

Występowanie wzmożonej aktywacji układu krzepnięcia i fibrynolizy w chorobie nowotworowej jest od wielu lat przedmiotem badań. Zgromadzono dowody na to, że nie jest to tylko zjawisko towarzyszące i przyczyna powikłań, ale integralny mechanizm w rozwoju choroby. Te same mechanizmy, które powodują stan nadkrzepliwości, biorą udział w promocji wzrostu guza, tworzeniu nowych naczyń i powstawaniu przerzutów. W patogenezie nowotworu procesy hemostazy, angiogenezy i wzrostu guza są ściśle ze sobą powiązane. Wydaje się, że najważniejszym *łącznikiem* pomiędzy tymi procesami jest naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF), główny czynnik regulujący fizjologiczną i patologiczną angiogenezę.

Celem pracy było zbadanie zależności pomiędzy zaburzeniami w układzie krzepnięcia i fibrynolizy a nasileniem angiogenezy w przebiegu raka piersi.

W grupie badanej było 79 kobiet chorych na raka piersi w stopniu zaawansowania klinicznego od I do IV. Grupa kontrolna obejmowała 25 zdrowych kobiet. Materiał do badań stanowiło osocze pobrane przed rozpoczęciem leczenia. Oznaczono następujące parametry: liczbę płytek, czas częściowej tromboplastyny po aktywacji, czas protrombinowy, aktywność $\alpha 2$ -antyplazminy ($\alpha 2$ -AP), stężenie fibrynogenu, dimerów D (DD) i VEGF.

Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy stężeniem VEGF a stężeniem DD i fibrynogenu, najsilniej wyrażoną w grupie z rozsiałym rakiem piersi. U osób z chorobą nowotworową występowały istotnie wyższe stężenia fibrynogenu, DD i VEGF oraz istotnie niższe aktywności $\alpha 2$ -AP w porównaniu z grupą kontrolną. Największe odchylenia stwierdzono w grupie z przerzutami odległymi.

Na podstawie uzyskanych wyników wysunięto wnioski, że w przebiegu raka piersi dochodzi do występowania przewlekłego procesu wewnątrznaczyniowego wykrzepiania o niewielkim nasileniu, z wtórną fibrynolizą, a stopień nasilenia i częstotliwość tych procesów koreluje z nasileniem angiogenezy i z zaawansowaniem choroby.

Słowa kluczowe: rak piersi, hemostaza, angiogeneza, dimery D, VEGF.

Zaburzenia hemostazy a nasilenie procesu neoangiogenezy u chorych na raka piersi

Relation between abnormalities of hemostasis and neoangiogenesis in breast cancer patients

Anna Łojko¹, Krystyna Zawilska¹, Sylwia Grodecka-Gazdecka², Mieczysław Komarnicki¹

¹Katedra i Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego, Akademia Medyczna w Poznaniu

²Katedra i Klinika Onkologii, Akademia Medyczna w Poznaniu

Wstęp

Występowanie wzmożonej aktywacji układu krzepnięcia i fibrynolizy w przebiegu choroby nowotworowej jest przedmiotem wielu badań, prowadzonych od przeszło 100 lat, czyli od czasu, kiedy Armand Trousseau, jako pierwszy w 1886 r. opisał, że u chorych na nowotwory przewodu pokarmowego występuje zwiększona zapadalność na zakrzepicę żylną [1]. Powikłania zakrzepowozatorowe są drugą, co do częstości, bezpośrednią przyczyną zgonu chorych na nowotwory [2]. Najczęściej towarzyszą zaawansowanej chorobie, z obecnością przerzutów odległych, ale mogą także wystąpić we wczesnym stadium, a nawet wyprzedzić rozpoznanie choroby nowotworowej o kilka miesięcy, czy nawet lat [3, 4]. Wystąpienie zakrzepicy żyłnej u chorego na nowotwór złośliwy wiąże się z gorszym rokowaniem, niezależnie od innych czynników [5]. Ryzyko wystąpienia powtórnej zakrzepicy jest 2–3-krotnie większe niż u osób bez choroby nowotworowej, pomimo stosowania leczenia przeciwkrzepliwego [6].

Nieprawidłowy przebieg hemostazy w chorobie nowotworowej może mieć charakter pierwotny wynikający z samej biologii guza i dodatkowo może się nasilać pod wpływem różnych form leczenia onkologicznego, jak zabiegi operacyjne, chemio-, radio- i hormonoterapia, czy zakładanie cewników naczyniowych [7, 8].

