

О. М. Пуськов, М. А. Мунько, Т. А. Карацуба

Вплив антикоагулянтів прямої дії на процеси метастазування

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: метастазування,
антикоагулянти прямої дії,
нефракціонований гепарин,
низькомолекулярні гепарини

Зв'язок між злоякісними новоутвореннями та тромбозом давно визнаний. Зараз можна казати, що це – двосторонній зв'язок. Розвиток пухлинної хвороби тісно пов'язаний з ризиком гіперкоагуляції й венозної тромбоемболії, а активація каскаду зсідання крові посилює проліферацію та метастазування пухлинних клітин [1, 2]. Метастазування визначається як розповсюдження злоякісних клітин первинної пухлини до віддалених ділянок. Метастази натепер становлять найбільшу проблему для лікування злоякісних новоутворень та є основною причиною смерті онкологічних хворих [3, 4].

В онкопацієнтів, в яких є ризик гіперкоагуляції, інфаркту, інсульту або схильність до тромбоутворення, застосовуються антикоагулянти. Численні дослідження показують, що антикоагулянти не тільки зменшують тромбоемболічні ускладнення, пов'язані з пухлинним ростом, а й покращують виживання, перешкоджаючи прогресуванню та метастазуванню [5–7].

Детальне вивчення антиметастатичної дії антикоагулянтів почалось у 1960–1970-х роках. Серед піонерських робіт цього напрямку слід відзначити експерименти В. Nagmar та співавт. [8] і Р. Hilgard та співавт. [9].

Дослідження гепарину щодо його протипухлинної й антиметастатичної активності відображено в оглядах S. M. Smorenburg та співавт. [10] та Н. Engelberg [11].

Серед антикоагулянтів прямої дії, крім гепарину, зараз широко використовуються нефракціонований гепарин (НФГ), низькомолекулярні гепарини (НМГ), ультранизькомолекулярні гепарини (УНМГ), гепариноїди та пероральні інгібітори Ха фактору.

Мета дослідження – аналіз та узагальнення даних літератури щодо антиметастатичної активності антикоагулянтів прямої дії (НФГ і НМГ).

Доклінічні дослідження антиметастатичної дії НФГ (UFH)

НФГ – це суміш глікозаміногліканів, що не була піддана фракціонуванню для отримання молекул з низькою молекулярною масою. Серед препаратів НФГ широко відомий Liquemin (Drossapharm AG, Швейцарія).

Антиметастатичну дію *in vitro* часто вивчають за допомогою оцінки впливу досліджуваної речовини (препарату) на ангиогенез, інвазію або міграцію пухлинних клітин.

Дію НФГ порівняно з НМГ ревіпарином на ангиогенез *in vitro* досліджено А. Collen та співавт. [12]. Отримані дані свідчать, що і НФГ, і ревіпарин однаково пригнічують (на 36–60 %) bFGF-індуковану проліферацію мікросудинних ендотеліальних клітин людини лінії HMVEC. До речі,

bFGF (або FGF-2) – основний фактор росту фібробластів [13], який нарівні з VEGF використовується для індукції проліферації.

Згодом R. J. Ludwig та співавтори показали, що НФГ інгібує ріст легневих метастазів у мишей і цей процес корелює зі здатністю інгібувати Р-селектин [14].

Вплив НФГ і гемцитабіну на метастазування раку підшлункової залози вивчено N. Tanі та співавторами [15]. Самцям мишей BALB/c інтрапортально вводились клітини аденокарциноми підшлункової залози людини лінії AsPC-1. НФГ виявляє антиметастатичну дію шляхом пригнічення ангиогенезу та інвазії пухлинних клітин. За одночасного введення НФГ і гемцитабіну отримані результати вказують на можливість синергічного ефекту.

Підсумовуючи наведені дані, слід зазначити, що НФГ проявляє *in vitro* й у тварин антиметастатичну активність, яка опосередковується пригніченням Р-селектину й ангиогенезу.

Доклінічні дослідження антиметастатичної дії НМГ (LMWH)

Вважають, що НМГ викликають більш передбачувану антикоагулянтну відповідь порівняно з гепарином і НФГ, тому не потрібний частий моніторинг для коригування дози [16]. Найявні натепер НМГ виготовляють шляхом деполімеризації НФГ, який отримують зі слизової оболонки кишечника свиней.

Далі детально розглянемо антиметастатичні ефекти таких НМГ, як тинзапарин, дальтепарин, надропарин, еноксапарин, ревіпарин і беміпарин.

Тинзапарин. А. Amirhosravi та співавтори показали, що тинзапарин у дозі 10 мг/кг підшкірно протягом 14 днів знижує в мишей метастазування меланоми B-16 у легені на 96 % [17].

У роботі M. Schlesinger та співавторів продемонстровано, що застосування тинзапарину сприяє повній блокаді рецепторів адгезії VLA-4 *in vitro* як на стимульованих клітинах меланоми B16F10, так і на нестимульованих B16F10-VLA-4kd [18]. Крім того отримано дані, що лікування мишей тинзапарином практично нівелює експериментальне метастазування клітин B16F10 і B16F10-VLA-4kd. Зроблено висновок, що сигнал передається через VLA-4/VCAM-1. VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) – молекула адгезії судинних клітин-1, білок, що входить до суперродини імуноглобулінів, який є посередником адгезії лейкоцитів та інших клітин; VLA-4 (very late antigen-4) – дуже пізній антиген-4, природний ліганд VCAM-1.

