

Kliniczne obserwacje przebiegu chorób nowotworowych u ludzi dostarczyły w ostatnim czasie wielu informacji o patogenetycznym związku nowotworu z układem hemostazy.

Oddziaływanie guza nowotworowego z ustrojem gospodarza może manifestować się nadkrzepliwością krwi, zmianami o charakterze skaz krwotocznych wraz z zaburzeniami układu fibrynolizy. Główne komponenty w aktywacji fibrynolizy zawierają plazminogen, tkankowy aktywator plazminogenu (tPA), aktywator plazminogenu typu urokinazy (u-PA), receptor aktywatora plazminogenu typu urokinazy (uPAR) i inhibitory aktywatora plazminogenu-1 i -2 (PAI-1, PAI-2). Te komponenty zależą od obszernej regulacji i wzajemnego współdziałania molekuł komórkowych.

Aktywator plazminogenu typu urokinazy (u-PA) kontroluje degradację macierzy przez konwersję plazminogenu do plazminy i jest krytycznym początkiem dla powstawania plazminy podczas migracji komórki i inwazji w powstawaniu przerzutów nowotworowych. Aktywność proteolityczna uPA jest odpowiedzialna za aktywację albo uwalnianie kilku czynników wzrostu i moduluje stosunek przeżycia komórek do apoptozy przez dynamiczną kontrolę kontaktów komórka – macierz. Receptor urokinazy (uPAR), zwiążując do EGF domenę uPA, kieruje zewnątrzkomórkową proteolizą i przekazuje sygnały przez białka przez błonowe, w ten sposób regulując migrację komórki, przyleganie i stan cytoszkieletu. Jednakże ostatnie dowody wskazują na zawiłą relację systemu uPA/uPAR, odgrywającą znaczącą rolę w procesach wzrostu komórki i apoptozy.

Słowa kluczowe: fibrynoliza, tPA, uPA, uPAR, choroba nowotworowa.

Fibrynoliza w procesie nowotworowym

Fibrinolysis in neoplastic process

Krzysztof Roszkowski, Ewa Ziółkowska

Oddział Radioterapii, Centrum Onkologii w Bydgoszczy

Wstęp

Badania nad doświadczalnymi nowotworami u zwierząt oraz kliniczne obserwacje przebiegu chorób nowotworowych u ludzi dostarczyły w ostatnim czasie wielu informacji o patogenetycznym związku nowotworu z układem hemostazy [1–4].

Okazało się, że zaburzenia wykrywane w testach laboratoryjnych, świadczące o aktywacji krzepnięcia i fibrynolizy, występują u większości chorych z nowotworami, również u tych, u których brak jest klinicznie wykrywalnych objawów zaburzeń układu fibrynolizy.

Oddziaływanie guza nowotworowego z ustrojem gospodarza może manifestować się nadkrzepliwością krwi, zmianami o charakterze skaz krwotocznych wraz z zaburzeniami układu fibrynolizy [4, 5].

Nowotwory złośliwe mogą wytwarzać 3 rodzaje substancji fibrynolitycznych:

- 1) aktywatory plazminogenu:
 - t-PA (tkankowy aktywator plazminogenu),
 - u-PA (aktywator plazminogenu typu urokinazy),
- 2) inhibitory aktywacji plazminogenu typu:
 - PAI-1 (inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu typu 1),
 - PAI-2 (inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu typu 2),
- 3) receptory uPAR [6].

W niektórych typach nowotworów obserwuje się podwyższoną aktywność fibrynolityczną, jak np. w raku niedrobnokomórkowym płuc. Świadczą o tym następujące parametry: wzrost stężenia i aktywności t-PA i u-PA, wzrost stężenia produktów degradacji fibrynogenu i fibryny oraz spadek stężenia plazminogenu, PAI-1 i alfa-2-antyplazminy [4, 7–9].

Nowotwory aktywują układ fibrynolizy w dwojaki sposób:

- 1) pierwotny – przez bezpośrednie pobudzenie fibrynogenolizy poprzez syntezę aktywatorów t-PA i u-PA,
- 2) wtórny – przez początkową aktywację krzepnięcia z następczą fibrynolizą i fibrynogenolizą [2, 3, 10–12].

Tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA)

Obecność t-PA wykryto w wielu ludzkich tkankach nowotworowych [12–15]. t-PA wytwarzany jest głównie w komórkach śródbłonna naczyń w postaci jednocłańcuchowego polipeptydu sct-PA (*single-chain-t-PA*) [9, 16, 17]. t-PA aktywuje plazminogen tylko w obecności włóknika, przy czym jednocłańcuchowa postać znacznie lepiej wiąże się z włóknikiem niż forma dwucłańcuchowa [18–21]. Wiązanie z włóknikiem odgrywa kluczową rolę w zachowaniu specyficzności t-PA, polegającej na aktywacji plazminogenu i uruchamianiu procesu fibrynolizy tylko w obrębie powstałego zakrzepu, a nie w całej krążącej krwi [18, 22].

