

Celem pracy była ocena wpływu radioterapii na stężenia wybranych czynników układu fibrynolizy u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC). Badaniu poddano 30 chorych (27 mężczyzn i 3 kobiety) w wieku 41–71 lat z NSCLC o różnym stopniu zaawansowania choroby. U części chorych wykonano zabieg operacyjny, a u wszystkich zastosowano radykalną radioterapię w dawce 50–60 Gy/5 x tyg. /2 Gy/fx. U wszystkich badanych poddano ocenie stężenia fibrynogenu, tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA), inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1) oraz kompleksów plazmina- $\alpha$ -2-antypłazmina (PAP) przed radioterapią, po dawce 50 Gy/g i po dawce 60 Gy/g. Grupę kontrolną stanowiło 10 osób zdrowych. W badaniu wykazano istotne statystycznie podwyższenie wszystkich ww. parametrów w grupie chorych na NSCLC w porównaniu z grupą kontrolną. Średnie stężenie fibrynogenu wzrastało podczas radioterapii zarówno po dawce 50, jak i 60 Gy/g. Stężenia t-PA i PAI-1 wzrastały po dawce 50 Gy/g ( $p < 0,001$ ), natomiast po dawce 60 Gy/g zanotowano spadek do wartości zbliżonych do grupy kontrolnej. Stężenia PAP u chorych na NSCLC stwierdzano na poziomie wyższym niż w grupie kontrolnej, natomiast średnie stężenia PAP po radioterapii spadały do wartości zbliżonych do grupy zdrowych. U wszystkich chorych nie obserwowano zaburzeń klinicznych, stwierdzano jedynie nieprawidłowości na poziomie molekularnym.

**Wnioski:** 1) radioterapia promieniowaniem jonizującym powoduje wzrost aktywności fibrynolitycznej u chorych z NSCLC, jednakże nie wywołując zaburzeń klinicznych u leczonych pacjentów; 2) być może pomiary stężeń niektórych parametrów układu hemostazy mogłyby być wykorzystane jako użyteczne markery prognostyczne u chorych z rakiem płuca leczonych radioterapią.

**Słowa kluczowe:** fibrynogen, tPA, PAI-1, PAP, NSCLC, radioterapia.

## Wpływ radioterapii na niektóre parametry koagulologiczne u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC)

*The influence of Radiotherapy on some of coagulation parameters in patients with Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC)*

Ewa Ziółkowska, Krzysztof Roszkowski, Radosław Sitarz

Oddział Radioterapii, Centrum Onkologii w Bydgoszczy

### Wprowadzenie

Kliniczne obserwacje przebiegu chorób nowotworowych u ludzi dostarczają 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 oddziaływania ustroju gospodarza, guza nowotworowego i mechanizmów działania metod leczenia przeciwnowotworowego.

W pracy przedstawiono badania porównawcze wartości głównych komponentów układu fibrynolizy w grupach chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) poddanych radioterapii wysoką dawką w porównaniu z grupą osób zdrowych.

### Materiał i metody

Badaniami objęto grupę 30 chorych (27 mężczyzn i 3 kobiety) na niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) w wieku 41 do 71 lat (mediana 56,4 lat). Histologicznie rozpoznano raka płaskonabłonkowego u 26 osób, gruczolowego u 3 i niezróżnicowanego u 1 chorego. Zgodnie z klasyfikacją TNM-UICC chorych zakwalifikowano do I<sup>o</sup> (2 chorych), II<sup>o</sup> (11 chorych) i IIIA<sup>o</sup> (17 chorych) stadium klinicznego zaawansowania procesu nowotworowego.

24 pacjentów leczono operacyjnie: 10 chorych poddano lobektomii, 11 pneumonektomii, u 3 wykonano torakotomię zwiadowczą, a następnie u wszystkich zastosowano napromienianie. U 6 chorych odstąpiono od leczenia operacyjnego i poddano ich samodzielnej radioterapii. Zastosowano terapię megawoltową przy użyciu przyspieszacza liniowego, podając dawkę całkowitą 50–60 Gy/g frakcjonowanych po 2 Gy/g przez 5 dni w tygodniu. Całkowity czas radioterapii wyniósł 5–6 tyg.

