клетки опухолей способны индуцировать альтернативный сплайсинг пре-мРНК в тромбоцитах, что аналогично приводит к изменению белкового состава тромбоцитов [143]. “Обучение” тромбоцитов не зависит от непосредственного контакта тромбоцитов с клетками опухолей, что было продемонстрировано путем ингибирования активации основных адгезионных рецепторов тромбоцитов – Р-селектина, $\alpha_{IIb}\beta_3$, GPIIb [144].

“Обученные” опухолями тромбоциты дополнительно способствуют росту опухолей за счет секреции VEGF, PDGF и bFGF и индукции секреции данных факторов другими клетками [142]. При увеличении концентрации данных факторов в области локализации опухоли создается среда, благоприятная для роста опухоли [145].

“Обученные” опухолями тромбоциты являются перспективным биомаркером в контексте онкологических заболеваний [142, 146]. Показано, что анализ транскриптома тромбоцитов может с вероятностью в 96% указать на наличие, а с вероятностью 71% – местоположение опухоли, а также на степень ее развития [143]. В настоящее время предложен первый протокол по исследованию тромбоцитарного транскриптома в целях диагностики онкологических заболеваний. “Обученные” опухолями тромбоциты могут быть использованы для мониторинга эффективности терапии рака – при терапии пациента кризотинибом было показано снижение EML4-ALK транскриптов в циркулирующих тромбоцитах [144]. Так как средний срок жизни тромбоцитов составляет 7–10 дней, транскрипты онкологического происхождения могут накапливаться в тромбоцитах, будучи защищенными от присутствующих в плазме крови РНК-аз [142–144]. Таким образом, анализ транскриптома тромбоцитов может быть использован в качестве теста, отражающего динамику развития опухоли наиболее точно [147].

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НА ТРОМБОЦИТЫ ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Таким образом, тромбоциты являются потенциальной мишенью при противоопухолевой терапии, что, естественно, привело к множеству клинических и доклинических исследований применения антитромбоцитарных препаратов при онкологических заболеваниях [148]. Ретроспективный анализ 539 онкологических больных, перенесших установку порта, показал, что у 19% наблюдалось по крайней мере одно осложнение, при этом более низкая частота осложнений наблюдалась у пациентов, получавших

терапевтические антикоагулянты или антиагреганты [149]. Антиагрегантная терапия может предотвратить микрометастазы внутрипеченочных клеток холангиокарциномы путем ингибирования активации тромбоцитов и образования внеклеточных ловушек нейтрофилов [150]. Сочетание антитромбоцитарных препаратов, ацетилсалициловой кислоты и АДФ-азы АРТ102 может значительно уменьшить метастазы рака молочной железы и меланомы в кости у мышей с меньшим количеством кровотечений, чем наблюдалось при ингибировании тромбоцитарных интегринов [151]. Сочетание дипиридамола и RA-233 приводило к значительному уменьшению метастазирования у голых мышей [152]. Однако, за исключением аспирина, для которого большинство исследований говорят о положительных результатах, клинические данные о положительном эффекте антитромбоцитарных препаратов при раке все еще в значительной степени недостаточны [153–155].

Одним из важных ограничений антитромбоцитарной, как и антикоагулянтной, терапии у онкологических больных является риск кровотечений, особенно возрастающий в сочетании с тромбоцитопенией, возникающей при некоторых видах онкологии [156]. В свете этого новые мишени для антитромбоцитарной терапии – GPIIb/IIIa [65], GPVI [157] и PAR [112] в перспективе могут быть решением данного вопроса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тромбоциты – клеточные фрагменты мегакариоцитов, образующие агрегат в месте повреждения сосуда, задействованы в прогрессии онкологических заболеваний. В настоящее время роль тромбоцитов в онкологии считается скорее негативной. Опухолевые клетки могут напрямую взаимодействовать с тромбоцитами через пары P-селектин-PSGL-1, CD40L-CD40, CLEC-2-подоплаин, $\alpha_{IIb}\beta_3$ -фибриноген-Мас-1 и др., вызывая их агрегацию и активацию в месте контакта опухоли с кровотоком. Активация тромбоцитов может приводить к рак-ассоциированному тромбозу как напрямую, так и через индукцию образования ДНК-ловушек нейтрофилов микроокружения опухоли. Кроме того, при активации тромбоциты секретируют множество факторов роста, стимулирующих пролиферацию клеток опухоли, а также ключевые проангиогенные факторы – VEGF и PDGF, суммарно сдвигающие онкологический процесс во II–III стадию. Считается, что способность клеток опухоли образовывать гетероагрегаты с тромбоцитами является определяющей для выживания циркулирующих опухолевых клеток в кровотоке и метастазирования через кровь. Кроме непосредственного контакта опухоль индуцирует активацию тромбоцитов как минимум двумя путями: через плазменное звено свертывания, запускаемое тканевым фактором на поверхности опухолевых клеток, и через взаимный обмен микровезикулами, содержащими различные РНК (рис. 1).

Несмотря на то, что ингибирование активации тромбоцитов при онкологических заболеваниях было предложено и апробировано еще полвека назад, до сих пор нет однозначности в использовании антитромбоцитарной терапии при онкологии. В первую очередь это связано с возникновением кровотечений даже при постоянном приеме самого безопасного из существующих антиагрегантов – аспирина на фоне нормального тромбоцитарного гемостаза.

Таким образом, в настоящее время нет сомнений, что опухоль активно “использует” тромбоциты в процессе своего развития, поэтому воздействие на тромбоциты могло бы быть перспективной мишенью при ведении онкологических больных. Однако большое количество “черных пятен” в нашем представлении о ежедневном функционировании тромбоцитов в физиологической ситуации не дает полноценно оценить роль тромбоцитов в онкологических заболеваниях и предложить персонализированные подходы к подбору антитромбоцитарной и/или антикоагулянтной терапии.