Пізніше X. P. Zhao та співавтори виявлено, що переважно VLA-4/VCAM-1 бере участь у прикріпленні клітин меланоми до фібробластів *in vitro* [19]. Фібробласти поряд з перицитами та макрофагами присутні в стінці судин. Отже, тинзапарин практично запобігає метастазуванню меланоми B-16, B16F10 і B16F10-VLA-4kd завдяки інгібуванню адгезії фібробластів до стінки судин переважно через VLA-4/VCAM-1.

Дальтепарин. M. Arce та співавтори вивчено вплив дальтепарину та фактору коагуляції Ха (FXa) на пухлинний ріст і метастазування [20]. Показано, що FXa збільшує метастази в легені, печінку, нирки та лімфатичні вузли клітин меланоми B16F10, уведених у хвостову вену дослідних мишей. За одночасного введення FXa та дальтепарину метастази в легенях значно зменшуються, а в інших органах не спостерігаються.

Терапевтичний потенціал дальтепарину оцінено на мишачій моделі кісткових метастазів раку молочної залози людини MDA-MB-231 [21].

Клітини MDA-MB-231 інокульовували в лівий шлуночок серця безтимишних мишей-самиць BALB/c nu/nu, яким вводили дальтепарин у дозі 5 мг/кг підшкірно. Результати дослідження показують, що дальтепарин пригнічує зниження ваги, зменшує площу остеолітичного ураження та метастази в кістках.

У мишей з карциномою легень Льюїс (LLC) дальтепарин і в меншому ступені НФГ інгібують як ріст пухлини, так і ангиогенез [22].

Таким чином, дальтепарин виявляє в експериментах на тваринах антиметастатичну активність щодо меланоми B16F10 і раку молочної залози MDA-MB-231 та протипухлинну й антиангіогенну дії відносно LLC.

Надропарин. С. J. Yu та співавт. продемонстровано *in vitro*, що надропарин (20 МО/мл) зменшує приблизно на 40 % інвазію, на 25 % міграцію та на 27 % адгезію клітин раку легень людини A549. За умов застосування концентрації 80 МО/мл ступінь цих ефектів виявився ще вищим [23].

Результати дослідження X. Zhuang та співавт. показують, що рентгенівське опромінення сприяє інвазії та міграції клітин раку легень людини A549 *in vitro*, тоді як надропарин (50 і 100 МО/мл) пригнічує цей ефект залежно від концентрації [24].

У досліджах В. Szende та співавт. вивчено активність надропарину щодо трьох моделей метастазування: 3LL-НН за внутрішньовенного введення, B-16 внутрішньостопної подушечки та 3LL-НН внутрішньоселезінкової моделі. Надропарин у дозі 57 МО/кг має суттєву антиметастатичну дію на моделі за внутрішньовенного введення. Лікування зі застосуванням 172 МО/кг надропарину призводить до сильного пригнічення легеневи метастазів на моделі внутрішньостопної подушечки, але є

неефективним щодо внутрішньоселезінкової моделі [25].

Як підсумок, надропарин чинить *in vitro* залежну від концентрації антиметастатичну дію щодо клітин раку легень людини A549 у широкому діапазоні 20–100 МО/мл, а також проявляє антиметастатичні ефекти стосовно карциноми легень 3LL-НН і меланоми B-16 у мишей.

Еноксапарин. S. Djaafar та співавт. показано, що клітини колоректальної карциноми миші MCA38 експресують гепараназу, і на них впливає лікування еноксапарином. Для імітації гематогенної фази дисемінації пухлинних клітин під час метастатичного процесу клітини MCA38 вводились у ворітну вену. Еноксапарин на 76 % запобігає зростанню метастазів у печінці [26].

Дослідженнями Y. Pan та співавт. *in vitro* виявлено, що еноксапарин посилює протипухлинну та антиміграційну активність гефітинібу щодо раку легень людини A549 і H1975 шляхом пригнічення експресії DOCK1, активності Akt і фосфорилування віментину [27]. DOCK1 – це фосфопротейн, що задіяний в апоптозі, а серин/треонінова протеїнкіназа Akt є ключовим регулятором апоптозу [28].

У роботі S. A. Mousa та співавт. продемонстровано, що еноксапарин у щодобовій дозі 10 мг/кг протягом 14 днів інгібує метастазування меланоми B16F10 у легені на 70 % [29].

Результати роботи F. V. Ataabadi та співавт. свідчать, що одночасна доставка дакарбазину та еноксапарину за допомогою наночастинок хітозану може посилити протимеланомний ефект дакарбазину [30]. Автори вважають, що еноксапарин може запобігати метастазуванню меланоми B16F10 завдяки своїй антиангіогенній активності.

Отже, еноксапарин має значний антиметастатичний потенціал щодо колоректальної карциноми, раку легень і меланоми, а розробка комплексних засобів типу цитостатик + еноксапарин або цитостатик + еноксапарин + носій є перспективним напрямом створення антиметастатичних препаратів.

Ревіпарин. А. Collen та співавт. показано *in vitro*, що ревіпарин пригнічує ангиогенез [12]. М. Pross та співавт. вивчали антиметастатичні ефекти ревіпарину *in vitro* з використанням клітин аденокарциноми СС-531 і виявили значне інгібування адгезії й інвазії пухлинних клітин ревіпарином у концентраціях 0,55; 1,10 і 2,76 мг/мл [31]. Аденокарцинома СС-531 характеризується як модель колоректального раку в щурів з метастазами в печінку [32].