Grupę kontrolną stanowiło 10 osób zdrowych w przedziale wieku 33–71 lat (mediana 50,7).

Krew żylną pobierano u każdego chorego na czczo przed rozpoczęciem radioterapii, a następnie po dawce 50 i 60 Gy/g.

2 ml krwi żyłnej z antykoagulantem 3,2% cytrynianem sodu w stosunku 9:1 wirowano przez 20 min w temp. -4°C przy 3 tys. obr./min. W uzyskanym osoczu ubogopłytkowym oznaczano:

- stężenie fibrynogenu metodą Clauss,

The aim of this study was to estimate the influence of radiotherapy on the concentration of selected factors of the fibrinolysis system in patients with non-small cell lung cancer disease (NSCLC). The studied group included 30 patients (27 men and 3 women) aged from 41 to 71 years with various stages of clinical progression of NSCLC. Some of the patients underwent an operation and for all the radical radiotherapy in a dose of 50-60 Gy/5 a week/2 Gy/fraction was applied. In all patients the following parameters were marked: concentration of fibrinogen, concentration of t-PA, concentration of PAI-1 and concentration of plasmin-a-2-antiplasmin complex (PAP), before radiotherapy, after a dose of 50 Gy/g and after a dose of 60 Gy/g. 10 healthy persons made up the control group.

This study showed a statistically significant increase of all the parameters mentioned above in the group of patients with NSCLC compared to the control group. The mean concentration of fibrinogen increased during radiotherapy both after the doses of 50 as well as 60 Gy/g. The concentrations of t-PA and PAI-1 went up after the dose of 50 Gy/g ( $p < 0.001$ ), however, after the dose of 60 Gy/g fell to the similar values as those noted in the control group. It was affirmed that the concentration of PAP in the patients with NSCLC was at a higher level than that in the control group. However, the mean concentrations of PAP after radiotherapy fell to the similar values as in the healthy group. The clinical disorders were not observed in all patients, only irregularity at the molecular level was affirmed.

**Conclusions:** 1) Radiotherapy causes the growth of fibrinogen's activity in patients with NSCLC, but it not evoking the clinical disorders in the treated patients. 2) Measurement of the concentration some parameters of hemostasis creates the possibility of their use as prognostic markers in irradiated patients with lung cancer.

**Key words:** fibrinogen, tPA, PAI-1, PAP, NSCLC, radiotherapy.

- stężenie antygenu t-Pa zestawem IMMULYSE TM t-PA firmy Biopool,
- stężenie inhibitora aktywatora plazminogenu typu I (PAI-1) zestawem IMMULYSE TM PAI-1 FIRMY Biopool,
- stężenie kompleksów PAP zestawem ENZYGNOST PAP micro firmy Behring.

Średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe obliczono za pomocą funkcji arkusza kalkulacyjnego Microsoft®Excel 97. Statystyczną istotność różnic pomiędzy otrzymanymi wynikami badano, w grupach zależnych testem t-Studenta ( $p < 0,05$ ), przy użyciu programu komputerowego STATISTICA v. 5.0 firmy StatSoft.

## Wyniki

Średnie wartości stężeń fibrynogenu w osoczu chorych na raka płuca wynosiły  $5,01 \pm 1,60$  g/l i były istotnie statystycznie wyższe ( $p < 0,001$ ) w porównaniu z grupą kontrolną ( $3,57 \pm 0,65$  g/l). Po zastosowaniu dawek 50 i 60 Gy/g wzrastały kolejno do  $5,2 \pm 1,2$  g/l i  $5,32 \pm 0,65$  g/l.

