

Vloga urokinaznega aktivatorja plazminogena (uPA) in njegovega inhibitorja (PAI-1) pri raku dojk

The role of the urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitor (PAI-1) in breast cancer

Iztok Takač,¹ Tanja Čufer,² Borut Gorišek,⁴ Nina Čas-Sikošek,⁴ Robert Bali,⁴ Damijana Bosilj,⁴ Simona Borštnar,³ Maja Lampelj,⁴ Maja Ravnik,⁴ Rajko Kavalarič,⁵ Nina Fokter,⁶ Darja Arko⁴

¹ Klinika za ginekologijo in perinatologijo, Univerzitetni klinični center Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor

² Klinični oddelek za pljučne bolezni in alergologijo Golnik, 4204 Golnik

³ Sektor za internistično onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška 4, 1000 Ljubljana

⁴ Oddelek za ginekološko onkologijo in onkologijo dojk, Klinika za ginekologijo in perinatologijo, Univerzitetni klinični center Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor

⁵ Oddelek za patologijo, Univerzitetni klinični center Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor

⁶ Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

Korespondenca/

Correspondence:

prof. dr. Izток Takač, dr. med., svetnik
Klinika za ginekologijo in perinatologijo
Univerzitetni klinični center Maribor
Ljubljanska 5
2000 Maribor
Tel: +386 2 321 2445

Izvleček

Izhodišča: Prispevek opisuje vlogo urokinaznega aktivatorja plazminogena (uPA) in njegovega inhibitorja (PAI-1) pri invaziji in zasevanju raka dojk. Ta dva dela fibrinolitičnega sistema sta prva novejša biološka dejavnika, katerih klinična vloga pri raku dojk je bila zanesljivo preverjena (raven dokazov I).

Zaključki: Številne neodvisne raziskave so dokazale, da je pri bolnicah z rakom dojk z nizkimi vrednostmi uPA in PAI-1 v tkivu primarnega tumorja preživetje značilno daljše od preživetja bolnic s povišanimi vrednostmi enega od obeh dejavnikov. Dejavnika uPA in PAI-1 sta prepoznana kot tumorska označevalca stopnje 1 pri zgodnjem raku dojke. Metodologija določanja uPA in PAI-1 je standardizirana in validirana. Določanje uPA in PAI-1 pri ugotavljanju napredovanja raka omogoča prepoznavanje njunih sestavin kot primernih ciljev za protitumorsko zdravljenje. *In vitro* so se izkazali učinkoviti različni terapevtski načini, potekajo pa že tudi klinične raziskave faze II. S tem kratkim pregledom želimo seznaniti strokovno javnost z najnovejšimi spoznanji in vzbuditi večje zanimanje o vlogi sistema aktivatorja plazminogena pri raku dojk.

Abstract

Background: This paper describes the role of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitor, PAI-1, in breast cancer invasion and metastasis. These two parts of fibrinolytic system were the first novel tumor biological factors to be validated at the highest level of evidence (LOE I) regarding their clinical utility in breast cancer.

Conclusions: Numerous independent studies have demonstrated that breast cancer patients with low levels of uPA and PAI-1 in their primary tumor tissue have a significantly better survival than patients with high levels of either factor. uPA and PAI-1 are recognized as level 1 tumor prognostic markers in early breast cancer. The methodology of determination is standardized and validated. The involvement of uPA and PAI-1 in cancer progression identifies its components as suitable targets for anti-cancer therapy. Several therapeutic approaches have been shown to be active *in vitro*, and are being currently tested in phase 2 clinical trials. The information provided in this brief review aims to inform the professional public of the latest knowledge and to promote greater interest in the role of the plasminogen activator system in breast cancer.

Uvod

Fibrinolitični sistem, ki ga ustrežneje označimo kot sistem aktivacije plazminogena, ne nadzoruje le znotrajžilnega odlaganja fibrina, temveč sodeluje tudi v številnih fizioloških in patofizioloških procesih v organizmu. Pri številnih vrstah raka sistem s svojim vplivom na angiogenezo in migracijo celic sodeluje pri rasti tumorja, njegovi invaziji in zasevanju.¹

Sistem urokinaznega aktivatorja plazminogena (uPAS) sestavljajo urokinazni aktivatorji plazminogena (uPA), tkivni aktivatorji plazminogena (tPA), receptorji urokinaznega aktivatorja plazminogena (uPAR) ter inhibitorji aktivatorja plazminogena 1 (PAI-1) in 2 (PAI-2). uPA spreminja proencim plazminogen v proteolitični encim plazmin, ki sodeluje v številnih patofizioloških procesih na bazalni membrani in v zunajceličnem matriksu, ki so ključnega pomena za

fax: +386 2 321 2085
e-mail: iztok.takac@ukc-mb.si

Ključne besede:

urokinazni aktivator plazminogena, inhibitor aktivatorja plazminogena, rak dojke

Key words:

urokinase-type plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2011;
80: 405–412

Prispelo: 22. apr. 2010,
Sprejeto: 11. dec. 2010

rast tumorjev ter njihovo zasevanje.² Sistem uPAS omogoča tudi razgradnjo zunajceličnega matriksa z nadzorovano proteolizo, kar je ena od ključnih lastnosti malignih tumorjev. Zasevanja tumorskih celic ne omogoča le z razgradnjo zunajceličnega matriksa, temveč tudi z drugimi mehanizmi.³

Delovanje uPAS poteka v odvisnosti od citokinov in rastnih dejavnikov, ki so pri pojavnih oblikah raka pogosto močnejše izraženi. Med inhibitorji fibrinolize je pri nastanku številnih žilnih bolezni in raka najpomembnejši dejavnik inhibitor aktivatorja plazminogena 1 (PAI-1), ki je protein z več vlogami. Deluje kot naravni inhibitor uPA, omogoča pa tudi migracijo in zasevanje tumorskih celic.