Zawartość t-PA w osoczu jest bardzo niska i u osób zdrowych waha się w granicach 3–10 µg/l. Stężenie t-PA wykazuje znaczne wahania dobowe –

Clinical observation of the course of neoplastic diseases have recently delivered a lot of information about the pathogenetic relationship of the tumor and the hemostasis system.

Interaction of the neoplastic tumor and the patient's organism may demonstrate the hypercoagulability of blood, changes in the nature of hemorrhagic diathesis together with disorders of the fibrinolysis system.

Main components in the fibrinolysis activation include plasminogen, tissue plasminogen activator (tPA), urokinase plasminogen activator (uPA), urokinase plasminogen activator receptor (uPAR), and plasminogen activator inhibitors-1 and -2 (PAI-1, PAI-2). These components are subject to extensive regulation and interactions with, for example, cellular adhesion molecules.

The urinary-type plasminogen activator (uPA) controls matrix degradation through the conversion of plasminogen into plasmin and is regarded as the critical trigger for plasmin generation during cell migration and invasion, under physiological and pathological conditions (such as cancer metastasis). The proteolytic activity of uPA is responsible for the activation or release of several growth factors and modulates the cell survival/apoptosis ratio through the dynamic control of cell-matrix contacts. The urokinase receptor (uPAR), binding to the EGF-like domain of uPA, directs membrane-associated extracellular proteolysis and signals through transmembrane proteins, thus regulating cell migration, adhesion and cytoskeletal status. However, recent evidence highlights an intricate relationship linking the uPA/uPAR system to cell growth and apoptosis.

Key words: fibrinolysis, tPA, uPA, uPAR, neoplastic diseases.

rośnie w ciągu dnia od 9 do 15 $\mu\text{g/l}$, a spada w nocy, osiągając minimalne wartości w godzinach rannych [23, 24]. Wzrost uwalniania t-PA do krwiobiegu może wystąpić pod wpływem wysiłku fizycznego, stresu, w okresie ciąży i połogu. Na jego wydzielanie wpływają stymulująco liczne związki chemiczne, jak alkohol, kwas nikotynowy, endotoksyny bakteryjne oraz substancje naczynioruchowe: serotonina, adrenalina, histamina, noradrenalina, białko C, prostaglandyny PGE1 i PGE2 [17, 21, 22]. Za szybkie usuwanie t-PA z krążenia odpowiedzialne są komórki wątroby oraz komórki śródbłonna.

Aktywator plazminogenu typu urokinazy (u-PA)

Jest syntetyzowany w formie jednołańcuchowej glikoproteiny w wielu typach komórek: fibroblastach, pneumocytach, komórkach śródbłonna, a także w komórkach nowotworowych [3, 25, 26]. Prawidłowe stężenie u-PA w surowicy wynosi 3–8 $\mu\text{g/ml}$. Wykazano, że jest ono wyższe u mężczyzn niż u kobiet, u których dodatkowo istnieje zależność od cyklu miesięcznego (u-PA obniża się w okresie po owulacji) [24]. Zwiększenie poziomu u-PA zaobserwowano również w procesach różnicowania tkanek, odczynach, okluzji naczyń i proliferacji komórek nowotworowych [20, 22, 25, 26]. Aktywator plazminogenu typu urokinazy nie wykazuje specyficzności wiązania fibryny, ale bierze ważny udział w procesach fibrynolizy tkankowej, towarzyszącej owulacji, zagnieżdżaniu komórki jajowej, rozwojowi płodu i rozrostowi nowotworowemu. Odgrywa też istotną rolę w nowotworowym przekształcaniu komórek, w procesach rozprzestrzeniania się i odległego rozsiewu nowotworów [7, 17, 22, 27, 28].

Inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu typu I (PAI-1)

PAI-1 występuje w komórkach śródbłonna, osoczu, hepatocytach, łożysku, komórkach mięśni gładkich, fibroblastach płuc, a także w ziarnistościach płytek krwi, skąd może być uwalniany podczas ich aktywacji [29, 30]. Produkowany jest także przez komórki nowotworowe mięsaka włóknistego i raka wątroby [8, 9, 11]. W warunkach fizjologicznych ekspresję PAI w komórkach regulują głównie hormony glukokortykoidowe, cykliczne nukleotydy i czynniki wzrostowe. W osoczu bezpłytkowym ludzi zdrowych znajduje się ok. 10 $\mu\text{g/ml}$ PAI-1. Jego stężenie ma swój cykl dobowy – spada w dzień i rośnie w nocy. Wzrost zawartości inhibitora zwiększa się z wiekiem [11, 24]. Podwyższony poziom PAI-1 w osoczu związany jest z chorobami nowotworowymi, infekcjami bakteryjnymi, ostrymi stanami zapalnymi (np. trzustki, wątroby i mięśnia sercowego) i chorobą zakrzepową żył. Aktywność PAI-1 wzrasta też gwałtownie po zabiegach chirurgicznych [11, 29, 30].