Крім того в щурів після інтраперитонеальної трансплантації СС-531 вага пухлини значно зменшувалася порівняно з контролем за використанням ревіпарину в дозах 4,0 і 10,0 мг/кг, але цього ефекту не було в дозах 0,5 і 2,0 мг/кг. Зменшення метастазування спостерігалось в усіх групах лікування. Ці ефекти є найвираженішими після підшкірного або комбінованого (інтраперитонеального й підшкірного) введення [33].

Як підсумок, ревіпарин виявляє значну антиметастатичну дію щодо колоректальної аденокарциноми СС-531 *in vitro*, інгібуючи адгезію, інвазію та ангиогенез, і має помірний антиметастатичний ефект у тварин.

Беміпарин. А. Vignoli та співавт. показано, що беміпарин ефективний у запобіганні ангиогенезу на моделях лейкемії, раку легень і раку молочної залози людини *in vitro*. Беміпарин також інгібує ангиогенну відповідь, що викликана VEGF і FGF-2 [34].

До того ж встановлено, що беміпарин *in vitro* пригнічує інвазію, міграцію та колонієутворення клітин ліній HerG2 і MIAРaCa-2 [35].

Отже, беміпарин проявляє антиметастатичні властивості щодо клітин лейкемії, раку легень, раку молочної залози, гепатоцелюлярної карциноми та раку підшлункової залози людини *in vitro*.

Клінічні дослідження щодо протипухлинної й антиметастатичної активності НФГ і НМГ

У цьому огляді ми детально не розглядаємо клінічні дослідження застосування НФГ і НМГ щодо онкологічних хворих з венозною тромбоемболією, зокрема з метастазуючими пухлинами, хоча їх проведено чимало. З досить широких клінічних випробувань звернемо увагу на результати FAMOUS [36], PRODIGE [37], FRAGMATIC [38] та деяких ін. [39–41]. Вони, на жаль, не настільки обнадійливі, як результати дослідів *in vitro* та на тваринах.

Порівняльну характеристику окремих клінічних досліджень надано в оглядах J. Wang та співавт. [42], М. Simka та співавт. [43], К. Z. Thein та співавт. [44].

Основні механізми антиметастатичної дії НФГ і НМГ

Деякі механізми дії було описано під час розгляду окремих препаратів. У даному розділі ми спробуємо узагальнити дані літератури щодо основних механізмів антиметастатичної активності НФГ і НМГ.

Пригнічення лімфангиогенезу. Клінічними дослідженнями показано, що частота метастазування раку через лімфатичні судини в 3–5 разів вища, ніж через кровоносні судини [45], що говорить про високу значу-

щість цього механізму. Сьогодні визначено, що одним з проявів біологічної активності гепаринів є інгібування лімфангіогенезу. Наприклад, кон'югат гепарину LHbisD4 пригнічує лімфангіогенез і послаблює метастазування в лімфатичні вузли, блокуючи сигнальний шлях VEGF-C [45]. Крім того Т. Tammela та співавт. продемонстрували, що вісь фактору росту ендотелію судин С (VEGF-C)/рецептора фактору росту ендотелію судин 3 (VEGFR-3) відіграє важливу роль у лімфангіогенезі [46].

Роботи двох груп дослідників показали, що саме за допомогою хемокінового шляху CXCL12/CXCR4 здійснюється регуляція лімфангіогенезу [47, 48]. Результати декількох досліджень позначають, що антиметастатична активність НФГ і НМГ пов'язана з модуляцією шляху CXCL12/CXCR4 [49, 50]. Останніми дослідженнями цієї спрямованості встановлено, що цей шлях активується через JAK2 [51]. JAK2 – фосфопротейн з молекулярною масою 131 кДа, який причетний до процесів виживання та проліферації клітин.

Таким чином, НФГ і НМГ послаблюють метастазування, пригнічуючи лімфангіогенез, і цей процес здійснюється переважно через сигнальні шляхи VEGF-C/VEGFR-3 і CXCL12/CXCR4.

Інгібування гепаранази. У 1975 році було ідентифіковано ендоглікозидазу, яка розщеплює бічні ланцюги гепарансульфату, і вперше охарактеризовано активність цього ферменту [52]. Три роки потому цю ендоглікозидазу (ендо- β -D-глюкуронідазу) названо гепараназою [53]. До речі, вона єдина відома натепер ендо- β -D-глюкуронідаза ссавців. Гепараназа фізіологічно експресується переважно в тромбоцитах, активованих лейкоцитах і плаценті [54].

Гіперекспресія гепаранази спостерігається за кількох видів злоякісних новоутворень і деяких патологічних станів, уключаючи гостре та хронічне запалення, фіброз, амілоїдоз, діабет і пов'язані з ним нефропатії [54–56]. Також виявлено, що підвищена експресія гепаранази пухлинними клітинами корелює з більш високим метастатичним потенціалом [57].

Гепараназа є основним ферментом, відповідальним за руйнування базальних мембран, – процес, необхідний для надходження клітин, що метастазують, у кровоток [42]. У місці метастазування гепараназа, що секретується пухлинними або стромальними клітинами, є важливим модифікатором мікрооточення пухлини, одночасно сприяючи інвазії та ангіогенезу [58], а інгібування гепаранази може проявляти антиангіогенний ефект [59].