Zgromadzono dowody na to, że nadmierna aktywacja procesów krzepnięcia i fibrynolizy nie jest tylko zjawiskiem towarzyszącym chorobie i przyczyną powikłań występujących w jej przebiegu, ale stanowi również integralny mechanizm w rozwoju nowotworu, wzroście guza, tworzeniu jego unaczynienia i przerzutów [9–11]. Wydaje się, że kluczowe znaczenie dla tych procesów ma pozanaczyniowa aktywacja hemostazy, z tworzeniem złogów fibryny, tzw. żelu fibrynowego, w sąsiedztwie komórek guza [12, 13]. Tworzenie miejscowych złogów fibryny jest charakterystyczną i stałą cechą występującą już we wczesnym etapie rozwoju nowotworu, podobnie jak we wczesnym etapie gojenia rany [14, 15]. Pozanaczyniowe złogi fibryny powstają na skutek zwiększonego miejscowo przechodzenia fibrynogenu oraz innych białek układu krzepnięcia z osocza do przestrzeni pozanaczyniowej oraz miejscowej aktywacji procesów krzepnięcia, zainicjowanej poprzez wydzielany przez guz czynnik tkankowy (TF) oraz prokoagulant nowotworowy [14, 16]. Komórki nowotworowe mogą produkować wiele czynników wpływających bezpośrednio na procesy hemostazy: TF, prokoagulant nowotworowy, aktywatory plazminogenu, inhibitory aktywatorów plazminogenu, których zwiększoną ekspresję wykazano w wielu nowotworach [17–20]. Z kolei zwiększona przepuszczalność ścian drobnych naczyń dla białek osocza w otoczeniu komórek guza jest spowodowana fenestracją śródbłonka, do której docho-

Haemostatic abnormalities in cancer patients have been observed for many years and still represent a matter of debate. The hyperactivation of blood coagulation associated with malignancy plays a crucial role in tumour growth, favours tumour spread and is thought to be a first step in formation of new vessels. Haemostasis, angiogenesis and tumour growth are strongly connected with each other in tumour pathogenesis. It seems that vascular-endothelial growth factor (VEGF), the most important proangiogenic cytokine, is also the most important link between activation of haemostasis and angiogenesis in tumour growth.

The aim of the study was to investigate the relationship between haemostasis abnormalities and angiogenesis in breast cancer patients.

The study group consisted of 79 women suffering from breast cancer with I to IV clinical stage of disease. The control group consisted of 25 age-matched, healthy women. The plasma samples were obtained before starting any medical procedure. The following parameters were measured: platelet count, activated partial thrombin time, prothrombin time, α -antiplasmin activity (α -AP2), and fibrinogen, D-dimer (DD) and VEGF level.

A significant correlation was observed between VEGF and DD and between VEGF and fibrinogen plasma levels, the strongest in patients with metastasis disease. In the study group significantly higher fibrinogen, DD and VEGF plasma levels and significantly lower activity of α -2AP were observed. Observed abnormalities were correlated with stage of disease.

In patients with breast cancer chronic intravascular coagulation of minor grade with secondary fibrinolysis was observed. These processes were correlated with angiogenesis and with stage of disease, confirming the association between haemostasis disturbances and angiogenesis in tumour growth.

Key words: breast cancer, haemostasis, angiogenesis, D-dimer, VEGF.

dzi pod wpływem naczyniowego czynnika przepuszczalności (ang. *vascular permeability factor* – VPF), obecnie nazywanego naczyniowo-śródbłonkowym czynnikiem wzrostu (ang. *vascular endothelial growth factor* – VEGF) [21].

VEGF poza tym, że zwiększa przepuszczalność śródbłonka, co umożliwia powstawanie pozanaczyniowych złożeń fibryny, jest przyczyną powstawania wysięków nowotworowych i prawdopodobnie ułatwia uwalnianie komórek nowotworowych do krążenia i ich rozsiew [22–25], jest również główną cytokiną regulującą fizjologiczną i patologiczną angiogenezę. Wydzielany jest przez wiele komórek: makrofagi, limfocyty, neutrofile, płytki po aktywacji oraz przez komórki nowotworowe. Łącząc się ze swoim specyficznym receptorem kinazy tyrozynowej na powierzchni komórek śródbłonka powoduje ich przejście ze stanu spoczynku do stanu, w którym wykazują fenotyp angiogeny, prowadząc do proliferacji, migracji i formowania sznurów naczyniowych [26–29]. Zwiększoną ekspresję VEGF, zarówno mRNA w tkance nowotworowej, jak i samego białka (w cytozolu, osoczu, surowicy, moczu), stwierdzono w wielu nowotworach [30–36]. Zwiększona ekspresja VEGF jest związana ze zwiększoną gęstością naczyń krwionośnych w obrębie guza i może korelować z takimi cechami guza, jak: obecność przerzutów odległych, długość całkowitego przeżycia czy wskaźnik osiągniętych remisji całkowitych [30, 32, 35–41]. Powstały wokół nowotworu żel fibrynowy, podobnie jak podczas gojenia rany, tworzy prowizoryczne, niezbędne dla rosnącego guza, podścielisko dla migrujących makrofagów, fibroblastów i komórek śródbłonka [14]. Żel fibrynowy może, niezależnie od obecności komórek nowotworowych i płytek krwi, indukować powstawanie nowych naczyń krwionośnych, co potwierdza jego kluczową rolę dla dalszego rozwoju guza [12].