Inhibitor aktywatora plazminogenu typu 2 (PAI-2)

PAI-2 jest glikoproteiną. Syntetyzowany jest w monocytach i makrofagach [12, 17]. Stężenie PAI-2 w osoczu ludzi zdrowych wynosi poniżej 5 $\mu\text{g/ml}$. W warunkach fizjologicznych wyższe stężenie PAI-2 występuje tylko w osoczu kobiet w ciąży i wzrasta wraz z jej rozwojem do wartości 485 $\mu\text{g/ml}$, osiągając maksymalne stężenie w III trymestrze. W stanach patologicznych podwyższone stężenie PAI-2 w osoczu związane jest z chorobami nowotworowymi, zaobserwowano je również w DIC-u i w chorobie Alzheimera [11, 12, 19, 30].

Receptory uPAR

Odkrycie receptorów uPAR stanowi najnowszy fragment wiedzy o układzie fibrynolitycznym. Dzięki poznaniu funkcji tych receptorów, udało się potwierdzić przebieg fibrynolizy nie tylko w osoczu i płynach jam ciała, ale także na powierzchni komórek i w tkankach [31]. Obecność receptorów uPAR stwierdzono na powierzchni niektórych komórek, takich jak monocyty, neutrofile czy komórki nowotworowe. Ponadto wykryto je w ekstraktach z łożyska i guzów nowotworowych. Występują także w wysięku nowotworowym i osoczu krwi w tzw. formie rozpuszczalnej [6, 32, 33]. Odkryto również no-

wy mechanizm, w którym uPAR łącznie z innymi czynnikami uczestniczy w aktywacji okołokomórkowej proteolizy i może aktywować proces supresji nowotworu [34, 35].

Trwają próby prognozowania przebiegu choroby nowotworowej na podstawie pomiarów i oceny składników układu hemostazy. Badania wykazały, że układ ten odgrywa istotną rolę w powstawaniu i rozprzestrzenianiu się nowotworu [1, 28, 32, 34].

