

Skuteczność walki z chorobą nowotworową zależy od wczesnego jej wykrycia. W tym celu stosuje się m.in. biochemiczne markery nowotworowe. Ostatnio odkryty enzym, nazwany prokoagulantem nowotworowym (CP), w wykrywaniu choroby nowotworowej może być bardziej skuteczny od innych dotychczas stosowanych markerów w diagnostyce onkologicznej.

Celem pracy była ocena aktywności prokoagulantu nowotworowego w surowicy krwi pacjentów z rakiem nerki oraz w tkankach raka nerki, jak również próba wykorzystania badania tego enzymu w diagnostyce onkologicznej układu moczowego. Badaniu poddano 23 osoby z rakiem nerki potwierdzonym histopatologicznie. Grupę odniesienia stanowiła krew pobrana od 15 osób zdrowych oraz tkanki prawidłowe pobrane śródoperacyjnie z miejsc sąsiadujących z nowotworem. Aktywność CP w surowicy krwi oznaczano metodą koagulacyjną wg Gordona i Bensona, wyrażając ją czasem krzepnięcia w sekundach (s). Aktywność CP w 10 proc. homogenatach tkankowych oznaczano spektrofotometrycznie metodą chromogenną według Collucci i wsp. wyrażając aktywność enzymu w nmolach uwolnionej p-nitroaniliny (pNa) /mL. Aktywność CP w surowicy krwi pacjentów z rakiem nerki wynosiła $98,5 \pm 23,0$ s, natomiast u osób zdrowych $293,7 \pm 21,4$ s. Podobnie, aktywność CP w 10 proc. homogenatach tkanek raka nerki miała wartość $40,8 \pm 14,6$ nmol pNa/mL, natomiast w tkankach nie zajętych procesem złośliwym $23,8 \pm 9,3$ nmol pNa/mL. Zarówno w przypadku badania surowicy krwi, jak i homogenatów tkankowych, różnice między aktywnością CP w materiale badanym i kontrolnym były statystycznie istotne. Uzyskane wyniki wskazują, że badanie aktywności CP może być wykorzystane w diagnostyce onkologicznej układu moczowego.

Słowa kluczowe: prokoagulant nowotworowy, rak nerki.

Aktywność prokoagulantu nowotworowego (CP) w przypadkach raka nerki

Activity of the cancer procoagulant in renal cancer

Barbara Darewicz, Tomasz Domel, Małgorzata Gorzel, Jacek Kudelski, Sławomir Szajda, Marcin Chlabicz, Marta Konopko

Klinika Urologii, Samodzielna Pracownia Ogólnej Analityki Klinicznej Akademii Medycznej w Białymstoku

WSTĘP

Biochemiczne markery nowotworowe coraz częściej pozwalają na wczesne wykrycie choroby nowotworowej i skuteczne jej leczenie. Jednak w diagnostyce onkologicznej brak jest markerów charakteryzujących się wysoką czułością i swoistością [1]. Badania ostatnich lat zwracają uwagę na nowy biochemiczny marker nowotworowy, którym jest proteinaza cysteinowa nazwana prokoagulantem nowotworowym (*cancer procoagulant*, CP) [2, 3]. Enzym ten występuje u ludzi chorych na nowotwory złośliwe, a nie występuje u osób zdrowych [3]. Aktywuje on kaskadę krzepnięcia krwi w chorobie nowotworowej poprzez bezpośrednią aktywację czynnika X bez udziału fosfolipidów, czynnika VII i czynnika VIII [4, 5]. Ponieważ CP występuje u chorych z nowotworami złośliwymi, istnieje możliwość wykorzystania badania jego aktywności nie tylko do wykrywania raka, ale również do monitorowania leczenia chorych oraz wczesnego wykrywania wznowy [6]. Wysoką aktywność CP stwierdzono w przypadkach raka przełyku, żołądka i jelita grubego [7], płuca [8], piersi [8, 9], raka trzonu macicy i jajnika [10] oraz innych nowotworów [11].