Aby mogło dojść do utworzenia nowych naczyń w żelu fibrynowym, VEGF indukuje na powierzchni komórek śródbłonka proces aktywacji prourokinazy do urokinazowego aktywatora plazminogenu (ang. *urokinase-type plasminogen activator* – uPA), który powoduje tworzenie się plazminy z nieczynne-

Tabela 1. Charakterystyka kliniczna grupy badanej

Table 1. Patients characteristics

Podgrupa	A	B	C
n	30	23	26
wiek (lata): średnia \pm SD	56,5 \pm 13,21	54,3 \pm 12,99	55,4 \pm 12,3
zakres	36–87	30–81	27–76
stopień klinicznego zaawansowania	I (n= 8) II (n=22)	III	IV
typ histopatologiczny:			
rak przewodowy	21	11	7
rak zrazikowy	1	1	2
rak przewodowo-zrazikowy	5	2	2
inny lub nieokreślony	3	9	15
stopień złośliwości histolog. wg Blooma i Richardsona:			
G1	6	–	–
G2	69	4	4
G3	12	1	5
nieokreślony lub nieznan	3	18	17
receptory dla estrogenów:			
obecne	16	6	17
nieobecne lub nieznan	14	17	9
rozpoznanie <i>de novo</i>	30	23	15
nawrót po leczeniu radykalnym			11

go plazminogenu i fibryny złożeń fibryny w miejscu migracji komórek śródbłonna [42]. W wielu nowotworach wykazano zwiększoną ekspresję uPA [13]. Z kolei produkty rozpadu fibrynogenu i fibryny są czynnikiem mitogennym dla komórek śródbłonna i jednocześnie, zwiększając dostępność TF, powodują dalszą aktywację krzepnięcia.

Wszystkie te dane przemawiają za tym, że procesy hemostazy, angiogenezy i wzrostu guza są ściśle ze sobą powiązane, a najważniejszym łańcuchem pomiędzy tymi procesami jest VEGF [13, 18].

Cel pracy

Celem pracy było zbadanie zależności pomiędzy zaburzeniami w układzie krzepnięcia i fibrynolizy a nasileniem procesu angiogenezy w przebiegu raka piersi, poprzez ocenę stężeń/aktywności wybranych parametrów układu hemostazy i stężenia markera angiogenezy, jakim jest VEGF we krwi chorych na raka piersi w różnych stopniach zaawansowania klinicznego choroby.

Materiał i metody

Grupę badaną stanowiło 79 kobiet chorych na raka piersi, w stopniu zaawansowania klinicznego od I do IV, w wieku od 27 do 87 lat (średnia 55,5 lat). Pacjentki nie były dotychczas leczone lub jeśli był to nawrót choroby, po co najmniej 6-tygodniowej przerwie w leczeniu. Grupa badana została podzielona na 3 podgrupy: A – pacjentki w I i II stopniu klinicznego zaawansowania choroby, B – pacjentki w III stopniu, C – pacjentki w IV stopniu. Grupę kontrolną (K) stanowiło 25 kobiet, w wieku od 30 do 81 lat (średnia 54,5 lat). Wszystkie badane miały prawidłową liczbę leukocytów w rutynowym badaniu morfologii krwi obwodowej oraz prawidłowe parametry podstawowych badań biochemicznych krwi (aktywność transaminaz, stężenie bilirubiny i kreatyniny). Wykluczono wpływ innych zdarzeń na oznaczane parametry (leki, choroby wątroby, zabiegi chirurgiczne w ciągu 4 tyg. poprzedzającym badanie). Charakterystykę grupy badanej z podziałem na podgrupy przedstawiono w tab. 1.

Metody

Krew do badań pobrano jednorazowo, w dniu przyjęcia do szpitala, przed rozpoczęciem procedur diagnostycznych i medycznych. W osoczu pacjentek oznaczono następujące parametry: liczbę płytek krwi (Plt), czas częściowej tromboloplastyny po aktywacji (APTT), czas protrombinowy (PT), stężenie fibrynogenu, aktywność α 2-antyplazminy (α 2-AP), stężenie dimerów D (DD), stężenie VEGF.

Plt oznaczano za pomocą analizatora hematologicznego. Do oznaczania APTT, PT, stężenia fibrynogenu, DD i aktywności α 2-AP użyto komercyjnych testów. Stężenia VEGF oznaczano metodą immunoenzymatyczną ELISA, za pomocą komercyjnego testu Human VEGF Immunoassay (R&D Systems).