Piśmiennictwo

- Nakstad B, Lyberg T, Skjonsberg OH, Boye NP. Local activation of the coagulation and fibrinolysis systems in lung disease. *Thromb Res* 1990; 57: 827-38.
- Kondera-Anasz Z, Gisman K, Mertas A. Wybrane parametry krzepnięcia i fibrynolizy oraz przeciwciała przeciwfibrynogenowe w raku płuca. *Pneumonol Alergol Pol* 1993; 61: 461-6.
- Mechanizmy fizjologiczne krzepnięcia krwi i fibrynolizy. W: Kopeć M. *Hematologia kliniczna*. T. I. Red. Janicki K. PZWL, Warszawa 1991; 191-216.
- Tałałaj J. Parametry krzepnięcia i fibrynolizy w nowotworowych wysiękach płucnych. *Pneumonol Alergol Pol* 1995; 63: 334-9.
- Gabazza E, Taguchi O, Yamakami T, Machishi M, Ibata H, Suzuki S. Correlation between increased granulocyte elastase release and activation of blood coagulation in patients with lung cancer. *Cancer* 1993; 72: 2134-40.
- Uszyński M. Wytwarzanie substancji fibrynolitycznych przez nowotwory. Skutki patogenetyczne. *Gin Pol* 1999; 70: 105-11.
- Gabazza EC, Taguchi O, Yamakami T, Machishi M, Ibata H, Tsutsui KL, Suzuki S. Coagulation-fibrinolysis system and markers of collagen metabolism in lung cancer. *Cancer* 1992; 70: 2631-6.
- Farbiszewski R. Rola aktywatorów plazminogenu oraz produktów degradacji fibrynogenu/fibryny i fibropeptydów we wzroście i powstawaniu przerzutów nowotworowych. *Post Hig Med Dośw* 1984; 38: 133-55.
- Kotschy M, Kotschy D. Proces hemostazy w chorobach nowotworowych. *Diagn Lab* 1996; 32: 503-10.
- Łopaciuk S. Zakrzepy i zatory. PZWL, Warszawa 1996; s. 80-87.
- Mirowski M, Wierzbicki R. Specyficzne inhibitory aktywatorów plazminogenu. *Post Hig Med Dośw* 1993; 47: 149-59.
- Ozdemir O, Emri S, Karakoca Y, Sayinalp N, Akay H, Dundar S, Baris I. Fibrinolytic system in plasma and pleural fluid in malignant pleural mesothelioma. *Thromb Res* 1996; 84: 121-8.
- Ponahajba A. Zaburzenia w układzie krzepnięcia i fibrynolizy w przebiegu choroby nowotworowej. *Pneumonol Pol* 1988; 9: 393-8.
- Uszyński M, Miodońska J, Żekanowska E. Transient increase in thrombin generation during radiotherapy of uterine carcinoma. A preliminary study using thrombin-antithrombin III complex measurements. *Gynecol Obstet Invest* 1998; 46: 130-2.
- Wojtukiewicz M. Kliniczne aspekty aktywacji krzepnięcia krwi w chorobie nowotworowej. *Acta Haematol Pol* 1991; 28, suppl. I: 79-93.
- Bykowska K. Rola serpin w regulacji mechanizmów hemostazy. *Post Hig Med Dośw* 1992; 46: 627-40.
- Ciemiewski Cz. Postępy wiedzy o regulacji fibrynolizy. *Acta Haematol Pol* 1994; 25, suppl. 2: 15-24.
- Pietrucha T, Ciemiewski Cz. Tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA). Struktura i funkcja. *Acta Haematol Pol* 1992; 23: 157-64.
- Zawilska K. Postępy w diagnostyce wewnątrznaczyniowej aktywacji fibrynolizy. *Acta Haematol Pol* 1995; 26: 33-37.
- Maśliński S, Ryzewski J. *Patofizjologia*. PZWL, Warszawa 1992; s. 429-30.
- Wilczyńska M, Ciemiewski Cz. Miejsce i rola tkankowego aktywatora plazminogenu w procesie fibrynolizy. *Post Hig Med Dośw* 1984; 33: 481-93.
- Ciemiewski Cz, Powałowska Z. Czynniki regulujące proces fibrynolizy. *Acta Haematol Pol* 1997; 28, suppl. 1: 47-57.
- Kubicka A, Libura M, Sacha T. Aktywność fibrynolityczna oraz stężenie tkankowego aktywatora plazminogenu u osób zdrowych przed i po 10-minutowej stazie żylniej. *Pol Tyg Lek* 1993; 5-6: 116-18.
- Takada A, Takada Y, Urano T. The physiological aspect of fibrinolysis. *Thromb Research* 1994; 76: 1-19.
- Engelberg H. Endothelium in health and disease. *Semin Thromb Haemat* 1989; 2: 173-83.
- Lenich C, Pannell R, Gurewich V. Assembly and activation of the intrinsic fibrinolytic pathway on the surface of human endothelial cells in culture. *Thromb Haemost* 1995; 74: 698-703.
- Tchórzewski H. Wykłady z patofizjologii. WAM, Łódź 1990; s. 491-4.
- Itoh YH, Nakatusgawa S, Oguri T, Miyota N. Increase of cellular fibrinolysis in human lung cancer cell line by radiation: relationship between urokinase type plasminogen activator (u-PA) and metastasis and invasion. *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi* 1996; 56 (11): 747-9.
- Świątkowska M, Wilczyńska M, Ciemiewski Cz. Inhibitory aktywatorów plazminogenu. *Post Bioch* 1991; 37: 139-41.
- Skotnicki A, Socha T. Zaburzenia krzepnięcia krwi. Diagnostyka i leczenie. *Medycyna Pracy* 1997; 39-53.
- Wei Y, Lukashev M, Simon DI, Bodary SC, Rosenberg S, Doyle MV, Chapman HA. Regulation of integrin function by the urokinase receptor. *Science* 1996; 273 (5281): 1551-5.
- Montuori N, Visconte V, Rossi G, Ragno P. Soluble and cleaved forms of the urokinase-receptor: degradation products or active molecules? *Thromb Haemost* 2005; 93 (2): 192-8.
- Alfano D, Franco P, Vocca I, Gambi N, Pisa V, Mancini A, Caputi M, Carriero MV, Iaccarino I, Stoppelli MP. The urokinase plasminogen activator and its receptor: role in cell growth and apoptosis. *Thromb Haemost* 2005; 93 (2): 205-11.
- Bass R, Werner F, Odintsova E, Sugiura T, Berditchevski F, Ellis V. Regulation of urokinase receptor proteolytic function by the tetraspanin CD82. *J Biol Chem* 2005 Jan 27 [Epub ahead of print].
- Wojtukiewicz B, Zacharski L. Abnormal regulation of coagulation/fibrinolysis in small cell carcinoma of the lung. *Cancer* 1990; 65: 3.

Adres do korespondencji

dr med. **Krzysztof Roszkowski**
 Oddział Radioterapii
 Centrum Onkologii
 ul. Romanowskiej 2
 85-796 Bydgoszcz
 tel. +48 52 374 33 74, 374 37 33
 e-mail: roszkowskik@co.bydgoszcz.pl