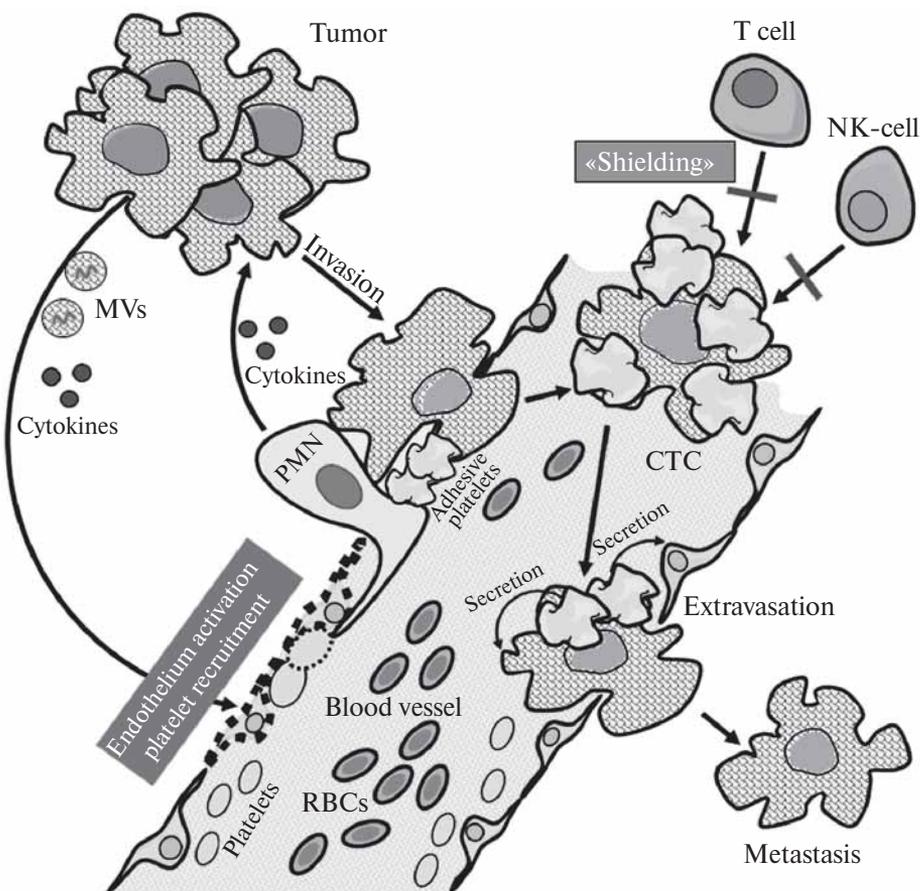


Рис. 1. Схема участия тромбоцитов в метастазировании опухоли. Под действием микроокружения опухоль (Tumor) секретирует цитокины (Cytokines) и микровезикулы (MVs), действующие на эндотелий и приводящие к его активации и рекрутированию тромбоцитов (platelets) в окрестность опухоли. Аггезия и активация тромбоцитов и эндотелия (показана пунктирным контуром) приводит к рекрутированию лейкоцитов (PMN), их экстравазации, секреции цитокинов и факторов роста активированными тромбоцитами и лейкоцитами и стимуляции инвазии опухолевой клетки в сосуд. В сосуде к опухолевой клетке адгезируют тромбоциты, и она становится циркулирующей опухолевой клеткой (CTC), защищенной (“Shielding”) от распознавания иммунной системой (T cell, NK-cell). В месте экстравазации также локализуются тромбоциты, секретирующие содержимое своих гранул (secretion), что способствует экстравазации опухолевой клетки и ее пролиферации на новом месте – образованию метастаза (Metastasis).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств Белорусского Республиканского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № Б23РНФ-162) и Российского научного фонда (проект № 23-45-10039). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

 КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и анализ литературы (А.Н.С. и Е.В.Ш.), сбор данных (А.Н.С., И.П.Т., С.А.К., Е.В.Ш.), написание и редактирование манускрипта (А.Н.С., И.П.Т., С.А.К., Е.В.Ш.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F* (2019) Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer* 144: 1941–1953.
<https://doi.org/10.1002/ijc.31937>
2. *Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, Stein KD, Alteri R, Jemal A* (2016) Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 66: 271–289.
<https://doi.org/10.3322/caac.21349>
3. *Fernandes CJ, Morinaga LTK, Alves JL, Castro MA, Calderaro D, Jardim CVP, Souza R* (2019) Cancer-associated thrombosis: The when, how and why. *Eur Respir Rev* 28: 1–11.
<https://doi.org/10.1183/16000617.0119-2018>
4. *Khorana AA* (2009) Cancer and thrombosis: Implications of published guidelines for clinical practice. *Ann Oncol* 20: 1619–1630.
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdp068>
5. *Lee AYY, Levine MN* (2003) Venous thromboembolism and cancer: Risks and outcomes. *Circulation* 107: 17–21.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000078466.72504.AC>
6. *Falanga A, Marchetti M* (2023) Cancer-associated thrombosis: enhanced awareness and pathophysiologic complexity. *J Thromb Haemost* 21: 1397–1408.
<https://doi.org/10.1016/j.jth.2023.02.029>
7. *Sharma D, Brummel-Ziedins KE, Bouchard BA, Holmes CE* (2014) Platelets in tumor progression: A host factor that offers multiple potential targets in the treatment of cancer. *J Cell Physiol* 229: 1005–1015.
<https://doi.org/10.1002/jcp.24539>
8. *Коваленко ТА, Пантелеев МА, Свешникова АН* (2019) Роль тканевого фактора в метастазировании, неоангиогенезе и гемостазе при онкологических заболеваниях. *Онкогематология* 14: 70–85. [*Kovalenko TA, Pantelev MA, Svshnikova AN* (2019) The role of tissue factor in metastasising, neoangiogenesis and hemostasis in cancer. *Oncohematology* 14: 70–85. (In Russ)].
<https://doi.org/10.17650/1818-8346-2019-14-2-70-85>
9. *Machlus KR, Thon JN, Italiano JE* (2014) Interpreting the developmental dance of the megakaryocyte: A review of the cellular and molecular processes mediating platelet formation. *Br J Haematol* 165: 227–236.
<https://doi.org/10.1111/bjh.12758>
10. *Laki K* (1972) Our ancient heritage in blood clotting and some of its consequences. *Ann N Y Acad Sci* 202: 297–307.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1972.tb16342.x>
11. *Филькова АА, Пантелеев МА, Свешникова АН* (2019) Обратимая агрегация тромбоцитов в присутствии ионов кальция: механизмы и потенциальная значимость. *Вопр гематол/онкол и иммунопатол в педиатр* 18: 120–129. [*Filkova AA, Pantelev MA, Svshnikova AN* (2019) Reversible platelet aggregation in the presence of calcium ions: mechanisms and potential value. *Pediatr Hematol/Oncol Immunopathol* 18(3): 120–129. (In Russ)].
<https://doi.org/10.24287/1726-1708-2019-18-3-120-129>
12. *Svshnikova A, Stepanyan M, Pantelev M* (2021) Platelet functional responses and signalling: the molecular relationship. Part 1: responses. *SBP Reports* 1: 20.
<https://doi.org/10.52455/sbp.01.202101014>
13. *Golebiewska EM, Poole AW* (2015) Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev* 29: 153–162.
<https://doi.org/10.1016/j.blre.2014.10.003>
14. *Lood C, Amisten S, Gullstrand B, Jönsen A, Allhorn M, Truedsson L, Sturfelt G, Erlinge D, Bengtsson AA* (2010) Platelet transcriptional profile and protein expression in patients with systemic lupus erythematosus: Up-regulation of the type I interferon system is strongly associated with vascular disease. *Blood* 116: 1951–1957.
<https://doi.org/10.1182/blood-2010-03-274605>