Wyniki badań przedstawiono w postaci średnich i ich odchylenia standardowego (SD), a przy braku normalności rozkładu również w postaci mediany. Dla porównania grup wykorzystano testy: T studenta dla zmiennych niepowiązanych, U Manna-Whitneya, analizę wariancji i test Kruskala-Wallis. Za istotny statystycznie przyjęto poziom $p < 0,05$. W obrębie

Tabela 2. Porównanie stężeń VEGF, DD, fibrynogenu i aktywności α 2-AP pomiędzy grupą badaną a kontrolną

Table 2. Comparison VEGF, DD, fibrinogen and α 2-AP plasma level between study and control group

Grupa	Badana (A+B+C)	Kontrolna (K)	P
mediana stężenia VEGF	55,6 pg/ml	35,7 pg/ml	$p=0,0416$
mediana stężenia DD	6,69 ng/ml	2,58 ng/ml	$p=0,004$
mediana stężenia fibrynogenu	3,06 g/l	2,63 g/l	$p=0,0027$
średnia aktywność α 2-AP	76,4%	86,1%	$p=0,001$

grup badano zależności między parametrami stosując korelacje porządku rang Spearmana. Obliczenia wykonano korzystając z programu Statistica for Windows (StatSoft, Inc. 2001).

Wyniki

W grupie osób z chorobą nowotworową (podgrupa A+B+C) stwierdzono statystycznie istotnie wyższe stężenie VEGF, DD i fibrynogenu w porównaniu z grupą kontrolną oraz istotnie niższą aktywność α 2-AP. Wyniki przedstawiono w tab. 2.

Analizując poszczególne podgrupy stwierdzono również istotną statystycznie zależność stężenia VEGF, DD, fibrynogenu od zaawansowania choroby. Najwyższe stężenia VEGF, DD i fibrynogenu stwierdzono w podgrupie z obecnością przerzutów odległych. W tej grupie stwierdzono też najniższą aktywność α 2-AP. Wyniki przedstawiono w tab. 3.

Wykazano średnią dodatnią korelację pomiędzy stężeniem VEGF a stężeniem DD (r Spearman 0,3491, $p=0,002$) oraz stężeniem fibrynogenu (r Spearman 0,3438, $p=0,0027$) u chorych na raka piersi. Powyższej zależności nie obserwowano w grupie kontrolnej. Współczynniki korelacji były zdecydowanie wyższe w podgrupie C, u chorych z rozsiały rakiem piersi, u których częściej niż w pozostałych grupach stwierdziliśmy wysokie stężenia VEGF, DD i fibrynogenu. Współczynnik korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniem VEGF a stężeniem DD w podgrupie C wyniósł $r=0,6025$, $p=0,0018$, zaś pomiędzy VEGF a stężeniem fibrynogenu r Spearman = 0,4298, $p=0,0360$. Opisaną zależność przedstawia ryc. 1.

Nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniem VEGF a Plt, APTT i PT. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupą badaną a kontrolną w zakresie Plt, APTT i PT oraz różnic pomiędzy poszczególnymi podgrupami.

Omówienie

W przedstawionej pracy krew do badań pobierano przed rozpoczęciem jakichkolwiek procedur diagnostycznych i terapeutycznych. Taki dobór grupy pozwolił przyjąć, że stwierdzone zmiany w stężeniach/aktywności oznaczanych parametrów wynikają z samej biologii guza oraz z odpowiedzi organizmu na obecność nowotworu.

W podstawowych laboratoryjnych testach przesiewowych, jakimi są oznaczenie Plt, APTT i PT nie stwierdzono

Tabela 3. Porównanie stężeń VEGF, DD i fibrynogenu oraz aktywności $\alpha 2$ -AP pomiędzy poszczególnymi podgrupami
Table 3. Comparison VEGF, DD, fibrinogen and $\alpha 2$ -AP plasma level between study groups

Podgrupa	A	B	C	P
VEGF (pg/ml): średnia \pm SD	67,8 \pm 74,5	77,6 \pm 80,5	117,6 \pm 116,4	
mediana	47,6	54,0	71,9	C vs A, B:
zakres	6,2–310,6	6,2–305,5	14,2/447,7	$p < 0,05$
DD (ng/ml): średnia \pm SD	29,63 \pm 51,78	46,40 \pm 89,30	170,14 \pm 270,73	
mediana	2,58	3,50	48,37	C vs A, B:
zakres	2,58–193,31	1,53–350,26	2,58–955,95	$p < 0,05$
Fibrynogen (g/l): średnia \pm SD	2,99 \pm 0,8	3,01 \pm 0,7	3,77 \pm 1,3	
mediana	2,9	2,9	3,8	C vs A, B:
zakres	1,48–5,29	2,2–5,29	1,8–6,4	$p < 0,05$
$\alpha 2$ -AP (%): średnia \pm SD	78,7 \pm 12,2	76,5 \pm 15,3	73,6 \pm 11,5	NS
zakres	54,2–101,5	45,4–106,1	43,0–97,7	

odchyień od wartości prawidłowych. Nie stwierdzono też zależności pomiędzy Plt, APTT i PT a stężeniem markera angiogenezy. Stwierdzono natomiast istotnie statystycznie wyższe stężenia fibrynogenu, DD i VEGF oraz niższe aktywności $\alpha 2$ -AP u pacjentek z rakiem piersi w porównaniu z grupą kontrolną. Średnie stężenia fibrynogenu DD i VEGF korelowały z zaawansowaniem choroby, osiągając najwyższe wartości w grupie z obecnymi przerzutami odległymi. Średnie aktywności $\alpha 2$ -AP były najniższe również w tej podgrupie, lecz bez istotności statystycznej w zależności od stopnia zaawansowania.

