

## Молекулярные механизмы агрегации тромбоцитов, индуцированной клетками рака молочной железы: роль тромбина

Научный руководитель – Свешникова Анастасия Никитична

Тесаков И.П.<sup>1</sup>, Филькова А.А.<sup>2</sup>

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра физиологии и общей патологии, Москва, Россия, *E-mail: ivan.tesakov@yandex.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Физический факультет, Кафедра биофизики, Москва, Россия, *E-mail: aleksa0771@rambler.ru*

**Введение:** Для метастазирования опухоли необходим выход опухолевых клеток в общий кровоток - интравазация. Кровь представляет собой неблагоприятную среду для выживания опухолевых клеток ввиду механических и иммунных факторов. Установлено, что тромбоциты являются важными «союзниками» опухолевых клеток в распространении рака, обеспечивая защиту их от иммунной системы, однако механизмы взаимодействия опухолевых клеток с тромбоцитами до конца не известны [1]. Ранее были предложены механизмы агрегации тромбоцитов, индуцированной клетками различных линий, с участием АДФ, тромбосана А2, тромбина и других эффекторов [2], однако информация о возможности клеток рака молочной железы индуцировать агрегацию ограничена. Наши результаты позволяют установить последовательность биохимических событий, происходящих при взаимодействии тромбоцитов с клетками рака молочной железы и приводящих к их активации и агрегации.

**Цель:** Установление механизмов агрегации тромбоцитов в присутствии клеток рака молочной железы человека линии MCF-7.

**Материалы и методы:** Тромбоциты выделялись из крови здоровых доноров центрифугированием и ресуспендировались в буфере Тирода (концентрация - 300 тыс тц/мкл). Для фиксации тромбоцитов использовался параформальдегид. Клетки линии MCF-7 выращивались в среде DMEM. Агрегация тромбоцитов в присутствии опухолевых клеток ( $10^4$  кл/мл) и плазмы (1% общего объема) анализировалась с помощью агрегометра Viola. Концентрация тромбина определялась с помощью субстрата S2238 на планшетном ридере ThermoMax. Анализ активации тромбоцитов проводился на цитометре NovoCyte.

**Результаты:** Агрегация тромбоцитов в присутствии опухолевых клеток возможна только в присутствии минимального (1%) количества плазмы и ионов кальция. Ингибирование активации тромбоцитов простагландином E1 уменьшает максимальную степень агрегации, однако не подавляет ее полностью. Ингибитор тромбина гирудин полностью блокирует агрегацию. В системе происходит синтез тромбина в концентрациях, значительно превосходящих необходимые для активации и агрегации тромбоцитов ( $>7$  нМ). При добавлении опухолевых клеток к фиксированным тромбоцитам в присутствии плазмы наблюдается синтез тромбина в тех же концентрациях. После инкубации тромбоцитов с опухолевыми клетками в присутствии плазмы наблюдается изменение их формы, выход гранул, активация интегрина бета-3 и Р-селектина, но не образование прокоагулянтных тромбоцитов.

**Выводы:** Механизм агрегации тромбоцитов, индуцированной опухолевыми клетками линии MCF-7, начинается с активации плазменного звена свертывания (предположительно, по внешнему пути). Образующийся тромбин вызывает активацию тромбоцитов и их агрегацию.

**Источники и литература**

- 1) Erpenbeck L., Schön M. P. Deadly allies: the fatal interplay between platelets and metastasizing cancer cells //Blood. – 2010. – Т. 115. – №. 17. – С. 3427-3436.
- 2) Mezouar S. et al. Role of platelets in cancer and cancer-associated thrombosis: Experimental and clinical evidences //Thrombosis research. – 2016. – Т. 139. – С. 65-76.