15. *Boilard E, Nigrovic PA, Larabee K, Watts GFM, Coblyn JS, Weinblatt ME, Massarotti EM, Remold-O'Donnell E, Farndale RW, Ware J, Lee DM* (2010) Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent microparticle production. *Science* 327: 580–583.
<https://doi.org/10.1126/science.1181928>
16. *Best MG, Vancura A, Wurdinger T* (2017) Platelet RNA as a circulating biomarker trove for cancer diagnostics. *J Thromb Haemost* 15: 1295–1306.
<https://doi.org/10.1111/jth.13720>
17. *Martyanov A, Panteleev M* (2021) Platelet functional responses and signalling: the molecular relationship. Part 2: receptors. *SBP Rep* 1: 13–30.
<https://doi.org/10.52455/sbpr.01.202103013>
18. *Sveshnikova A* (2021) Hubs and Webs in Platelet IntraCell. Signal. *SBP Rep* 1: 31–32.
<https://doi.org/10.52455/sbpr.01.202103014>
19. *Подоплелова НА, Сулимов ВВ, Тацилова АС, Ильин ИС, Пантелеев МА, Леденева ИВ, Шихалиев ХС* (2020) Свертывание крови в XXI веке: новые знания, методы и перспективы для терапии. *Вопр гематол/онкол и иммунопатол в педиатр* 19: 139–157. [*Podoplelova NA, Sulimov VB, Ilin IS, Tashilova AS, Panteleev MA, Ledeneva IV, Shikhaliev KS* (2020) Blood coagulation in the 21st century: existing knowledge, current strategies for treatment and perspective. *Pediatr Hematol/Oncol Immunopathol* 19: 139–157. (In Russ)].
<https://doi.org/10.24287/1726-1708-2020-19-1-139-157>
20. *Shibeko AM, Panteleev MA* (2016) Untangling the complexity of blood coagulation network: Use of computational modelling in pharmacology and diagnostics. *Brief Bioinform* 17: 429–439.
<https://doi.org/10.1093/bib/bbv040>
21. *Matafonov A, Cheng Q, Geng Y, Verhamme IM, Umunakwe O, Tucker EI, Sun MF, Serebrov V, Gruber A, Gailani D* (2013) Evidence for factor IX-independent roles for factor XIa in blood coagulation. *J Thromb Haemost* 11: 2118–2127.
<https://doi.org/10.1111/jth.12435>
22. *Meijers JCM* (2009) Feedback controversy stops here. *Blood* 114: 235.
<https://doi.org/10.1182/blood-2009-04-217117>
23. *Бутылин АА, Пантелеев МА, Атауллаханов ФИ* (2007) Пространственная динамика свертывания крови. *Рос хим журн* 51: 45–50. [*Butylin AA, Panteleev MA, Ataulakhanov FI* (2007) Spatial dynamics of blood coagulation. *Russ Chem J* 51: 45–50. (In Russ)].
24. *Podoplelova NA, Nechipurenko DY, Ignatova AA, Sveshnikova AN, Panteleev MA* (2021) Procoagulant platelets: mechanisms of generation and action. *Hämostaseologie* 41: 146–153.
<https://doi.org/10.1055/a-1401-2706>
25. *Sveshnikova AN, Balatskiy AV, Demianova AS, Shepelyuk TO, Shakhidzhanov SS, Balatskaya MN, Pichugin AV, Ataulakhanov FI, Panteleev MA* (2016) Systems biology insights into the meaning of the platelet's dual-receptor thrombin signaling. *J Thromb Haemost* 14: 2045–2057.
<https://doi.org/10.1111/jth.13442>
26. *Gasic GJ, Gasic TB, Stewart CC* (1968) Antimetastatic effects associated with platelet reduction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 61: 46–52.
<https://doi.org/10.1073/pnas.61.1.46>
27. *Sylman JL, Boyce HB, Mitrugno A, Tormoen GW, Thomas I-C, Wagner TH, Lee JS, Leppert JT, McCarty OJT, Mallick P* (2018) A Temporal Examination of Platelet Counts as a Predictor of Prognosis in Lung, Prostate, and Colon Cancer Patients. *Sci Rep* 8: 6564.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-25019-1>
28. *Shirai T, Inoue O, Tamura S, Tsukiji N, Sasaki T, Endo H, Satoh K, Osada M, Sato-Uchida H, Fujii H, Ozaki Y, Suzuki-Inoue K* (2017) C-type lectin-like receptor 2 promotes hematogenous tumor metastasis and prothrombotic state in tumor-bearing mice. *J Thromb Haemost* 15: 513–525.
<https://doi.org/10.1111/jth.13604>
29. *Borsig L* (2008) The role of platelet activation in tumor metastasis. *Exp Rev Anticancer Ther* 8: 1247–1255.
<https://doi.org/10.1586/14737140.8.8.1247>
30. *Kaser A, Brandacher G, Steurer W, Kaser S, Offner FA, Zoller H, Theurl I, Widder W, Molnar C, Ludwiczek O, Atkins MB, Mier JW, Tilg H* (2001) Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood* 98: 2720–2725
<https://doi.org/10.1182/blood.v98.9.2720>
31. *Wan S, Lai Y, Myers RE, Li B, Hyslop T, London J, Chatterjee D, Palazzo JP, Burkart AL, Zhang K, Xing J, Yang H* (2013) Preoperative platelet count associates with survival and distant metastasis in surgically resected colorectal cancer patients. *J Gastrointest Cancer* 44: 293–304.
<https://doi.org/10.1007/s12029-013-9491-9>

32. Shimada H, Oohira G, Okazumi S, Matsubara H, Nabeya Y, Hayashi H, Takeda A, Gunji Y, Ochiai T (2004) Thrombocytosis associated with poor prognosis in patients with esophageal carcinoma. *J Am Coll Surg* 198: 737–741.
<https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2004.01.022>
33. Eggemann H, Ehrlicke J, Ignatov T, Fettke F, Semczuk A, Costa SD, Ignatov A (2015) Platelet count after chemotherapy is a predictor for outcome for ovarian cancer patients. *Cancer Invest* 33: 193–196.
<https://doi.org/10.3109/07357907.2015.1020384>
34. Giannakeas V, Kotsopoulos J, Brooks JD, Cheung MC, Rosella L, Lipscombe L, Akbari MR, Austin PC, Narod SA (2022) Platelet count and survival after cancer. *Cancers* 14: 549.
<https://doi.org/10.3390/cancers14030549>
35. Dovizio M, Ballerini P, Fullone R, Tacconelli S, Contursi A, Patrignani P (2020) Multifaceted functions of platelets in cancer: from tumorigenesis to liquid biopsy tool and drug delivery system. *Int J Mol Sci* 21: 9585.
<https://doi.org/10.3390/ijms21249585>
36. Jin DK, Shido K, Kopp H-G, Petit I, Shmelkov SV, Young LM, Hooper AT, Amano H, AVECILLA ST, Heissig B, Hattori K, Zhang F, Hicklin DJ, Wu Y, Zhu Z, Dunn A, Salari H, Werb Z, Hackett NR, Crystal RG, Lyden D, Rafii S (2006) Cytokine-mediated deployment of SDF-1 induces revascularization through recruitment of CXCR4+ hemangiocytes. *Nat Med* 12: 557–567.
<https://doi.org/10.1038/nm1400>
37. Kaiser R, Escaig R, Nicolai L (2023) Hemostasis without clot formation – how platelets guard the vasculature in inflammation, infection, and malignancy. *Blood* 142: 1413–1425.
<https://doi.org/10.1182/blood.2023020535>
38. Chater C, Bauters A, Beugnet C, M’Ba L, Rogosnitzky M, Zerbib P (2018) Intraplatelet vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor: new biomarkers in carcinoembryonic antigen-negative colorectal cancer? *Gastrointest Tumors* 5: 32–37.
<https://doi.org/10.1159/000486894>
39. Wood JM, Bold G, Buchdunger E, Cozens R, Ferrari S, Frei J, Hofmann F, Mestan J, Mett H, O’Reilly T, Persohn E, Rosel J, Schnell C, Stover D, Theuer A, Towbin H, Wenger F, Woods-Cook K, Menrad A, Siemeister G, Schirner M, Thierauch KH, Schneider MR, Drevs J, Martiny-Baron G, Totzke F (2000) PTK787/ZK 222584, a novel and potent inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases, impairs vascular endothelial growth factor-induced responses and tumor growth after oral administration. *Cancer Res* 60: 2178–2189.
40. Kim SJ, Uehara H, Yazici S, Langley RR, He J, Tsan R, Fan D, Killion JJ, Fidler IJ (2004) Simultaneous blockade of platelet-derived growth factor-receptor and epidermal growth factor-receptor signaling and systemic administration of paclitaxel as therapy for human prostate cancer metastasis in bone of nude mice. *Cancer Res* 64: 4201–4208.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-3763>
41. Hu Q, Hisamatsu T, Haemmerle M, Cho MS, Pradeep S, Rupaimoole R, Rodriguez-Aguayo C, Lopez-Berestein G, Wong STC, Sood AK, Afshar-Kharghan V (2017) Role of platelet-derived Tgfb1 in the progression of ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 23: 5611– 5621.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-3272>
42. Assoian RK, Sporn MB (1986) Type B transforming growth factor in human platelets. *J Cell Biol* 102: 1217–1223
43. Labelle M, Begum S, Hynes RO (2011) Direct signaling between platelets and cancer cells induces an epithelial-mesenchymal-like transition and promotes metastasis. *Cancer Cell* 20: 576–590.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.09.009>
44. Kalluri R, Weinberg RA (2009) The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 119: 1420–1428.
<https://doi.org/10.1172/JCI39104>
45. Radziwon-Balicka A, Santos-Martinez MJ, Corbalan JJ, O’Sullivan S, Treumann A, Gilmer JF, Radomski MW, Medina C (2014) Mechanisms of platelet-stimulated colon cancer invasion: Role of clusterin and thrombospondin 1 in regulation of the P38MAPK-MMP-9 pathway. *Carcinogenesis* 35: 324–332.
<https://doi.org/10.1093/carcin/bgt332>
46. Labelle M, Begum S, Hynes RO (2014) Platelets guide the formation of early metastatic niches. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111: E3053-3061.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1411082111>
47. Tang Y, Qian C, Zhou Y, Yu C, Song M, Zhang T, Min X, Wang A, Zhao Y, Lu Y (2023) Activated platelets facilitate hematogenous metastasis of breast cancer by modulating the PDGFR-β/COX-2 axis. *Science* 26: 107704.
<https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107704>