Najczęściej stwierdzanym zaburzeniem w grupie chorych była hiperfibrinogenemia, co jest zgodne z danymi z piśmiennictwa [43–45]. Stężenie fibrynogenu w osoczu chorych może korelować z zaawansowaniem choroby [43]. Mechanizm zwiększonej produkcji fibrynogenu u chorych na nowotwory złośliwe nie został jak dotąd jednoznacznie wyjaśniony. Jego produkcja, jako białka ostrej fazy, jest pobudzana poprzez cytokiny, które mogą być wytwarzane i uwalniane przez same komórki nowotworowe lub też przez komórki gospodarza: makrofagi, płytki krwi. Produkcja fibrynogenu może też być stymulowana w wyniku przewlekłego procesu wykrzepiania

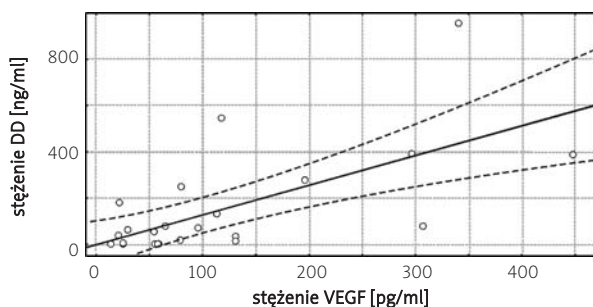
wewnątrznaczyniowego. Powstające wówczas w wyniku następczej fibrylizacji produkty degradacji fibrynogenu i fibryny (ang. *fibrinogen/fibrin degradation products* – FDP) pobudzają syntezę fibrynogenu. Zwiększone stężenie fibrynogenu może być jedynym stwierdzanym wykładnikiem trwającego przewlekłego procesu wykrzepiania.

Zwiększenie stężenia DD u pacjentek chorych na raka piersi, w porównaniu z grupą kontrolną świadczy o zwiększonej aktywności fibrynolitycznej, wtórnej do aktywacji krzepnięcia. Nasilenie tej aktywności zależy również od zaawansowania choroby. Zwiększone stężenie DD zostało już wcześniej potwierdzone w innych badaniach w wielu nowotworach: płuca, piersi, jelita grubego, jajnika [46–52]. Zwiększone stężenie DD wskazuje na toczący się proces fibrylizacji i potwierdza, że u chorych na raka piersi wraz z rozwojem choroby trwa ciągły proces tworzenia fibryny i jej trawienia, czyli przewlekły proces wewnątrznaczyniowego wykrzepiania.

Obniżona aktywność $\alpha 2$ -AP połączona ze stwierdzanym zwiększonym stężeniem fibrynogenu i DD również potwierdza występowanie przewlekłego procesu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego. $\alpha 2$ -AP jest najważniejszym z osoczowych inhibitorów plazminy. Obniżenie aktywności $\alpha 2$ -AP zostało opisane przez innych autorów w raku żołądka i czerniaku złośliwym [53].

Wyższe w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną stężenia VEGF wskazują na większą aktywność angiogenną w chorobie nowotworowej, tym większą im bardziej zaawansowana choroba. Przy małej masie guza, w stopniu I i II zaawansowania klinicznego, stężenia VEGF są zbliżone do osiąganych w grupie kontrolnej. Nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniem VEGF a liczbą płytek krwi. Jak dotychczas nie zostało jednoznacznie rozstrzygnięte, czy głównym źródłem VEGF w chorobie nowotworowej są komórki guza, czy też płytki krwi. Doniesienia na ten temat są sprzeczne [26, 40, 54]. Zależność stężenia od zaawansowania choroby może sugerować, że głównym źródłem są jednak komórki guza.

W powyżej przedstawionej pracy wykazano zależność pomiędzy stężeniem VEGF a stężeniem fibrynogenu i DD,



Ryc. 1. Wykres korelacji pomiędzy stężeniem VEGF a DD w podgrupie C (rank Spearman $r=0,6025$, $p=0,0018$)

Fig. 1. Correlation between VEGF and DD plasma level in C group (rank Spearman $r=0.6025$, $p=0.0018$)

szczególnie zaznaczoną w grupie z obecnymi przerzutami odległymi. Słabsza korelacja pomiędzy stężeniami VEGF i DD w grupie w I, II i III stopniu zaawansowania klinicznego choroby może być związana z czułością metody, gdyż w tych grupach stężenia VEGF są zdecydowanie niższe. Stwierdzona zależność pomiędzy stężeniami markera angiogenezy i markera fibrynolizy może potwierdzać występowanie ścisłego związku pomiędzy procesami krzepnięcia i fibrynolizy a angiogenezą w patogenezie choroby nowotworowej.