Stężenie antygenu inhibitora aktywacji PAI-1 w osoczu chorych na raka płuca przed rozpoczęciem radioterapii wynosiło  $32,33 \pm 18,66$  ng/ml i było wyższe niż w grupie kontrolnej ( $20,47 \pm 5,35$  ng/ml), dając różnicę istotną statystycznie ( $p < 0,01$ ). W trakcie radioterapii wyższe stężenie PAI-1 utrzymywało się powyżej granicy istotności do dawki 50 Gy/g, natomiast po dawce 60 Gy/g nie obserwowano różnicy istotnej statystycznie w porównaniu z grupą kontrolną.

Stężenie antygenu aktywatora plazminogenu t-PA w osoczu osób chorych przed rozpoczęciem radioterapii wynosiło  $9,05 \pm 4,21$  ng/ml i było wyższe niż w grupie kontrolnej ( $4,93 \pm 1,86$  ng/ml) dając różnicę istotną statystycznie ( $p < 0,001$ ). Podczas radioterapii wyższe wartości t-PA utrzymywały się do dawki 50 Gy/g, natomiast po dawce 60 Gy/g nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych w porównaniu z grupą kontrolną.

Stężenie kompleksów plazmina- $\alpha$ -2-antyplazmina (PAP) w osoczu chorych na raka płuca przed napromienianiem wynosiło  $779,58 \pm 492,59$  ng/ml i było wyższe niż w grupie kontrolnej  $203,19 \pm 68,23$  ng/ml ( $p < 0,001$ ), natomiast średnie stężenia PAP po radioterapii wzrastały znacznie do wartości po dawce 50 Gy= $1238,99 \pm 1514,12$  i po dawce 60 Gy= $1364,63 \pm 1026,39$ . Użyte wyniki przedstawia tab. 1.

## Omówienie wyników

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na częste występowanie zaburzeń w układzie hemostazy pod wpływem leczenia promieniami. Potwierdzają założenie, iż pod wpływem leczniczych dawek promieniowania jonizującego, zachodzą w komórkach nowotworowych procesy destrukcyjne, doprowadzające do przenikania do krwi substancji aktywnych. Ważnym argumentem na poparcie tezy o wydzielaniu przez komórki nowotworowe do krwiobiegu czynników modyfikujących proces hemostazy jest znamienne wyższy poziom fibrynogenu u pacjentów z rakiem płuca w porównaniu ze zdrowymi. Ma to zapewne związek z miejscową aktywnością fibrynolityczną i wyczerpaniem czynników krzepnięcia w układzie sprzężeń zwrotnych dodatnich opisywanych przez niektórych badaczy [1, 2]. Potwierdzają to obserwacje Kondery-Anasza i wsp., które wykazały hiperfibrynogemnię u 87,5 proc. chorych na raka płuca. Autorzy ci dowiedli ponadto, że zaburzenia krzepnięcia i fibrynolizy obserwowane w raku płuca nie zależą od typu histologicznego, ale od stopnia zaawansowania choroby [3].

Powszechnie wiadomo, że fibrynogen jest białkiem ostrej fazy, którego wzrost stymuluje zarówno aktywacja krzepnięcia, jak i fibrynolizy [3, 4]. Zatem wysoki poziom fibrynogenu u pacjentów w III stopniu zaawansowania choroby jest związany z odkładaniem fibryny w otoczeniu guza i łożysku naczyń oraz wzmożoną syntezą w wątrobie [5]. W dostępnym piśmiennictwie nie ma doniesień dotyczących stężeń kompleksów PAP u chorych na raka płuca. Według niektórych autorów [6, 7] stężenie tych kompleksów w osoczu jest obecnie uważane za ważny wskaźnik diagnostyczny pozwalający na ocenę stopnia aktywacji fibrynolizy w przebiegu DIC. Według niektó-

**Tabela 1.** Średnie stężenie czynników koagulologicznych u chorych na raka płuca przed i po radioterapii w porównaniu z grupą kontrolną  
**Table 1.** The mean concentration of coagulation parameters in patients with lung cancer before and after radiotherapy compared to the control group