48. *Camerer E, Qazi AA, Duong DN, Cornelissen I, Advincula R, Coughlin SR* (2004) Platelets, protease-activated receptors, and fibrinogen in hematogenous metastasis. *Blood* 104: 397–401. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-02-0434>
49. *Drew DA, Cao Y, Chan AT* (2016) Aspirin and colorectal cancer: the promise of precision chemoprevention. *Nat Rev Cancer* 16: 173–186. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.4>
50. *Rachidi S, Metelli A, Riesenberger B, Wu BX, Nelson MH, Wallace C, Paulos CM, Rubinstein MP, Garrett-Mayer E, Hennig M, Bearden DW, Yang Y, Liu B, Li Z* (2017) Platelets subvert T cell immunity against cancer via GARP-TGFbeta axis. *Sci Immunol* 2: eaai7911. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aai7911>
51. *Plantureux L, Mège D, Crescence L, Dignat-George F, Dubois C, Panicot-Dubois L* (2018) Impacts of cancer on platelet production, activation and education and mechanisms of cancer-associated thrombosis. *Cancers* 10: 1–23. <https://doi.org/10.3390/cancers10110441>
52. *Boukerche H, Berthier-Vergnes O, Penin F, Tabone E, Lizard G, Bailly M, McGregor JL* (1994) Human melanoma cell lines differ in their capacity to release ADP and aggregate platelets. *Br J Haematol* 87: 763–772. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1994.tb06736.x>
53. *Heinmöller E, Weinel RJ, Heidtmann HH, Salge U, Seitz R, Schmitz I, Müller KM, Zirngibl H* (1996) Studies on tumor-cell-induced platelet aggregation in human lung cancer lines. *J Cancer Res Clin Oncol* 122: 735–744. <https://doi.org/10.1007/bf01209121>
54. *Sakai H, Suzuki T, Takahashi Y, Ukai M, Tauchi K, Fujii T, Horikawa N, Minamimura T, Tabuchi Y, Morii M, Tsukada K, Takeguchi N* (2006) Upregulation of thromboxane synthase in human colorectal carcinoma and the cancer cell proliferation by thromboxane A2. *FEBS Letters* 580: 3368–3374. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.05.007>
55. *Cathcart MC, Gately K, Cummins R, Kay E, O'Byrne KJ, Pidgeon GP* (2011) Examination of thromboxane synthase as a prognostic factor and therapeutic target in non-small cell lung cancer. *Mol Cancer* 10: 1–14. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-25>
56. *Kajita S, Ruebel KH, Casey MB, Nakamura N, Lloyd RV* (2005) Role of COX-2, thromboxane A2 synthase, and prostaglandin I 2 synthase in papillary thyroid carcinoma growth. *Mod Pathol* 18: 221–227. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800285>
57. *De Leval X, Benoit V, Delarge J, Julémont F, Masereel B, Piroette B, Merville MP, David JL, Dogné JM* (2003) Pharmacological evaluation of the novel thromboxane modulator BM-567 (II/II). Effects of BM-567 on osteogenic sarcoma-cell-induced platelet aggregation. *Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids* 68: 55–59. [https://doi.org/10.1016/S0952-3278\(02\)00235-1](https://doi.org/10.1016/S0952-3278(02)00235-1)
58. *Nie D, Lamberti M, Zacharek A, Li L, Szekeres K, Tang K, Chen Y, Honn KV* (2000) Thromboxane A2 regulation of endothelial cell migration, angiogenesis, and tumor metastasis. *Biochem Biophys Res Commun* 267: 245–251. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.1840>
59. *Carlsson K, Freskgård PO, Persson E, Carlsson U, Svensson M* (2003) Probing the interface between factor Xa and tissue factor in the quaternary complex tissue factor-factor VIIa-factor Xa-tissue factor pathway inhibitor. *Eur J Biochem* 270: 2576–2582. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2003.03625.x>
60. *MacKman N, Taubman M* (2009) Tissue factor: past, present, and future. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 29: 1986–1988. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.198929>
61. *Ruf W, Yokota N, Schaffner F* (2010) Tissue factor in cancer progression and angiogenesis. *Thromb Res* 125: 36–38. [https://doi.org/10.1016/s0049-3848\(10\)70010-4](https://doi.org/10.1016/s0049-3848(10)70010-4)
62. *Zarà M, Canobbio I, Visconte C, Canino J, Torti M, Guidetti GF* (2018) Molecular mechanisms of platelet activation and aggregation induced by breast cancer cells. *Cell Signal* 48: 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2018.04.008>
63. *Liu Y, Jiang P, Capkova K, Xue D, Ye L, Sinha SC, Mackman N, Janda KD, Liu C* (2011) Tissue factor-activated coagulation cascade in the tumor microenvironment is critical for tumor progression and an effective target for therapy. *Cancer Res* 71: 6492–6502. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-1145>