У 2006 році N. J. Nasser та співавт. продемонстровано, що гепараназа інгібується НМГ, хоча і з дещо меншою ефективністю, ніж НФГ [60]. Пізніше O. Achour та співавт. досліджено інгібування гепаранази некомерційними УНМГ, отриманими різними способами деполімеризації НФГ порівняно з комерційними НМГ [61].

Пошук інгібіторів гепаранази як протипухлинних засобів призвів до розробки чотирьох речовин: мупарфостату (PI-88), піксатимоду (PG545), ронепарстату (SST0001) і некупаранібу (M-402), які пройшли клінічні випробування [62, 63]. Незважаючи на вражаючі ефекти в різних доклінічних моделях, клінічні дані виявилися менш переконливими, а розроблення деяких з цих сполук припинено або призупинено [62].

Отже, НФГ, НМГ й УНМГ можуть бути корисними як інгібітори гепаранази за метастазування та для лікування деяких видів раку.

Інгібування Р-селектину. Р-селектин – глікопротеїн масою 140 кДа родини селективів (білків клітинної адгезії). Р-селектин присутній у тільцях Вайбеля-Паладе ендотеліоцитів та в α -гранулах тромбоцитів [64]. Сьогодні вже добре відома роль Р-селектину за тромбозів і запалення різного генезу [65].

У 2001 році L. Borsig та співавт. показано, що Р-селектин тромбоцитів полегшує метастазування карциноми людини в мишей з імунodefіцитом, опосередковуючи ранню взаємодію тромбоцитів з пухлинними клітинами, і цей процес може бути заблокований гепарином [66].

Згодом L. A. Courland та співавт. встановлено, що Р-селектин ендотеліоцитів відіграє вагомий роль у стимулюванні метастазування в легені та печінку [67], тобто, продемонстровано органоспецифічну роль Р-селектину в метастазуванні.

Здатність різних гепаринів пригнічувати Р-селектин *in vitro* корелює з їхньою здатністю інгібувати гематогенні метастази *in vivo* [14].

Як підсумок, Р-селектин може бути мішенню для протиметастазної терапії, наприклад, НФГ, НМГ або кризанлізумабом – антитілом до Р-селектину. FDA вже схвалено кризанлізумаб для використання як засобу за вазооклюзійних больових кризів і серповидноклітинної анемії [68, 69]. Залишається затвердити його як антиметастатичний засіб.

Гальмування ангиогенезу. Інгібування ангиогенезу позбавляє пухлину або метастаз потрібної для їхнього росту крові. Властивість пригнічувати ангиогенез є як у НФГ [22, 70], так і в НМГ (тинзапарин [71], дальтепарин [22, 70, 72], еноксапарин [70], ревіпарин [12], беміпарин [34]).

Еноксапарин і дальтепарин мають вищу антиангіогенну активність порівняно з НФГ в інтервалі концентрацій 0,1–1,0 МО/мл, що відповідає діапазону терапевтичних доз, які використовуються в клініці [70].

Показано, що НФГ і НМГ пригнічують проліферацію ендотеліоцитів, індуковану FGF-2 або VEGF [22, 70, 72]. Крім того, Н. Takahashi та співавт. виявлено значне зниження VEGF у крові мишей, яким вводився дальтепарин [22]. Найбільші антиангіогенні ефекти серед наведених НФГ і НМГ спостерігаються в еноксапарину [70] та дальтепарину [22, 72].

Хоча НФГ і НМГ можна використовувати як антиангіогенні та антиметастатичні засоби, антикоагулянтна активність робить їх менш придатними для лікування раку й метастазування через ризик кровотеч [73].

Підсумовуючи наведені дані, слід зауважити, що НФГ і НМГ з різною активністю гальмують ангиогенез переважно через пригнічення VEGF.

Висновки

НФГ і НМГ запобігають метастазам і зменшують ріст первинної пухлини, збільшують виживання на моделях метастазуючих пухлин у тварин. Клінічні дані щодо використання НФГ і НМГ у хворих з онкопатологією, зокрема за метастазування, виявились менш вагомими. Крім того в разі застосування НФГ і НМГ у хворих на злоякісні новоутворення існує небезпека виникнення кровотеч.

Конструювання комплексних препаратів, що містять цитостатик і НМГ, є багатообіцяючим шляхом створення антиметастатичних засобів.

Моделлю, що найчастіше використовувалась для вивчення антиметастатичної дії НФГ і НМГ *in vitro* та на тваринах, була меланома B16F10.

Серед механізмів антиметастатичної активності антикоагулянтів прямої дії найвагомішими, на наш погляд, є пригнічення лімфангіогенезу, інгібування гепараназ та Р-селектину, гальмування ангиогенезу.

Зважаючи на те, що серед антикоагулянтів прямої дії з'являються нові, більш безпечні засоби, доцільне подальше вивчення їхнього впливу на процеси метастазування.