	Liczba badanych	Stężenie fibrynogenenu [g/l]	Stężenie PAI-1 [g/l]	Stężenie t-PA [ng/ml]	Stężenie PAP [ng/ml]
grupa kontrolna	10	3,57±0,65	20,47±5,35	4,93±1,86	203,19±68,23
chorzy przed RTH	30	5,01±1,6	32,33±18,66	9,05±4,21	779,58±492,59
chorzy po RTH Dc 50 Gy	24	5,2±1,2	28,96±16,25	7,61±4,15	1 238,99±1514,12
chorzy po RTHDc 60 Gy	6	5,32±0,65	23,63±12,45	6,89±2,92	1 364,63±1026,39

rych autorów kompleksy PAP mogą być ważnym wskaźnikiem ostrej fazy niedokrwiennej mięśnia sercowego [8]. W prezentowanym badaniu stwierdzono wysokie poziomy PAP u chorych z rozpoznaniem NSCLC, natomiast po radioterapii dawką 50 Gy zanotowano wzrost o 60 proc. i o ok. 75 proc. po dawce 60 Gy. Można przypuszczać, że leczenie promieniowaniem jonizującym powoduje wzrost aktywności fibrynolitycznej u pacjentów z rakiem płuca.

Autorzy prezentowanej pracy zanotowali większe stężenie PAI-1 w grupie chorych w porównaniu ze zdrowymi. Jest to zbieżne z doniesieniami innych autorów [9–11]. Natomiast po radioterapii dawką 60 Gy, poziomy PAI-1 spadł do wartości zbliżonych do grupy kontrolnej. Autorzy sugerują, że czynnik ten obrazuje procesy niszczenia komórek nowotworowych i może być parametrem skuteczności radioterapii wysoką dawką NSCLC.

Według niektórych poglądów wymienionych w piśmiennictwie czynnik t-PA bierze udział w degradacji błon podstawnych oraz lisie komórek gospodarza i stanowi istotną przyczynę szerzenia się nowotworów [12–14]. Podwyższone stężenie t-PA w osoczu chorych na raka płuca stwierdził Maeda [15]. Według innych badaczy [16, 17], komórka nowotworowa i komórka transformowana nowotworowo przez czynnik onkogenny, wydziela więcej t-PA niż komórka prawidłowa. Wykazane w prezentowanym badaniu, wyższe stężenie t-PA u chorych na NSCLC w porównaniu z grupą zdrowych jest zgodne z doniesieniami innych autorów [18]. Znaczny spadek poziomu aktywatora plazminogenu t-PA w trakcie radioterapii, może być interpretowane jako zahamowanie uwalniania t-PA z napromienianych ognisk nowotworowych i może służyć jako czynnik prognostyczny skuteczności stosowanego leczenia przeciwnowotworowego.

Zaburzenia hemostazy w raku płuca są dość częste (w naszym materiale ok. 67 proc. przypadków) i nasilają się w trakcie napromieniania (78 proc.). Należy jednak zauważyć, że nie powodują zaburzeń klinicznych u leczonych pacjentów i są obserwowane jedynie na poziomie laboratoryjnym. Nieprawidłowości hemostazy stwierdzane są zarówno w mało swoistych oznaczeniach (jak stężenie fibrynogenenu), jak również w testach bardziej specyficznych (stężenie t-PA, PAP). Być może pomiary stężeń niektórych parametrów układu hemostazy mogłyby być wykorzystane jako użyteczne markery prognostyczne u chorych z rakiem płuca leczonych radioterapią.

#### Piśmiennictwo

1. Tałałaj J. Parametry krzepnięcia i fibrynolizy w nowotworowych wysiękach optucnych. *Pneumonol i Alergol Pol* 1995; 63: 339-43.