Celem pracy była ocena aktywności prokoagulantu nowotworowego w surowicy krwi pacjentów z rakiem nerki oraz w tkankach raka nerki, jak również próba wykorzystania badania tego enzymu w diagnostyce onkologicznej układu moczowego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badany stanowiły tkanki raka nerki oraz tkanki prawidłowe sąsiadujące z nowotworem, niezmiernie chorobowo, pobrane w czasie zabiegu operacyjnego i potwierdzone badaniem histopatologicznym. Raka nerki (*carcinoma clarcellulare renis*) rozpoznano u 23 chorych w wieku 43–74 lat, w II stopniu klinicznego zaawansowania.

Krew do badań pobierano z żyły łokciowej w sposób typowy – od badanych chorych oraz od 15 zdrowych kobiet i mężczyzn – woltariuszy, w wieku od 20 do 55 lat. Badani nie byli uprzednio poddani chemioterapii ani radioterapii.

Aktywność CP w surowicy krwi oznaczono metodą koagulacyjną wg Gordona i Bensona [1], a jego aktywność wyrażono czasem krzepnięcia w sekundach (s). Wyższa aktywność badanego enzymu powodowała skrócenie czasu krzepnię-

The investigation was aimed to evaluate activity of the cancer procoagulant in blood serum and cancer tissue of patients with renal cancer and its use in the oncological urology diagnostics. Twenty three patients with renal cancer made up the investigated group (serum and cancer tissue). The control group consisted of serum of the 15 healthy individuals and the normal renal tissue localized close to the renal cancer. The CP activity expressed by the coagulation time (in seconds) has been determined according to the Gordon and Benson's coagulation method.

The CP activity in 10% tissue homogenate has been determined by means of spectrophotometry using the Colluci chromogen method where the enzyme activity is expressed by nmol of released p-nitroanilin (pNa/mL).

The CP activity in patients' serum reached 98.5 ± 23.0 s for kidney cancer patients and 293.7 ± 21.4 s in healthy persons.

The CP activity in 10% tissue homogenate of the renal cancer was 40.8 ± 14.6 nmol of pNa/mL and in the normal tissue reached 23.8 ± 9.3 nmol of pNa/mL.

The said difference is significant statistically.

That is why we suggest using the idea of CP activity determination in the renal cancer diagnostics.

Key words: cancer procoagulant, renal carcinoma.

cia, a niższa wydłużała czas krzepnięcia. Aktywność CP oznaczono również w 10 proc. homogenatach tkanek raka nerki i tkanek prawidłowych, selektywną dla tego enzymu metodą chromogenną wg Collucci i wsp. [12] i wyrażano ją ilością uwolnionej p-nitroaniliny (pNa) w nmol/mL. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą testu Manna-Whitneya.

WYNIKI

Uzyskane wyniki wskazują, że aktywność CP w surowicy krwi chorych z rakiem nerki wynosi $98,5$ s ($\pm 23,0$ s), natomiast aktywność CP w surowicy krwi osób zdrowych ma wartość $293,7$ s ($\pm 21,4$ s) (tab. 1.). Aktywność CP w homogenatach tkanek raka nerki wynosi $40,8$ ($\pm 14,6$) nmol pNa/mL, a w homogenatach prawidłowej tkanki nerki $23,8$ ($\pm 9,3$) nmol pNa/mL (tab. 2.). Różnice w aktywności CP między grupami badanymi a odpowiednimi grupami kontrolnymi są wysoce istotne statystycznie ($p < 0,001$) (tab. 1. i 2.)

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wskazują, że w przypadkach raka nerki aktywność CP zarówno w surowicy krwi, jak i w homogenatach badanych tkanek nowotworowych, przewyższa aktywność enzymu w sposób znamieny statystycznie, w odpowiednim materiale kontrolnym. Aktywność CP w surowicy krwi chorych z rakiem nerki jest około trzykrotnie wyższa od aktywności badanego enzymu w surowicy krwi osób zdrowych. Również w tkankach raka nerki aktywność CP jest około dwukrotnie wyższa niż w odpowiednich tkankach prawidłowych. Wysoką aktywność CP wykazano w nowotworach przewodu pokarmowego [7], piersi [8, 9], płuca [8], jajnika [10] oraz w innych nowotworach [11].