Na podstawie uzyskanych wyników wysunięto wnioski, że w przebiegu raka piersi dochodzi do występowania przewlekłego procesu wewnątrznaczyniowego wykrzepiania o niewielkim nasileniu, z wtórną fibrynolizą, co wyraża się hiperfibrinogeniemią, obniżeniem aktywności α_2 -AP i podwyższeniem stężenia DD w osoczu pacjentek. Stopień nasilenia tych procesów i częstość ich występowania wzrasta wraz z zaawansowaniem choroby nowotworowej. Ponadto stwierdzono, że nasilenie procesów neoangiogenezy, które wyraża się zwiększeniem stężenia znacznika angiogenezy VEGF, zależy od zaawansowania choroby. Zależność pomiędzy stężeniem markera angiogenezy a stężeniem wykładników procesu przewlekłego wewnątrznaczyniowego wykrzepiania u chorych na raka piersi może potwierdzać związek pomiędzy procesami krzepnięcia i fibrynolizy a procesami angiogenezy w patogenezie nowotworu.

Zależność rozwoju guza od procesów hemostazy i angiogenezy powoduje, że regulacja tych procesów może być potencjalnym kierunkiem terapii przeciwnowotworowej. Od kilkunastu lat prowadzone są badania nad zastosowaniem leków przeciwkrzepliwych w leczeniu chorych na nowotwory złośliwe [55, 56]. Od niedawna prowadzone są również badania nad wykorzystaniem przeciwciała monoklonalnego przeciw VEGF – bevacizumabu – w terapii chorób nowotworowych [57, 58]. W 2004 r. bevacizumab został zarejestrowany zarówno w Stanach Zjednoczonych, jak i w Europie, jako lek do stosowania w zaawansowanym raku jelita grubego w połączeniu z chemioterapią. Prowadzone są również badania nad lekami hamującymi produkcję VEGF [59]. Z pewnością hamowanie nadmiernej aktywacji układu hemostazy oraz procesów angiogenezy w chorobie nowotworowej będą w przyszłości przedmiotem dalszych badań.