1. Cancer-associated thrombosis: the when, how and why. C. J. Fernandes, L. T. K. Morinaga, J. L. Alves et al. *Eur. Respir. Rev.* 2019. V. 28, No. 151. P. 180119.
2. Cancer and thrombosis: new insights to an old problem. O. Leiva, R. Newcomb, J. M. Connors, H. Al-Samkari. *J. Med. Vasc.* 2020. V. 45, No. 6S. P. 6S8–6S16.
3. Geiger T. R., Peeper D. S. Metastasis mechanisms. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009. V. 1796, No. 2. P. 293–308.
4. Redig A. J., McAllister S. S. Breast cancer as a systemic disease: a view of metastasis. *J. Intern. Med.* 2013. V. 274, No. 2. P. 113–126.
5. Kuderer N. M., Ortel T. L., Francis C. W. Impact of venous thromboembolism and anticoagulation on cancer and cancer survival. *J. Clin. Oncol.* 2009. V. 27, No. 29. P. 4902.
6. Remiker A. S., Palumbo J. S. Mechanisms coupling thrombin to metastasis and tumorigenesis. *Thromb. Res.* 2018. V. 164, Suppl. 1. P. S29–S33.
7. Bobek V. Anticoagulant and fibrinolytic drugs – possible agents in treatment of lung cancer? *Anticancer Agents Med. Chem.* 2012. V. 12, No. 6. P. 580–588.
8. Hagmar B., Norrby K. Evidence for effects of heparin on cell surfaces influencing experimental metastases. *Int. J. Cancer.* 1970. V. 5, No. 1. P. 72–84.
9. Oral anticoagulation in the treatment of a spontaneously metastatic murine tumour (3LL). P. Hilgard, H. Schulte, G. Wetzig et al. *Br. J. Cancer.* 1977. V. 35, No. 1. P. 78–85.
10. Smorenburg S. M., Van Noorden C. J. F. The complex effects of heparins on cancer progression and metastasis in experimental studies. *Pharmacol. Rev.* 2001. V. 53, No. 1. P. 93–106.
11. Engelberg H. Actions of heparin that may affect the malignant process. *Cancer.* 1999. V. 85, No. 2. P. 257–272.
12. Unfractionated and low molecular weight heparin affect fibrin structure and angiogenesis *in vitro*. A. Collen, S. M. Smorenburg, E. J. G. Peters et al. *Cancer Res.* 2000. V. 60, No. 21. P. 6196–6200.
13. Dolivo D. M. Anti-fibrotic effects of pharmacologic FGF-2: a review of recent literature. *J. Mol. Med. (Berl.)*. 2022. V. 100, No. 6. P. 847–860.
14. The ability of different forms of heparins to suppress P-selectin function *in vitro* correlates to their inhibitory capacity on bloodborne metastasis *in vivo*. R. J. Ludwig, S. Alban, R. Bistran et al. *Thromb. Haemost.* 2006. V. 95, No. 3. P. 535–540.
15. Anticancer effects of heparin in the experimental metastasis of the pancreatic cancer model with enhanced potency of gemcitabine. N. Tani, K. Aiura, K. Suzuki et al. *Cancer Res.* 2010. V. 70, No. 8_Suppl. P. 4175.
16. Bemiparin in oncology. M. M. Bosch, A. Vignoli, R. L. Villamediana, P. Prandoni. *Drugs.* 2010. V. 70, Suppl. 2. P. 35–42.
17. Antimetastatic effect of tinzaparin, a low-molecular-weight heparin. A. Amirhosravi, S. A. Mousa, M. Amaya, J. L. Francis. *J. Thromb. Haemost.* 2003. V. 1, No. 9. P. 1972–1976.
18. The role of VLA-4 binding for experimental melanoma metastasis and its inhibition by heparin. M. Schlesinger, M. Roblek, K. Ortmann et al. *Thromb. Res.* 2014. V. 133, No. 5. P. 855–862.
19. Membrane microvesicles as mediators for melanoma-fibroblasts communication: roles of the VCAM-1/VLA-4 axis and the ERK1/2 signal pathway. X. P. Zhao, M. Wang, Y. Song et al. *Cancer Lett.* 2015. V. 360, No. 2. P. 125–133.
20. Coagulation factor Xa promotes solid tumor growth, experimental metastasis and endothelial cell activation. M. Arce, M. P. Pinto, M. Galleguillos et al. *Cancers.* 2019. V. 11, No. 8. P. 1103.
21. Heparin-like polysaccharides reduce osteolytic bone destruction and tumor growth in a mouse model of breast cancer bone metastasis. S. Pollari, R. S. Käkönen, K. S. Mohammad et al. *Mol. Cancer. Res.* 2012. V. 10, No. 5. P. 597–604.
22. A comparison of the effects of unfractionated heparin, dalteparin and danaparoid on vascular endothelial growth factor-induced tumour angiogenesis and heparanase activity. H. Takahashi, S. Ebihara, T. Okazaki et al. *Br. J. Pharmacol.* 2005. V. 146, No. 3. P. 333–343.
23. Effect of Fraxiparine, a type of low molecular weight heparin, on the invasion and metastasis of lung adenocarcinoma A549 cells. C. J. Yu, S. J. Ye, Z. H. Feng et al. *Oncol. Lett.* 2010. V. 1, No. 4. P. 755–760.