64. *Calvete JJ* (1995) On the structure and function of platelet integrin α IIb β 3, the fibrinogen receptor. *Proc Soc Exp Biol Med* 208: 346–360.
<https://doi.org/10.3181/00379727-208-43863A>
65. *Karpatkin S, Pearlstein E, Ambrogio C, Collier BS* (1988) Role of adhesive proteins in platelet tumor interaction in vitro and metastasis formation in vivo. *J Clin Invest* 81: 1012–1019.
<https://doi.org/10.1172/JCI113411>
66. *Zimmer G, Oeffner F, Von Messling V, Tschernig T, Gröne HJ, Klenk HD, Herrler G* (1999) Cloning and characterization of gp36, a human mucin-type glycoprotein preferentially expressed in vascular endothelium. *Biochem J* 341: 277–284.
<https://doi.org/10.1042/0264-6021:3410277>
67. *Suzuki-Inoue K, Inoue O, Ozaki Y* (2011) Novel platelet activation receptor CLEC-2: From discovery to prospects. *J Thromb Haemost* 9: 44–55.
<https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2011.04335.x>
68. *Takagi S, Sato S, Ohhara T, Takami M, Koike S, Mishima Y, Hatake K, Fujita N* (2013) Platelets promote tumor growth and metastasis via direct interaction between agrus/podoplanin and CLEC-2. *PLoS One* 8: 1–11.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073609>
69. *Xu Y, Ogose A, Kawashima H, Hotta T, Ariizumi T, Li G, Umezū H, Endo N* (2011) High-level expression of podoplanin in benign and malignant soft tissue tumors: Immunohistochemical and quantitative real-time RT-PCR analysis. *Oncol Rep* 25: 599–607.
<https://doi.org/10.3892/or.2011.1141>
70. *Renart J, Carrasco-Ramírez P, Fernández-Muñoz B, Martín-Villar E, Montero L, Yurrita MM, Quintanilla M* (2015) New insights into the role of podoplanin in epithelial–mesenchymal transition. In: *International review of cell and molecular biology*. Elsevier. 185–239.
71. *Ugorski M, Dziegiel P, Suchanski J* (2016) Podoplanin - a small glycoprotein with many faces. *Am J Cancer Res* 6: 370–386.
72. *Dumoff KL, Chu C, Xu X, Pasha T, Zhang PJ, Acs G* (2005) Low D2-40 immunoreactivity correlates with lymphatic invasion and nodal metastasis in early-stage squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Mod Pathol* 18: 97–104.
<https://doi.org/10.1038/modpathol.3800269>
73. *Ito T, Ishii G, Nagai K, Nagano T, Kojika M, Murata Y, Atsumi N, Nishiwaki Y, Miyazaki E, Kumamoto T, Ochiai A* (2009) Low podoplanin expression of tumor cells predicts poor prognosis in pathological stage IB squamous cell carcinoma of the lung, tissue microarray analysis of 136 patients using 24 antibodies. *Lung Cancer* 63: 418–424.
<https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2008.06.008>
74. *Shimada Y, Ishii G, Nagai K, Atsumi N, Fujii S, Yamada A, Yamane Y, Hishida T, Nishimura M, Yoshida J, Ikeda N, Ochiai A* (2009) Expression of podoplanin, CD44, and p63 in squamous cell carcinoma of the lung. *Cancer Sci* 100: 2054–2059.
<https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2009.01295.x>
75. *Suzuki H, Onimaru M, Koga T, Takeshita M, Yano T, Maehara Y, Nakamura S, Sueishi K* (2011) High podoplanin expression in cancer cells predicts lower incidence of nodal metastasis in patients with lung squamous cell carcinoma. *Pathol Res Pract* 207: 111–115.
<https://doi.org/10.1016/j.prp.2010.11.006>
76. *Martin-Villar E, Megias D, Castel S, Yurrita MM, Vilaró S, Quintanilla M* (2006) Podoplanin binds ERM proteins to activate RhoA and promote epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Sci* 119: 4541–4553.
<https://doi.org/10.1242/jcs.03218>
77. *Wicki A, Lehenbre F, Wick N, Hantusch B, Kerjaschki D, Christofori G* (2006) Tumor invasion in the absence of epithelial-mesenchymal transition: Podoplanin-mediated remodeling of the actin cytoskeleton. *Cancer Cell* 9: 261–272.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.03.010>
78. *Zhao X, Pan Y, Ren W, Shen F, Xu M, Yu M, Fu J, Xia L, Ruan C, Zhao Y* (2018) Plasma soluble podoplanin is a novel marker for the diagnosis of tumor occurrence and metastasis. *Cancer Sci* 109: 403–411.
<https://doi.org/10.1111/cas.13475>
79. *Sankiewicz A, Guszcz T, Mena-Hortelano R, Zukowski K, Gorodkiewicz E* (2016) Podoplanin serum and urine concentration in transitional bladder cancer. *Cancer Biomark* 16: 343–350.
<https://doi.org/10.3233/CBM-160572>
80. *Yang C, Wang Z, Li L, Zhang Z, Jin X, Wu P, Sun S, Pan J, Su K, Jia F, Zhang L, Wang H, Yu X, Shao X, Wang K, Qiu F, Yan J, Huang J* (2021) Aged neutrophils form mitochondria-dependent vital NETs to promote breast cancer lung metastasis. *J Immunother Cancer* 9: e002875.
<https://doi.org/10.1136/jitc-2021-002875>

81. Liu S, Wu W, Du Y, Yin H, Chen Q, Yu W, Wang W, Yu J, Liu L, Lou W, Pu N (2023) The evolution and heterogeneity of neutrophils in cancers: origins, subsets, functions, orchestrations and clinical applications. *Mol Cancer* 22: 148.
<https://doi.org/10.1186/s12943-023-01843-6>
82. Huong PT, Nguyen LT, Nguyen X-B, Lee SK, Bach D-H (2019) The role of platelets in the tumor-microenvironment and the drug resistance of cancer cells. *Cancers* 11: 240.
<https://doi.org/10.3390/cancers11020240>
83. Constantinescu-Bercu A, Grassi L, Frontini M, Salles-Crawley II, Woollard K, Crawley JT (2020) Activated α IIb β 3 on platelets mediates flow-dependent NETosis via SLC44A2. *eLife* 9: e53353.
<https://doi.org/10.7554/eLife.53353>
84. Thälén C, Hisada Y, Lundström S, Mackman N, Wallén H (2019) Neutrophil extracellular traps: villains and targets in arterial, venous, and cancer-associated thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 39: 1724–1738.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.119.312463>
85. Poto R, Cristinziano L, Modestino L, de Paulis A, Marone G, Loffredo S, Galdiero MR, Varricchi G (2022) Neutrophil extracellular traps, angiogenesis and cancer. *Biomedicines* 10: 431.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines10020431>
86. Li Y, Yang Y, Gan T, Zhou J, Hu F, Hao N, Yuan B, Chen Y, Zhang M (2019) Extracellular RNAs from lung cancer cells activate epithelial cells and induce neutrophil extracellular traps. *Int J Oncol* 55: 69–80.
<https://doi.org/10.3892/ijo.2019.4808>
87. Richardson JJR, Hendrickse C, Gao-Smith F, Thickett DR (2017) Neutrophil Extracellular trap production in patients with colorectal cancer in vitro. *Int J Inflam* 2017: 1–11.
<https://doi.org/10.1155/2017/4915062>
88. Palacios-Acedo AL, Mège D, Crescence L, Dignat-George F, Dubois C, Panicot-Dubois L (2019) Platelets, thrombo-inflammation, and cancer: collaborating with the enemy. *Front Immunol* 10: 1805.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01805>
89. Olsson AK, Cedervall J (2018) The pro-inflammatory role of platelets in cancer. *Platelets* 29: 569–573.
<https://doi.org/10.1080/09537104.2018.1453059>
90. Caudrillier A, Kessenbrock K, Gilliss BM, Nguyen JX, Marques MB, Monestier M, Toy P, Werb Z, Looney MR (2012) Platelets induce neutrophil extracellular traps in transfusion-related acute lung injury. *J Clin Invest* 122: 2661–2671.
<https://doi.org/10.1172/JCI61303>
91. Yang H, Biermann MH, Brauner JM, Liu Y, Zhao Y, Herrmann M (2016) New insights into neutrophil extracellular traps: mechanisms of formation and role in inflammation. *Front Immunol* 7: 302.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00302>
92. Clark SR, Ma AC, Tavener SA, McDonald B, Goodarzi Z, Kelly MM, Patel KD, Chakrabarti S, McAvoy E, Sinclair GD, Keys EM, Allen-Vercoe E, DeVinney R, Doig CJ, Green FHY, Kubes P (2007) Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med* 13: 463–469.
<https://doi.org/10.1038/nm1565>
93. Vorobjeva NV, Chernyak BV (2020) NETosis: molecular mechanisms, role in physiology and pathology. *Biochemistry* 85: 1178–1190.
<https://doi.org/10.1134/S0006297920100065>
94. Tatsiy O, McDonald PP (2018) Physiological stimuli induce PAD4-dependent, ROS-independent NETosis, with early and late events controlled by discrete signaling pathways. *Front Immunol* 9: 2036.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02036>
95. Kraaij T, Tengström FC, Kamerling SWA, Pusey CD, Scherer HU, Toes REM, Rabelink TJ, van Kooten C, Teng YKO (2016) A novel method for high-throughput detection and quantification of neutrophil extracellular traps reveals ROS-independent NET release with immune complexes. *Autoimmun Rev* 15: 577–584.
<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.02.018>
96. Dhar S, Sarkar T, Sa G (2022) Neoangiogenesis and immune-regulation: Two armour of VEGF in the tumor microenvironment. *J Breast Cancer Res* 2: 28–39.
<https://doi.org/10.46439/breastcancer.2.015>
97. Deppermann C, Kraft P, Volz J, Schuhmann MK, Beck S, Wolf K, Stegner D, Stoll G, Nieswandt B (2017) Platelet secretion is crucial to prevent bleeding in the ischemic brain but not in the inflamed skin or lung in mice. *Blood* 129: 1702–1706.
<https://doi.org/10.1182/blood-2016-12-750711>

98. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, Miron RJ (2016) Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Invest* 20: 2353–2360.
<https://doi.org/10.1007/s00784-016-1719-1>
99. Petersen MA, Ryu JK, Akassoglou K (2018) Fibrinogen in neurological diseases: mechanisms, imaging and therapeutics. *Nat Rev Neurosci* 19: 283–301.
<https://doi.org/10.1038/nrn.2018.13>
100. Nicolai L, Schiefelbein K, Lipsky S, Leunig A, Hoffknecht M, Pekayvaz K, Raude B, Marx C, Ehrlich A, Pircher J, Zhang Z, Saleh I, Marel A-K, Löf A, Petzold T, Lorenz M, Stark K, Pick R, Rosenberger G, Weckbach L, Uhl B, Xia S, Reichel CA, Walzog B, Schulz C, Zheden V, Bender M, Li R, Massberg S, Gaertner F (2020) Vascular surveillance by haptotactic blood platelets in inflammation and infection. *Nat Commun* 11: 5778.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-19515-0>
101. Ebrahimi S, Rahmani F, Behnam-Rassouli R, Hoseinkhani F, Parizadeh MR, Keramati MR, Khazaie M, Avan A, Hassanian SM (2017) Proinflammatory signaling functions of thrombin in cancer. *J Cell Physiol* 232: 2323–2329.
<https://doi.org/10.1002/jcp.25753>
102. Sloan AR, Lee-Poturski C, Hoffman HC, Harris PL, Elder TE, Richardson B, Kerstetter-Fogle A, Cioffi G, Schroer J, Desai A, Cameron M, Barnholtz-Sloan J, Rich J, Jankowsky E, Sen Gupta A, Sloan AE (2022) Glioma stem cells activate platelets by plasma-independent thrombin production to promote glioblastoma tumorigenesis. *Neuro-Oncol Adv* 4(1): vdac172.
<https://doi.org/10.1093/oaajnl/vdac172>
103. Green D, Karparkin S (2010) Role of thrombin as a tumor growth factor. *Cell Cycle* 9: 656–661.
<https://doi.org/10.4161/cc.9.4.10729>
104. Zain J, Huang Y-Q, Feng X, Nierodzik ML, Li J-J, Karparkin S (2000) Concentration-dependent dual effect of thrombin on impaired growth/apoptosis or mitogenesis in tumor cells. *Blood* 95: 3133–3138.
<https://doi.org/10.1182/blood.V95.10.3133>
105. Wang T (2012) The activation of protease-activated receptor 1 mediates proliferation and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells. *Oncol Rep* 28: 255–261.
<https://doi.org/10.3892/or.2012.1802>
106. Chang L-H, Chen C-H, Huang D-Y, Pai H-C, Pan S-L, Teng C-M (2011) Thrombin induces expression of twist and cell motility via the hypoxia-inducible factor-1 α translational pathway in colorectal cancer cells. *J Cell Physiol* 226: 1060–1068.
<https://doi.org/10.1002/jcp.22428>
107. Ollivier V, Chabbat J, Herbert JM, Hakim J, de Prost D (2000) Vascular endothelial growth factor production by fibroblasts in response to factor VIIa binding to tissue factor involves thrombin and factor Xa. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 1374–1381.
<https://doi.org/10.1161/01.ATV.20.5.1374>
108. Ollivier V, Bentolila S, Chabbat J, Hakim J, de Prost D (1998) Tissue factor-dependent vascular endothelial growth factor production by human fibroblasts in response to activated factor VII. *Blood* 91: 2698–2703.
https://doi.org/10.1182/blood.V91.8.2698.2698_2698_2703
109. Uusitalo-Jarvinen H, Kurokawa T, Mueller BM, Andrade-Gordon P, Friedlander M, Ruf W (2007) Role of protease activated receptor 1 and 2 signaling in hypoxia-induced angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27: 1456–1462.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.142539>
110. Wojtukiewicz MZ, Sierko E, Hempel D, Tucker SC, Honn KV (2017) Platelets and cancer angiogenesis nexus. *Cancer Metastas Rev* 36: 249–262.
<https://doi.org/10.1007/s10555-017-9673-1>
111. Wojtukiewicz MZ, Hempel D, Sierko E, Tucker SC, Honn KV (2015) Protease-activated receptors (PARs)—biology and role in cancer invasion and metastasis. *Cancer Metastas Rev* 34: 775–796.
<https://doi.org/10.1007/s10555-015-9599-4>
112. Liu X, Yu J, Song S, Yue X, Li Q (2017) Protease-activated receptor-1 (PAR-1): a promising molecular target for cancer. *Oncotarget* 8: 107334–107345.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.21015>
113. Adams GN, Sharma BK, Rosenfeldt L, Frederick M, Flick MJ, Witte DP, Mosnier LO, Harmel-Laws E, Steinbrecher KA, Palumbo JS (2018) Protease-activated receptor-1 impedes prostate and intestinal tumor progression in mice. *J Thromb Haemost* 16: 2258–2269.
<https://doi.org/10.1111/jth.14277>