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że ocena aktywności CP może być wykorzystana do wykrywania raka nerki. Badania aktywno-

ści CP w przypadkach raka przełyku, żołądka i jelita grubego dowodzą, że enzym ten może być wykorzystany nie tylko do wykrywania nowotworu, ale również do monitorowania leczenia chorych [6]. Wykazano, że aktywność CP w surowicy krwi pacjentów, którym usunięto raka przełyku, żołądka lub jelita grubego, malała po zabiegu operacyjnym radykalnym, natomiast utrzymywała się na wysokim poziomie po zabiegu nieradykalnym lub po stwierdzeniu przerzutów [5]. Po radykalnym usunięciu raka płuca również nastąpiło obniżenie aktywności CP, natomiast po niecałkowitym usunięciu guza, aktywność enzymu utrzymywała się na wysokim poziomie [8]. Mielicki i wsp. [13] wykazali związek między stężeniem CP w surowicy krwi a masą guza w nowotworze *Guerin epithelioma*. Stężenie CP wzrastało we krwi w okresie intensywnego wzrostu guza oraz malało w fazie terminalnej. Badania Kożuszko i wsp. [7] dowodzą, że w przypadkach raka przełyku, żołądka i jelita grubego o wyższym stopniu złośliwości histopatologicznej występuje wyższa aktywność CP.

Na podstawie uzyskanych wyników należy przypuszczać, że wykazana podwyższona aktywność CP może powodować wzmożone krzepnięcie krwi u chorych z nowotworami układu moczowego. Zaburzenia krzepnięcia krwi, towarzyszą chorobie nowotworowej i występują u ok. 50–60 proc. chorych na nowotwory złośliwe i u ok. 95 proc. pacjentów z rozsianą chorobą nowotworową [14]. Mogą one polegać na nasilonej aktywacji krzepnięcia krwi spowodowanej wytwarzaniem przez komórki nowotworowe prokoagulantem nowotworowym (CP). Prokoagulant ten nasila krzepnięcie krwi przez bezpośrednią aktywację X czynnika krzepnięcia, bez udziału czynnika VII i czynnika VIII [4, 5]. Stwierdzono również zdolność CP do stymulacji adhezji płytek krwi [15].

Na podstawie przeprowadzonych w niniejszej pracy badań oraz da-

Tab. 1. Wyniki badania aktywności CP w surowicy krwi pacjentów z rakiem nerki oraz osób zdrowych

| Surowica krwi | Czas krzepnięcia (s) | | p |
|--------------------------|----------------------|------|--------|
| | \bar{X} | SD± | |
| pacjentów z rakiem nerki | 98,5 | 23,0 | <0,001 |
| osób zdrowych | 293,7 | 21,4 | – |

Tab. 2. Wyniki badania aktywności CP w homogenatach tkanek raka nerki oraz tkanek prawidłowych

| Homogenat | nmol pNa/mL | | p |
|---------------------------|-------------|------|--------|
| | \bar{X} | SD± | |
| tkanek raka nerki | 40,8 | 14,6 | <0,001 |
| tkanek prawidłowych nerki | 23,8 | 9,3 | – |

nych zawartych w piśmiennictwie, należy uznać CP za nowy biochemiczny marker nowotworowy, który może być wykorzystany w diagnostyce onkologicznej, zarówno do wykrywania raka, jak również do monitorowania leczenia chorych.

WNIOSKI

- ▶ Aktywność prokoagulantu nowotworowego (CP) w surowicy krwi chorych z rakiem nerki jest znacznie wyższa niż w surowicy krwi osób zdrowych.
- ▶ W homogenatach tkanek raka nerki aktywność CP jest wyraźnie wyższa niż w homogenatach odpowiednich tkanek prawidłowych.
- ▶ Ocena aktywności CP w przypadkach raka nerki może być wykorzystana w diagnostyce onkologicznej układu moczowego.