24. Combination of nadroparin with radiotherapy results in powerful synergistic antitumor effects in lung adenocarcinoma A549 cells. X. Zhuang, T. Qiao, G. Xu et al. *Oncol. Rep.* 2016. V. 36, No. 4. P. 2200–2206.
25. Effect of Fraxiparine and heparin on experimental tumor metastasis in mice. B. Szende, S. Paku, G. Rácz et al. *Anticancer Res.* 2005. V. 25, No. 4. P. 2869–2872.
26. Enoxaparin attenuates mouse colon cancer liver metastases by inhibiting heparanase and interferon- γ -inducible chemokines. S. Djaafar, I. Dunand-Sautier, C. Gonelle-Gispert et al. *Anticancer Res.* 2016. V. 36, No. 8. P. 4019–4032.
27. Enoxaparin sensitizes human non-small-cell lung carcinomas to gefitinib by inhibiting DOCK1 expression, vimentin phosphorylation, and Akt activation. Y. Pan, X. Li, J. Duan et al. *Mol. Pharmacol.* 2015. V. 87, No. 3. P. 378–390.
28. Пуськов А. Н., Лихова А. А., Мунько М. А. Противоопухолевые и антиметастатические эффекты полиметоксилированных флавонов нобилетина и тангеретина. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2021. Т. 15, № 3. С. 169–180.
29. Anti-metastatic effect of a non-anticoagulant low-molecular-weight heparin versus the standard low-molecular-weight heparin, enoxaparin. S. A. Mousa, R. Linhardt, J. L. Francis, A. Amirkhosravi. *Thromb. Haemost.* 2006. V. 96, No. 12. P. 816–821.
30. Preparation of chitosan nanoparticles for simultaneous drug delivery of dacarbazine and enoxaparin in melanoma. F. V. Ataabadi, F. Oveissi, M. Etebari, A. Taheri. *Carbohydr. Polym.* 2023. V. 316. P. 121041.
31. Low-molecular-weight heparin (reviparin) diminishes tumor cell adhesion and invasion *in vitro*, and decreases intraperitoneal growth of colonadeno-carcinoma cells in rats after laparoscopy. M. Pross, H. Lippert, F. Misselwitz et al. *Thromb. Res.* 2003. V. 110, No. 4. P. 215–220.
32. Characterization of CC-531 as a rat model of colorectal liver metastases. S. B. White, D. Procissi, J. Chen et al. *PLoS One.* 2016. V. 11, No. 5. P. e0155334.
33. Effect of low molecular weight heparin on intra-abdominal metastasis in a laparoscopic experimental study. M. Pross, H. Lippert, G. Nestler et al. *Int. J. Colorectal Dis.* 2004. V. 19, No. 2. P. 143–146.
34. Vignoli A., Marchetti M., Russo L. LMWH bempiparin and ULMWH RO-14 reduce the endothelial angiogenic features elicited by leukemia, lung cancer, or breast cancer cells. *Cancer Invest.* 2011. V. 29, No. 2. P. 153–161.
35. Anti-tumor effects of bempiparin in HepG2 and MIA PaCa-2 cells. İ. Alur, Y. Dodurga, M. Seçme et al. *Gene.* 2016. V. 585, No. 2. P. 241–246.
36. Low molecular weight heparin, therapy with dalteparin, and survival in advanced cancer: the fragmin advanced malignancy outcome study (FAMOUS). A. K. Kakkar, M. N. Levine, Z. Kadziola et al. *J. Clin. Oncol.* 2004. V. 22, No. 10. P. 1944–1948.
37. PRODIGE: a randomized placebo-controlled trial of dalteparin low-molecular-weight heparin thromboprophylaxis in patients with newly diagnosed malignant glioma. J. R. Perry, J. A. Julian, N. J. Laperriere et al. *J. Thromb. Haemost.* 2010. V. 8, No. 9. P. 1959–1965.
38. Randomized phase III trial of standard therapy plus low molecular weight heparin in patients with lung cancer: FRAGMENT trial. F. Macbeth, S. Noble, J. Evans et al. *J. Clin. Oncol.* 2016. V. 34, No. 5. P. 488–494.
39. Randomized comparison of low molecular weight heparin and coumarin derivatives on the survival of patients with cancer and venous thromboembolism. A. Y. Y. Lee, F. R. Rickles, J. A. Julian et al. *J. Clin. Oncol.* 2005. V. 23, No. 10. P. 2123–2129.
40. The effect of low molecular weight heparin on survival in patients with advanced malignancy. C. P. W. Klerk, S. M. Smorenburg, H. M. Otten et al. *J. Clin. Oncol.* 2005. V. 23, No. 10. P. 2130–2135.
41. Low-molecular-weight heparin in patients with advanced cancer: a phase 3 clinical trial. K. Sideras, P. L. Schaefer, S. H. Okuno et al. *Mayo Clin. Proc.* 2006. V. 81, No. 6. P. 758–767.
42. Simka M., Urbanek T. Anti-metastatic activities of heparins. *J. Cancer Mol.* 2009. V. 5, No. 1. P. 3–8.
43. Wang J., Zhu C. Anticoagulation in combination with antiangiogenesis and chemotherapy for cancer patients: evidence and hypothesis. *Onco Targets Ther.* 2016. V. 9. P. 4737–4746.
44. Thein K. Z., Yeung S. C. J., Oo T. H. Primary thromboprophylaxis (PTP) in ambulatory patients with lung cancer receiving chemotherapy: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials (RCTs). *Asia Pac. J. Clin. Oncol.* 2018. V. 14, No. 3. P. 210–216.
45. A heparin conjugate, LHbisd4, inhibits lymphangiogenesis and attenuates lymph node metastasis by blocking VEGF-C signaling pathway. J. U. Choi, S. W. Chung, T. A. Al-Hilal et al. *Biomaterials.* 2017. V. 139. P. 56–66.
46. Tammela T., Alitalo K. Lymphangiogenesis: molecular mechanisms and future promise. *Cell.* 2010. V. 140, No. 4. P. 460–476.
47. The CXCL12–CXCR4 chemokine pathway: a novel axis regulates lymphangiogenesis. W. Zhuo, L. Jia, N. Song et al. *Clin. Cancer Res.* 2012. V. 18, No. 19. P. 5387–5398.