Piśmiennictwo

- Otten H-M, Prins MH. Venous thromboembolism and occult malignancy. *Thromb Res* 2001; 102: 187-94.
- Wojtukiewicz M. Zakrzepy a nowotwory. W: Zakrzepy i zatory, Łopaciuk S (red.). PZWL, Warszawa 2002.
- Baron JA, Gridley G, Weiderpass E, et al. Venous thromboembolism and cancer. *Lancet* 1998; 351: 1077-80.
- Piccioli A, Prandoni P. Venous thromboembolism as first manifestation of cancer. *Acta Haematol* 2001; 106: 13-17.
- Sorensen HT, Mellekjaer L, Olsen JH, Baron JA. Prognosis of cancer associated with venous thromboembolism. *NEJM* 2000; 343: 1846-50.
- Lee AYY. Treatment of venous thromboembolism in cancer patients. *Thromb Research* 2001; 102: 195-208.
- Bergqvist D. Venous thromboembolism and cancer: prevention of VTE. *Thromb Res* 2001; 102: 209-13.
- Letai A, Kuter DJ. Cancer, coagulation and anticoagulation. *Oncologist* 1999; 4: 443-9.
- Palumbo JS, Kombrinck KW, Drew AF, et al. Fibrinogen is an important determinant of the metastatic potential of circulating tumor cells. *Blood* 2000; 96: 3302-9.
- Sampson MT, Kakkar AK. Coagulation proteases and human cancer. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 201-7.
- Wojtukiewicz MZ, Tang DG, Ciarelli JJ, et al. Thrombin increases the metastatic potential of tumor cells. *Int J Cancer* 1993; 54: 793-806.
- Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest* 1987; 57: 673-86.
- Rickles FR, Falanga A. Molecular basis for the relationship between thrombosis and cancer. *Thromb Res* 2001; 102: 215-24.
- Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. *NEJM* 1986; 315: 1650-9.
- Wojtukiewicz MZ, Rucińska M. Aktywacja krzepnięcia krwi u chorych na nowotwory: implikacje kliniczne. *Nowotwory* 1999; 49: 381-91.
- Brown LF, van de Water L, Harvey VS, Dvorak HF. Fibrinogen influx and accumulation of cross-linked fibrin in healing wounds and tumor stroma. *Am J Pathol* 1988; 130: 455-65.
- Bouchet C, Hacene K, Martin PM, Becette V, Tubiana-Hulin M, Lasry S, Oglobine J, Spyrtos F. Dissemination risk index based on plasminogen activator system components in primary breast cancer. *J Clin Oncol* 1999; 17: 3048-57.
- Hoffman R, Haim N, Brenner B. Cancer and thrombosis revisited. *Blood Reviews* 2001; 15: 61-7.
- Kwaan HC, Parmar S, Wang J. Pathogenesis of increased risk of thrombosis in cancer. *Semin Thromb Hemost* 2003; 29: 283-90.
- Shoji M, Hancock WW, Abe K, et al. Activation of coagulation and angiogenesis in cancer: immunohistochemical localization in situ of clotting proteins and vascular endothelial growth factor in human cancer. *Am J Pathol* 1998; 152: 399-411.
- Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. *J Mol Med* 1999; 77: 527-43.
- Gawrychowski K, Skopińska-Różewska E, Barcz E i wsp. Rola naczyniowego czynnika wzrostu śródbłonna (VEGF) w powstawaniu wysięku otrzewnowego u chorych na raka jajnika. *Nowotwory* 1999; 49: 19-20.
- Nagy JA, Masse EM, Herberg KT, et al. Pathogenesis of ascites tumor growth: vascular permeability factor, vascular hyperpermeability and ascites fluid accumulation. *Cancer Res* 1995; 55: 360-8.
- Ribatti D, Vacca A, De Falco G, Ria R, Roncali L, Dammacco F. Role of hematopoietic growth factors in angiogenesis. *Acta Haematol* 2001; 106: 157-61.
- Roberts WG, Palade GE. Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor. *J Cell Sci* 1995; 108: 2368-79.
- Bertolini F, Mancuso P, Gobbi A, Pruneri G. The thin red line: angiogenesis in normal and malignant hematopoiesis. *Exp Hematol* 2000; 28: 993-1000.
- Ferrara N. VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 795-803.
- Gerber HP, Ferrara N. The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis. *J Mol Med* 2003; 81: 20-31.
- Risau W. Mechanism of angiogenesis. *Nature* 1997; 186: 671-4.
- Brown LF, Berse B, Jackman RW, et al. Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. *Hum Pathol* 1995; 26: 86-91.
- Brown LF, Guidi AJ, Schnitt SJ, Van De Water L, Iruela-Arispe ML, Yeo TK, Tognazzi K, Dvorak HF. Vascular stroma formation in carcinoma in situ, invasive carcinoma, and metastatic carcinoma of the breast. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1041-56.
- De Vita F, Orditura M, Lieto E, et al. Elevated perioperative serum vascular endothelial growth factor levels in patients with colon carcinoma. *Cancer* 2004; 100: 270-8.
- Guidi AJ, Abu-Jawdeh G, Berse B, Jackman RW, Tognazzi K, Dvorak HF, Brown LF. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) expression and angiogenesis in cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1237-45.
- Thielemann A, Kopczyński Z, Grodecka-Gazdecka S, Piekarska B. Ocena stężenia naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu VEGF u chorych na raka gruczołu piersiowego. *Diag Lab* 2005; 41: 154-61.
- Shariat SF, Anwuri VA, Lamb DJ, Shah NV, Wheeler TM, Slawin KM. Association of preoperative plasma levels of vascular endothelial growth factor and soluble vascular cell adhesion molecule-1 with lymph node status and biochemical progression after radical prostatectomy. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1655-63.