114. Adams GN, Rosenfeldt L, Frederick M, Miller W, Waltz D, Kombrinck K, McElhinney KE, Flick MJ, Monia BP, Revenko AS, Palumbo JS (2015) Colon cancer growth and dissemination relies upon thrombin, stromal PAR-1, and fibrinogen. *Cancer Res* 75: 4235–4243.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-0964>
115. Gartaganis PS, Cotsiki M, Anastassiou ED, Tsopanoglou NE, Melachrinou MD (2020) Parstatin inhibits viability of human retinal pigment epithelium cells: an in vitro cytotoxicity study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 24: 5111–5117.
https://doi.org/10.26355/eurrev_202005_21204
116. Zhang Z, Liu X, Shen Z, Quan J, Lin C, Li X, Hu G (2021) Endostatin in fibrosis and as a potential candidate of anti-fibrotic therapy. *Drug Deliv* 28: 2051–2061.
<https://doi.org/10.1080/10717544.2021.1983071>
117. Parsons MEM, Szklanna PB, Guerrero JA, Wynne K, Dervin F, O'Connell K, Allen S, Egan K, Bennett C, McGuigan C, Gheveart C, Ni Ainle F, Maguire PB (2018) Platelet releasate proteome profiling reveals a core set of proteins with low variance between healthy adults. *Proteomics* 18: e1800219.
<https://doi.org/10.1002/pmic.201800219>
118. Etulain J, Mena HA, Negrotto S, Schattner M (2015) Stimulation of PAR-1 or PAR-4 promotes similar pattern of VEGF and endostatin release and pro-angiogenic responses mediated by human platelets. *Platelets* 26: 799–804.
<https://doi.org/10.3109/09537104.2015.1051953>
119. Kitamura T, Qian BZ, Pollard JW (2015) Immune cell promotion of metastasis. *Nat Rev Immunol* 15: 73–86.
<https://doi.org/10.1038/nri3789>
120. Ward MP, Kane LE, Norris LA, Mohamed BM, Kelly T, Bates M, Clarke A, Brady N, Martin CM, Brooks RD, Brooks DA, Selemidis S, Hanniffy S, Dixon EP, O'Toole SA, O'Leary JJ (2021) Platelets, immune cells and the coagulation cascade; friend or foe of the circulating tumour cell? *Mol Cancer* 20: 59.
<https://doi.org/10.1186/s12943-021-01347-1>
121. Gay LJ, Felding-Habermann B (2011) Contribution of platelets to tumour metastasis. *Nat Rev Cancer* 11: 123–134.
<https://doi.org/10.1038/nrc3004>
122. Gruber IV, Landenberger N, Staebler A, Hahn M, Wallwiener D, Fehm T (2013) Relationship between circulating tumor cells and peripheral T-cells in patients with primary breast cancer. *Anticancer Res* 33: 2233–2238
123. Caligiuri MA (2008) Human natural killer cells. *Blood* 112: 461–469.
<https://doi.org/10.1182/blood-2007-09-077438>
124. Jiang X, Wong KHK, Khankhel AH, Zeinali M, Reategui E, Phillips MJ, Luo X, Aceto N, Fachin F, Hoang AN, Kim W, Jensen AE, Sequist LV, Maheswaran S, Haber DA, Stott SL, Toner M (2017) Microfluidic isolation of platelet-covered circulating tumor cells. *Lab Chip* 17: 3498–3503.
<https://doi.org/10.1039/c7lc00654c>
125. Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV, La Jeunesse CM, Flick MJ, Kombrinck KW, Jirousková M, Degen JL (2005) Platelets and fibrin(ogen) increase metastatic potential by impeding natural killer cell-mediated elimination of tumor cells. *Blood* 105: 178–185.
<https://doi.org/10.1182/blood-2004-06-2272>
126. Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G (2006) Cancer despite immunosurveillance: Immunoselection and immunosubversion. *Nat Rev Immunol* 6: 715–727.
<https://doi.org/10.1038/nri1936>
127. Placke T, Örgel M, Schaller M, Jung G, Rammensee HG, Kopp HG, Salih HR (2012) Platelet-derived MHC class I confers a pseudonormal phenotype to cancer cells that subverts the antitumor reactivity of natural killer immune cells. *Cancer Res* 72: 440–448.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-1872>
128. Kopp HG, Placke T, Salih HR (2009) Platelet-derived transforming growth factor- β down-regulates NKG2D thereby inhibiting natural killer cell antitumor reactivity. *Cancer Res* 69: 7775–7783.
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-2123>
129. Bellingham SA, Guo BB, Coleman BM, Hill AF (2012) Exosomes: Vehicles for the transfer of toxic proteins associated with neurodegenerative diseases? *Front Physiol* 3: 1–13.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00124>
130. Nilsson RJA, Balaj L, Hulleman E, Van Rijn S, Pegtel DM, Walraven M, Widmark A, Gerritsen WR, Verheul HM, Vandertop WP, Noske DP, Skog J, Würdinger T (2011) Blood platelets contain tumor-derived RNA biomarkers. *Blood* 118: 3680–3683.
<https://doi.org/10.1182/blood-2011-03-344408>