48. Du L. L., Liu P. CXCL12/CXCR4 axis regulates neovascularization and lymphangiogenesis in sutured corneas in mice. *Mol. Med. Rep.* 2016. V. 13, No. 6. P. 4987–4994.
49. Simka M. Anti-metastatic activity of heparin is probably associated with modulation of SDF-1-CXCR4 axis. *Med. Hypotheses.* 2007. V. 69, No. 3. P. 709.
50. Modulating the interaction of CXCR4 and CXCL12 by low-molecular-weight heparin inhibits hepatic metastasis of colon cancer. L. Ma, H. Qiao, C. He et al. *Invest. New Drugs.* 2012. V. 30, No. 2. P. 508–517.
51. CXCL12/CXCR4 pathway is activated by oncogenic JAK2 in a PI3K-dependent manner. H. Abdelouhab, Y. Zhang, M. Wittner et al. *Oncotarget.* 2017. V. 8, No. 33. P. 54082–54095.
52. The expression of heparanase and microRNA-1258 in human non-small cell lung cancer. H. Liu, X. Chen, W. Gao, G. Jiang. *Tumor Biol.* 2012. V. 33, No. 5. P. 1327–1334.
53. Sulfated glycosaminoglycans of guinea pig basophilic leukocytes. N. S. Orenstein, S. J. Galli, A. M. Dvorak et al. *J. Immunol.* 1978. V. 121, No. 2. P. 586–592.
54. Cassinelli G., Torri G., Naggi A. Non-anticoagulant heparins as heparanase inhibitors. *Heparanase.* 2020. V. 1221. P. 493–522.
55. Targeting heparanase in cancer: inhibition by synthetic, chemically modified, and natural compounds. C. D. Mohan, S. Hari, H. D. Preetham et al. *iScience.* 2019. V. 15. P. 360–390.
56. Rivara S., Milazzo F. M., Giannini G. Heparanase: a rainbow pharmacological target associated to multiple pathologies including rare diseases. *Future Med. Chem.* 2016. V. 8, No. 6. P. 647–680.
57. The impact of heparanase and heparin on cancer metastasis and angiogenesis. I. Vlodayvsky, G. Abboud-Jarrous, M. Elkin et al. *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 2006. V. 35, No. 1–2. P. 116–127.
58. Bendas G., Borsig L. Heparanase in cancer metastasis – heparin as a potential inhibitor of cell adhesion molecules. Heparanase. Eds. by I. Vlodayvsky, R. D. Sanderson, N. Ilan. Springer Cham. 2020. Ch. 11. P. 309–329.
59. Norrby K. Low-molecular-weight heparins and angiogenesis. *APMIS.* 2006. V. 114, No. 2. P. 79–102.
60. Heparanase neutralizes the anticoagulation properties of heparin and low-molecular-weight heparin. N. J. Nasser, G. Sarig, B. Brenner et al. *J. Thromb. Haemost.* 2006. V. 4, No. 3. P. 560–565.
61. Anti-heparanase activity of ultra-low-molecular-weight heparin produced by physicochemical depolymerization. O. Achour, N. Poupard, N. Bridiau et al. *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 135. P. 316–323.
62. Coombe D. R., Gandhi N. S. Heparanase: a challenging cancer drug target. *Front. Oncol.* 2019. V. 9. P. 1316.
63. Potential roles of heparanase in cancer therapy: current trends and future direction. Y. Yang, F. Yuan, H. Zhou et al. *J. Cell. Physiol.* 2023. V. 238, No. 5. P. 896–917.
64. Murphy J. F., McGregor J. L. A peptide (P2) derived from the variable heavy chain of an anti-P-selectin monoclonal antibody (LYP20) inhibits leucocyte adhesion to thrombin-activated platelets and endothelial cells. *Brit. J. Haematol.* 2003. V. 120, No. 4. P. 605–610.
65. Polgar J., Matuskova J., Wagner D. D. The P-selectin, tissue factor, coagulation triad. *J. Thromb. Haemost.* 2005. V. 3, No. 8. P. 1590–1596.
66. Heparin and cancer revisited: mechanistic connections involving platelets, P-selectin, carcinoma mucins, and tumor metastasis. L. Borsig, R. Wong, J. Feramisco et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001. V. 98, No. 6. P. 3352–3357.
67. Coupland L. A., Chong B. H., Parish C. R. Platelets and P-selectin control tumor cell metastasis in an organ-specific manner and independently of NK cells. *Cancer Res.* 2012. V. 72, No. 18. P. 4662–4671.
68. Saad A. A. Targeting cancer-associated glycans as a therapeutic strategy in leukemia. *All Life.* 2022. V. 15, No. 1. P. 378–433.
69. Han J., Saraf S. L., Gordeuk V. R. Systematic review of crizanlizumab: a new parenteral option to reduce vaso-occlusive pain crises in patients with sickle cell disease. *Pharmacotherapy.* 2020. V. 40, No. 6. P. 535–543.
70. Endothelial capillary tube formation and cell proliferation induced by tumor cells are affected by low molecular weight heparins and unfractionated heparin. M. Marchetti, A. Vignoli, L. Russo et al. *Thromb. Res.* 2008. V. 121, No. 5. P. 637–645.
71. Mousa S. A., Mohamed S. Anti-angiogenic mechanisms and efficacy of the low molecular weight heparin, tinzaparin: anti-cancer efficacy. *Oncol. Rep.* 2004. V. 12, No. 4. P. 683–688.
72. Heparin inhibition of endothelial cell proliferation and organization is dependent on molecular weight. A. A. Khorana, A. Sahni, O. D. Altland et al. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003. V. 23, No. 11. P. 2110–2115.
73. Clinical use of the low-molecular-weight heparins in cancer patients: focus on the improved patient outcomes. B. H. Chao, L. Lepeak, T. Leal, H. I. Robins. *Thrombosis.* 2011. V. 2011. P. 530183.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