36. Takahashi Y, Kitadai Y, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR correlates with vascularity, metastasis and proliferation of human colon cancer. *Can Res* 1995; 55: 3964-68.
37. Aguayo A, Kantarjian HM, Estey EH, et al. Plasma vascular endothelial growth factor levels have prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia but not in patients with myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2002; 95: 1923-30.
38. Chan LW, Moses MA, Goley E, et al. Urinary VEGF and MMP levels as predictive markers of 1-year progression-free survival in cancer patients treated with radiation therapy: a longitudinal study of protein kinetics throughout tumor progression and therapy. *J Clin Oncol* 2004; 22: 499-506.
39. Lind SE, Caprini JA, Goldshteyn S, Dohnal JC, Vesely SK, Shevrin DH. Correlates of thrombin generation in patients with advanced prostate cancer. *Thromb Haemost* 2003; 89: 185-9.
40. Roselli M, Mineo TC, Basili S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF-A) plasma levels in non-small cell lung cancer: relationship with coagulation and platelet activation markers. *Thromb Haemost* 2003; 89: 177-84.
41. Seo Y, Baba H, Fukuda T, Takashima M, Sugimachi K. High expression of vascular endothelial growth factor is associated with liver metastasis and poor prognosis in ductal pancreatic adenocarcinoma. *Cancer* 2000; 88: 2239-45.
42. Prager GW, Breuss JM, Steurer S, Mihaly J, Binder BR. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces rapid prourokinase (pro-uPA) activation on the surface of endothelial cells. *Blood* 2004; 103: 955-62.
43. Lee JH, Ryu KW, Kim S, Bae JM. Preoperative plasma fibrinogen levels in gastric cancer correlate with extent of tumor. *Hepatogastroenterol* 2004; 51: 1860-3.
44. Sallah S, Wan JY, Nguyen NP, Hanrahan LR, Sigounas G. Disseminated intravascular coagulation in solid tumors: clinical and pathologic study. *Thromb Haemost* 2001; 86: 828-33.
45. Sun NC, McAfee WM, Hum GJ, Weiner JM. Hemostatic abnormalities in malignancy, a prospective study of one hundred eight patients. *Am J Clin Pathol* 1979; 71: 10-16.
46. Blackwell K, Haroon Z, Broadwater G, et al. Plasma D-dimer levels in operable breast cancer patients correlate with clinical stage and axillary lymph node status. *J Clin Oncol* 2000; 18: 600-8.
47. Blackwell K, Hurwitz H, Lieberman G, Novotny W, Snyder S, Dewhirst M, Greenberg C. Circulating D-dimer levels are better predictors of overall survival and disease progression than carcinoembryonic antigen levels in patients with metastatic colorectal carcinoma. *Cancer* 2004; 101: 77-82.
48. Dirix LY, Salgado R, Weytjens R, et al. Plasma fibrin D-dimer levels correlate with tumour volume, progression rate and survival in patients with metastatic breast cancer. *Br J Cancer* 2002; 86: 389-95.
49. Gadducci A, Baicchi U, Marrai R, Ferdeghini M, Bianchi R, Facchini V. Preoperative evaluation of D-dimer and CA 125 levels in differentiating benign from malignant ovarian masses. *Gynecol Oncol* 1996; 60: 197-202.
50. Kim HK, Song KS, Lee KR, Kang YH, Lee YJ, Lee ES. Comparison of plasma D-dimer and thrombus precursor protein in patients with operable breast cancer as a potential predictor of lymph node metastasis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004; 15: 9-13.
51. Oya M, Akiyama Y, Yanagida T, Akao S, Ishikawa H. Plasma D-dimer level in patients with colorectal cancer: its role as a tumor marker. *Surg Today* 1998; 28: 373-8.
52. Taguchi O, Gabazza EC, Yasui H, Kobayashi T, Yoshida M, Kobayashi H. Prognostic significance of plasma D-dimer levels in patients with lung cancer. *Thorax* 1997; 52: 563-565.
53. Wojtukiewicz MZ, Rucinska M, Kloczko J, Dib A, Galar M. Profiles of plasma serpins in patients with advanced malignant melanoma, gastric cancer and breast cancer. *Haemostasis* 1998; 28: 7-13.
54. Negrier S, Perol D, Menetrier-Caux C, et al.; Groupe Francais d'Immunotherapie. Interleukin-6, interleukin-10, and vascular endothelial growth factor in metastatic renal cell carcinoma: prognostic value of interleukin-6—from the Groupe Francais d'Immunotherapie. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2371-8.
55. Zacharski LR, Henderson WG, Rickles FR, et al. Effect of warfarin anticoagulation on survival in carcinoma of the lung, colon, head and neck and prostate. Final report of VA Cooperative Study #75. *Cancer* 1984; 53: 2046-52.
56. Zacharski LR, Prandoni P, Monreal M. Warfarin versus low-molecular-weight heparin therapy in cancer patients. *The Oncologist* 2005; 10: 72-9.
57. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335-42.
58. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, et al. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 427-34.
59. Buchler P, Reber HA, Buchler MW, Friess H, Lavey RS, Hines OJ. Antiangiogenic activity of genistein in pancreatic carcinoma cells is mediated by the inhibition of hypoxia-inducible factor-1 and the down-regulation of VEGF gene expression. *Cancer* 2004; 100: 201-10.

Wykaz stosowanych skrótów

α 2-AP – alfa-2-antypolizmina

APTT (ang. *activated partial thromboplastin time*) – czas częściowej tromboloplastyny po aktywacji

DD – dimery D

FDP (ang. *fibrinogen/fibrin degradation products*) – produkty degradacji fibrynowy i fibryny

n – liczba pacjentek

ns – nieistotne statystycznie, $p \geq 0,05$

p – poziom istotności statystycznej

Plt – liczba płytek krwi

PT (ang. *prothrombin time*) – czas protrombinowy

SD (ang. *standard deviation*) – odchylenie standardowe

TF (ang. *tissue factor*) – czynnik tkankowy

uPA (ang. *urokinase-type plasminogen activator*) – urokinazowy aktywator plazminogenu

VEGF (ang. *vascular-endothelial growth factor*) – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu

Adres do korespondencji

dr med. **Anna Łojko**

Klinika Hematologii i Chorób Rozrostowych Układu Krwiotwórczego

Akademia Medyczna

Oddział Transplantacji Szpiku

ul. Szamarzewskiego 84,

60-569 Poznań

tel./faks +48 61 854 9571

tel. +48 606 812 743

e-mail: lojko@mp.pl