131. Rutkowska A, Stoczyńska-Fidelus E, Janik K, Włodarczyk A, Rieske P (2019) EGFRvIII: An oncogene with ambiguous role. *J Oncol* 2019: 1092587. <https://doi.org/10.1155/2019/1092587>
132. Varon D, Shai E (2009) Role of platelet-derived microparticles in angiogenesis and tumor progression. *Discov Med* 8: 237–241
133. Rao AK, Rao DA (2012) Platelets signal and tumors take off. *Blood* 120: 4667–4668. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-09-457325>
134. Brill A, Dashevsky O, Rivo J, Gozal Y, Varon D (2005) Platelet-derived microparticles induce angiogenesis and stimulate post-ischemic revascularization. *Cardiovasc Res* 67: 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.04.007>
135. Michael JV, Wurtzel JGT, Mao GF, Rao AK, Kolpakov MA, Sabri A, Hoffman NE, Rajan S, Tomar D, Madesh M, Nieman MT, Yu J, Edelstein LC, Rowley JW, Weyrich AS, Goldfinger LE (2017) Platelet microparticles infiltrating solid tumors transfer miRNAs that suppress tumor growth. *Blood* 130: 567–580. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-11-751099>
136. Risitano A, Beaulieu LM, Vitseva O, Freedman JE (2012) Platelets and platelet-like particles mediate intercellular RNA transfer. *Blood* 119: 6288–6295. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-12-396440>
137. Liang H, Yan X, Pan Y, Wang Y, Wang N, Li L, Liu Y, Chen X, Zhang C-Y, Gu H, Zen K (2015) MicroRNA-223 delivered by platelet-derived microvesicles promotes lung cancer cell invasion via targeting tumor suppressor EPB41L3. *Mol Cancer* 14: 58. <https://doi.org/10.1186/s12943-015-0327-z>
138. Haneklaus M, Gerlic M, O'Neill LAJ, Masters SL (2013) miR-223: infection, inflammation and cancer. *J Intern Med* 274: 215–226. <https://doi.org/10.1111/joim.12099>
139. He J-F, Luo Y-M, Wan X-H, Jiang D (2011) Biogenesis of miRNA-195 and its role in biogenesis, the cell cycle, and apoptosis. *J Biochem Mol Toxicol* 25: 404–408. <https://doi.org/10.1002/jbt.20396>
140. Lebois M, Josefsson EC (2016) Regulation of platelet lifespan by apoptosis. *Platelets* 27: 497–504. <https://doi.org/10.3109/09537104.2016.1161739>
141. Gasecka A, Nieuwland R, Siljander PR-M (2019) 22 - Platelet-derived extracellular vesicles. In: Michelson ADBT-P. Fourth E (ed). Acad Press. 401–416.
142. Best MG, Sol N, Kooi I, Tannous J, Westerman BA, Rustenburg F, Schellen P, Verschueren H, Post E, Koster J, Ylstra B, Ameziane N, Dorsman J, Smit EF, Verheul HM, Noske DP, Reijneveld JC, Nilsson RJA, Tannous BA, Wesseling P, Wurdinger T (2015) RNA- seq of tumor-educated platelets enables blood-based pan-cancer, multiclass, and molecular pathway cancer diagnostics. *Cancer Cell* 28: 666–676. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.09.018>
143. Sjors GJG, Wurdinger T (2019) Tumor-educated platelets. *Blood* 133: 2359–2364. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-12-852830>
144. Best MG, Wesseling P, Wurdinger T (2018) Tumor-educated platelets as a noninvasive biomarker source for cancer detection and progression monitoring. *Cancer Res* 78: 3407–3412. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-0887>
145. Cho MS, Bottsford-Miller J, Vasquez HG, Stone R, Zand B, Kroll MH, Sood AK, Afshar-Kharghan V (2012) Platelets increase the proliferation of ovarian cancer cells. *Blood* 120: 4869–4872. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-06-438598>
146. Huber LT, Kraus JM, Ezić J, Wanli A, Groth M, Laban S, Hoffmann TK, Wollenberg B, Kestler HA, Brunner C (2023) Liquid biopsy: an examination of platelet RNA obtained from head and neck squamous cell carcinoma patients for predictive molecular tumor markers. *Explor Target Antitumor Ther* 4: 422. <https://doi.org/10.37349/etat.2023.00143>
147. Тесаков ИП, Мартыанов АА, Друй АЕ, Свешникова АН (2021) Анализ тромбоцитарной РНК: неинвазивный метод изучения экспрессии опухолевых генов. *Вопр гематол/онкокол и иммунопатол в педиатр* 20: 207–217. [Тесаков ИП, Мартыанов АА, Друй АЕ, Свешникова АН (2021) Analysis of platelet RNA: a non-invasive method for studying the expression of tumor genes. *Pediatr Hematol/Oncol Immunopathol* 20: 207–217. (In Russ)]. <https://doi.org/10.24287/1726-1708-2021-20-1-207-217>
148. Gresele P, Momi S, Malvestiti M, Sebastiano M (2017) Platelet-targeted pharmacologic treatments as anti-cancer therapy. *Cancer Metastas Rev* 36: 331–355. <https://doi.org/10.1007/s10555-017-9679-8>

149. Skelton WP, Franke AJ, Welniak S, Bosse RC, Ayoub F, Murphy M, Starr JS (2019) Investigation of complications following port insertion in a cancer patient population: a retrospective analysis. *Clin Med Insights Oncol* 13: 117955491984477. <https://doi.org/10.1177/1179554919844770>
150. Yoshimoto M, Kagawa S, Kajioka H, Taniguchi A, Kuroda S, Kikuchi S, Kakiuchi Y, Yagi T, Nogi S, Teraishi F, Shigeyasu K, Yoshida R, Umeda Y, Noma K, Tazawa H, Fujiwara T (2023) Dual antiplatelet therapy inhibits neutrophil extracellular traps to reduce liver micrometastases of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Lett* 567: 216260. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2023.216260>
151. Uluçkan Ö, Eagleton MC, Floyd DH, Morgan EA, Hirbe AC, Kramer M, Dowland N, Prior JL, Piwnica-Worms D, Jeong SS, Chen R, Weilbaecher K (2008) APT102, a novel ADPase, cooperates with aspirin to disrupt bone metastasis in mice. *J Cell Biochem* 104: 1311–1323. <https://doi.org/10.1002/jcb.21709>
152. Tzanakakis GN, Agarwal KC, Vezeridis MP (1993) Prevention of human pancreatic cancer cell-induced hepatic metastasis in nude mice by dipyridamole and its analog RA-233. *Cancer* 71: 2466–2471. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19930415\)71:8<2466::AID-CNCR2820710807>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19930415)71:8<2466::AID-CNCR2820710807>3.0.CO;2-Q)
153. Guillem-Llobat P, Dovizio M, Bruno A, Ricciotti E, Cufino V, Sacco A, Grande R, Alberti S, Arena V, Cirillo M, Patrono C, FitzGerald GA, Steinhilber D, Sgambato A, Patrignani P (2016) Aspirin prevents colorectal cancer metastasis in mice by splitting the crosstalk between platelets and tumor cells. *Oncotarget* 7: 32462–32477. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8655>
154. Gasic G, Gasic T, Murphy S (1972) Anti-metastatic effect of aspirin. *Lancet* 300: 932–933. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(72\)92581-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(72)92581-0)
155. Algra AM, Rothwell PM (2012) Effects of regular aspirin on long-term cancer incidence and metastasis: a systematic comparison of evidence from observational studies versus randomised trials. *Lancet Oncol* 13: 518–527. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70112-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70112-2)
156. Gresele P (2013) Antiplatelet agents in clinical practice and their haemorrhagic risk. *Blood Transfus* 11: 349–356. <https://doi.org/10.2450/2013.0248-12>
157. Andrews RK, Arthur JF, Gardiner EE (2014) Targeting GPVI as a novel antithrombotic strategy. *J Blood Med* 5: 59–68. <https://doi.org/10.2147/JBM.S39220>

The Role of Platelet Activation in the Development and Metastasis of Solid Tumors

A. N. Sveshnikova^{a, b, c, *}, I. P. Tesakov^b, S. A. Kuznetsova^b, and E. M. Shamova^d

^aCenter for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow, Russia

^bDmitry Rogachev National Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology, Moscow, Russia

^cLomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

^dInstitute of biophysics and cell engineering NAS of Belarus, Minsk, Belarus

*e-mail: a.sveshnikova@physics.msu.ru

The blood coagulation system is actively involved in the development of cancer. It is known that many solid tumors express tissue factor, a “trigger” of the cascade of plasma coagulation reactions, which leads to an increased risk of cancer-associated thrombosis and venous thrombosis in cancer patients. It has also long been known that platelets - small cellular fragments that are the basis of blood clots - play a critical role in metastasis by binding to the tumor cell after it enters the blood vessel, “shielding” it from the immune system and promoting the adhesion and extravasation of the tumor cell into tissues and the formation metastasis. In addition, platelets, being mobile “storehouses” of growth factors, are actively attracted and, in some cases, consumed by the tumor, which contributes to its development and vascularization. Platelet attraction occurs both through activation of the blood coagulation system in the tumor area and through exposure of the adhesive surface by the tumor. Activated in the tumor vicinity, platelets attract and induce neutrophil

activation and the formation of neutrophil extracellular traps (NETs), thereby modulating the tumor microenvironment. When activated, platelets are known to secrete a variety of growth factors that promote both tumor development and vascularization. In addition to direct interaction, platelets and tumor cells exchange mRNA, micro-RNA and other regulatory molecules through microvesicles, while platelets are containers for the spread of tumor genetic material (circulating nucleic acids) throughout the body. In this review, we consider the molecular mechanisms of platelet participation in the development and metastasis of solid tumors, and also discuss possible options for pharmacological interruption of this interaction.

Keywords: platelet, granulocyte, cell adhesion, solid tumor, metastasis, microvesicles, neutrophil DNA traps