О. М. Пуськов, М. А. Мунько, Т. А. Карацуба

Вплив антикоагулянтів прямої дії на процеси метастазування

В огляді відображено теперішній стан досліджень антиметастатичної активності антикоагулянтів прямої дії, зокрема нефракціонованого гепарину (НФГ) і низькомолекулярних гепаринів (НМГ).

Детально розглянуто антиметастатичні ефекти таких НМГ, як тинзапарин, дальтепарин, надропарин, еноксапарин, ревіпарин, беміпарин, окремий розділ присвячено узагальненню механізмів антиметастатичних впливів зазначених антикоагулянтів.

Мета дослідження – аналіз та узагальнення даних літератури щодо антиметастатичної активності антикоагулянтів прямої дії (НФГ і НМГ).

Розглянуті експериментальні дані свідчать, що НФГ і НМГ запобігають метастазам і зменшують ріст первинної пухлини, збільшують виживання на моделях метастазуючих пухлин у тварин. Клінічні дані щодо використання НФГ і НМГ у хворих з онкопатологією, зокрема за метастазування, виявились менш вагомими. Крім того в разі застосування НФГ і НМГ у хворих на злоякісні новоутворення існує небезпека виникнення кровотеч.

Конструювання комплексних препаратів, що містять цитостатик і НМГ, є багатообіцяючим шляхом створення антиметастатичних засобів. Моделлю, що найчастіше використовувалась для вивчення антиметастатичної дії НФГ і НМГ *in vitro* та на тваринах, була меланома В16F10. Серед механізмів антиметастатичної активності антикоагулянтів прямої дії найвагомішими, на наш погляд, є пригнічення лімфангіогенезу, інгібування гепараназ та Р-селектину, гальмування ангіогенезу.

Зважаючи на те, що серед антикоагулянтів прямої дії з'являються нові, більш безпечні засоби, доцільне подальше вивчення їхнього впливу на процеси метастазування.

Ключові слова: метастазування, антикоагулянти прямої дії, нефракціонований гепарин, низькомолекулярні гепарини

О. М. Puskov, M. A. Munko, T. A. Karatsuba

The influence of direct-acting anticoagulants on the metastatic processes

The review reflects the current state of researches on the antimetastatic activity of direct-acting anticoagulants, in particular, unfractionated heparin (UFH) and low-molecular-weight heparins (LMWHs).

Antimetastatic effects of such LMWHs as tinzaparin, dalteparin, nadroparin, enoxaparin, reviparin and bempiparin are considered in detail. A separate section is devoted to the generalization of the mechanisms of antimetastatic effects of these anticoagulants.

The aim of the study is to analyze and generalize literature data on the antimetastatic activity of direct-acting anticoagulants (UFH and LMWHs).

The presented experimental data show that UFH and LMWHs prevent metastases, reduce primary tumor growth and increase survival in animal models of metastatic tumors. Clinical data on the use of UFH and LMWHs in patients with oncology, including metastases, turned out to be less weighty. In addition, under the use of UFH and LMWHs in patients with malignant neoplasms, there is a risk of bleeding.

The construction of complex drugs containing a cytostatic agent and LMWHs is a promising way to create antimetastatic agents. The most often used model to study an antimetastatic effect of UFH and LMWHs *in vitro* and in animals was melanoma B16F10. Among the mechanisms of antimetastatic activity of direct-acting anticoagulants, the most significant, in our opinion, are suppression of lymphangiogenesis, inhibition of heparanase and P-selectin, suppression of angiogenesis.

Given the fact that new, safer agents are emerging among direct-acting anticoagulants, further research their impact on metastatic processes is appropriate.

Key words: metastasis, direct-acting anticoagulants, unfractionated heparin, low-molecular-weight heparins

ORCID ID авторів:

Пуськов О. М. (ORCID ID 0009-0009-7249-3637);

Мунько М. А. (ORCID ID 0000-0001-7784-9625);

Карацуба Т. А. (ORCID ID 0000-0003-4913-5953).

Надійшла: 16 січня 2024 р.

Прийнята до друку: 20 березня 2024 р.

Контактна особа: Пуськов Олександр Миколайович, кандидат медичних наук, лабораторія онкофармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 94 65. Електронна пошта: puskov@ift.org.ua