2. Tałałaj J, Chyczewska E. Coagulation et fibrynolysis in interstitial lung diseases. *Pneumonol i Alergol Pol* 1999; 67: 3-4: 146-50.
3. Kondera-Anasz Z, Gisman K, Mertas A. Wybrane parametry krzepnięcia i fibrynolizy oraz przeciwciała przeciwfibrynogenowe w raku płuca. *Pneumonol i Alergol Pol* 1993; 61: 461-6.
4. Kondera-Anasz Z, Michalski A, Gil D, Gil B, Staszewski J. Accuracy of t-PA, u-PA, PAI-1, and PAI-2 estimation in human bile by Elisa kits. *Med Sci Monit* 2000; 6 (3): 616-17.
5. Kłoczko J, Wojtukiewicz M, Bielawiec M, Pilecka E. Niektóre parametry hemostazy w nowotworach płuc. *Pol Tyg Lek* 1987; T. XLII, nr 29: 884-5.
6. Bykowska K. Rola serpin w regulacji mechanizmów hemostazy. *Post Hig Med Dośw* 1992; 46: 627-40.
7. Pedersen H, Grondahl-Hansen J, Francis D, et al. Urokinase and plasminogen activator inhibitor type 1 in pulmonary adenocarcinoma. *Cancer Res* 1994; 54 (1): 120-3.
8. Grabarczyk E, Wodyńska T, Kotschy M, Pilecka E. Fibrinolysis parameters: plasmin-alpha2 antiplasmin complexes (PAP) and D-dimers in acute coronary syndromes without ST segment elevation. *Pol Merkuriusz Lek* 2004; 17 (102): 555-7.
9. Nagayama M, Sato A, Hayakawa H, Urano T, Takada Y, Takada A. Plasminogen activators and their inhibitors in non-small cell lung cancer. *Cancer* 1994; 73 (5): 1398-404.
10. Żekanowska E, Cieśliński K, Roś D. Plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) in blood and tissue extracts of patients with non small-cell lung cancer. *Pneumonol i Alergol Pol* 2004; 72 (9-10): 409-14.
11. Werle B, Kotzsch M, Lan T, Kos J. Cathepsin B, plasminogenactivator inhibitor (PAI-1) and plasminogen activator receptor (uPAR) are prognostic factors patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2004; 24 (6): 4147-61.
12. Gabazza EC, Taguchi O, Yamakami T, et al. Coagulation-fibrinolysis system and markers of collagen metabolism in lung cancer. *Cancer* 1992; 70: 2631-6.
13. Farbiszewski R. Rola aktywatorów plazminogenu i produktów degradacji fibrynogenenu/fibryny i fibropeptydów we wzroście i powstawaniu przerzutów nowotworowych. *Post Hig Med Dośw* 1984; 38: 133-55.
14. He C, He P, Lin LP, Zhu YS. Analysis of expression of components in the plasminogen activator system in high- and low- metastatic lung cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127 (3): 180-6.
15. Maeda Y. Plasma PAI-1 levels in patients with various tumors with or without metastasis. *Rinsho Ketsueki* 1991; 32 (9): 927-30.
16. Dmoszyńska-Giannopoulou A. Mechanizmy uczynniające i hamujące układ fibrynolizy. *Przeg Lek* 1987; 44: 400-42.
17. Farbiszewski R. Udział czynników wzrostowych i substancji agregujących płytki krwi w powstawaniu przerzutów nowotworowych. *Post Hig Med Dośw* 1989; 43: 453-73.
18. Duffy MJ, Duggan C. The urokinase plasminogen activator: a rich source of tumor markers for the individualized management of patients with cancer. *Clin Biochem* 2004; 37 (7): 541-8.

#### Adres do korespondencji

dr med. **Krzysztof Roszkowski**  
 Oddział Radioterapii  
 Centrum Onkologii  
 ul. Romanowskiej 2  
 85-796 Bydgoszcz  
 e-mail: roszkowskik@co.bydgoszcz.pl