PIŚMIENICTWO

1. Gordon SG, Benson B. *Analysis of serum cancer procoagulant activity and its potential as a tumor marker.* Thromb Res 1989; 56: 431-40.
2. Gordon SG, Franks JJ, Lewis B. *Cancer procoagulant: A factor X activating procoagulant from malignant tissue.* Thromb Res 1975; 6: 127-37.
3. Gordon SG, Franks JJ, Lewis BJ. *Comparison of procoagulant activities in extracts of normal and malignant human tissue.* J Nat Cancer Inst 1979; 62: 773-6.
4. Gordon SG, Cross BA. *A factor X activating cysteine protease from malignant tissue.* J Clin Invest 1981; 67: 1665-71.
5. Gordon SG, Mourad AM. *The site of activation of factor X by cancer procoagulant.* Blood Coagul Fibrinolysis 1991; 2: 735-9.
6. Kożuszko B, Skrzydlewska E, Snarska J, Kozłowski M, Zalewski B, Skrzydlewski Z. *Cancer procoagulant as marker in monitoring the therapy in cases of oesophageal, stomach and colorectal cancer.* Folia Histochem Cytobiol 2001; 39 (Suppl. 2): 104-5.
7. Kożuszko B, Skrzydlewski Z, Sulkowska M, Snarska J, Kozłowski M, Skrzydlewska E, Zalewski B. *Aktywność prokoagulantu nowotworowego w przypadkach raka przełyku, żołądka i jelita grubego z uwzględnieniem stopnia klinicznego zaawansowania i typu histologicznego nowotworu.* Pol Merk Lek 2001; 63: 218-20.
8. Rucińska M, Furman M, Skrzydlewski Z, Zaremba E. *Activity of cancer procoagulant (CP) in serum of patients with cancer of lung, breast, oesophagus and colorectum.* Acta Biochim Pol 1997; 44: 109-12.
9. Mielicki WP, Tenderenda M, Rutkowski P, Chojnowski K. *Activation of blood coagulation and the activity of cancer procoagulant in breast cancer patients.* Cancer Lett 1999; 146: 61-6.
10. Szajda SD, Józwick M, Wiśniewski R, Skrzydlewski Z. *Aktywność prokoagulantu nowotworowego (CP) w surowicy krwi w przypadkach nowotworów narządów płciowych wewnętrznych u kobiet.* Współczesna Onkologia 2002; 9: 571-4.
11. Snarska J, Szajda S, Skrzydlewski Z. *Ocena przydatności diagnostycznej prokoagulantu nowotworowego w przypadkach raka trzustki, wątroby i jajnika.* Pol Merk Lek 2003; w druku.
12. Colluci M, Curatolo I, Donati MB, Semeraro N. *Cancer cell procoagulant activity: evaluation by an amidolytic assay.* Thromb Res 1980; 18: 589-95.
13. Mielicki WP, Wierzbicki R. *Cancer procoagulant in serum of rats during development of experimental epithelioma.* Int J Cancer 1990; 45: 125-6.
14. Glassman AB, Jones E. *Thrombosis and coagulation abnormalities associated with cancer.* Ann Clin Lab Sci 1994; 24: 1-5.
15. Olas B, Mielicki WP, Wachowicz B, Krajewski T. *Cancer procoagulant stimulates platelet adhesion.* Thromb Res 1999; 94: 199-203.

ADRES DO KORESPONDENCJI

prof. dr hab. med. **Zdzisław Skrzydlewski**
 Samodzielna Pracownia
 Ogólnej Analityki Klinicznej
 Akademia Medyczna
 ul. Mickiewicza 2c
 15-089 Białystok
 tel. 0 (prefiks) 85 748 56 06
 e-mail: spoak@amb.edu.pl