Uporaba zaviralcev aktivatorjev plazminogena ali inhibitorjev PAI-1 v terapevtske namene je na tumorskih modelih že pokazala obetavne rezultate, ki pa klinično še niso bili potrjeni⁴.

Mehanizmi delovanja uPA in PAI-1

Urokinazni aktivator plazminogena (uPA) je fibrinolitični encim, ki povzroča aktivacijo plazminogena v plazmin. Močno afiniteto zanj ima receptor (uPAR) na površini celice, na katerega se lahko uPA veže tudi inaktiviran z inhibitorjem (PAI-1) in tvori kompleks uPA-uPAR-PAI. Tako nastali kompleks prodre v celico, kjer se uPA-PAI del razgradi, uPAR pa prenese ponovno na površino celice. Opisani proces omogoča migracijo celic in zasevanje tumorjev.

V sistemu urokinaznega aktivatorja plazminogena (uPAS) je najpomembnejši dejavnik pri nadzoru fizioloških procesov in patogenezi raka verjetno PAI-1. V aktivnem stanju se PAI-1 veže na zunajcelični protein vitronektin in receptorje za endocitozo.⁵ Porast PAI-1 bi lahko predstavljal odziv na povečano proteolitično aktivnost, ki jo povzroči porast uPA v tumorjih. Možno pa je tudi, da PAI-1 neposredno vpliva na razvoj bolezni. PAI-1 učinkuje na večino temeljnih celičnih procesov, kot so adhezija, migracija, invazija, proliferacija in načrtovana smrt celic, tako rakastih kot tudi normalnih. Nekatere raziskave kažejo, da lahko PAI-1 za-

vira načrtovano smrt celic s svojimi proadhezivnimi in antiproteolitičnimi lastnostmi, druge pa, da to doseže s svojimi protiadhezivnimi lastnostmi. Predpostavljajo tudi, da PAI-1 inducira ali inhibira načrtovano smrt celic z aktiviranjem signalnih poti v celici.⁶

Bierman in sod. so skušali odgovoriti na vprašanje, ali lahko analiza izraženosti mRNA uPA in PAI-1 služi kot alternativa določanju koncentracije teh antigenov pri raku dojke. Pri meritvah izraženosti mRNA v tumorskem tkivu in celičnih kulturah so uporabili tehniko visoko občutljive kvantitativne verižne reakcije s polimerazo v realnem času (QPCR), koncentracijo uPA in PAI-1 antigenov pa so določali s tehniko ELISA. Ugotovili so, da je v celičnih kulturah izraženost mRNA dobro sovpadala s koncentracijo uPA in PAI-1. Tega sovpadanja pa niso ugotovili v vzorcih tumorskega tkiva, zato so zaključili, da količinsko določanje izraženosti mRNA uPA in PAI-1 ne ustreza koncentraciji teh antigenov v tumorskem tkivu, za kar je najverjetneje odgovorna potranskripcijska regulacija. Čeprav so lahko potrdili obratno sorazmerno povezanost med prisotnostjo zasevkov v bezgavkah in izraženostjo uPA mRNA, pa niso uspeli potrditi nobene povezave med izraženostjo uPA in PAI-1 mRNA in drugimi kliničnopatološkimi dejavniki. Kot je bilo pričakovati, pa so bile povišane vrednosti uPA in PAI-1 povezane z neizraženostjo receptorjev steroidnih hormonov. Na osnovi vseh navedenih dejstev so zaključili, da določanje izraženosti mRNA uPA in PAI-1 ne more nadomestiti določanja teh antigenov z metodo ELISA.⁷

V nasprotju z uPA in PAI-1 pa visoke vrednosti tPA in PAI-2 obetajo ugodnejši potek bolezni. Grebentchnikov in sod. so preučevali koncentracije uPA, PAI-1, uPAR, tPA ter kompleksov uPA-PAI-1 ter tPA-PAI-1 pri bolnicah z benignimi (n = 103) in malignimi tumorji dojke (n = 113). Medtem ko se plazemske koncentracije antigenov uPA, PAI-1, uPAR in kompleksa uPA-PAI-1 pri obeh skupinah bolnic niso razlikovale, so bile vrednosti tPA in kompleksa tPA-PAI-1 značilno višje pri bolnicah z rakom dojke. Plazemske koncentracije uPA pri bolnicah z rakom dojke so bile šibke, a značilno povezane s koncentracijami tPA in uPAR.

Koncentracije tPA so v tesni povezavi s kompleksom tPA-PAI-1, medtem ko so koncentracije kompleksa uPA-PAI-1 značilno povezane s koncentracijami PAI-1, tPA in kompleksa tPA-PAI-1. Po drugi strani pa niso ugotovili značilne korelacije med plazemskimi in tkivnimi koncentracijami uPA, PAI-1, kompleksa uPA-PAI-1, tPA in kompleksa tPA-PAI-1. Zaključili so, da določanje omenjenih dejavnikov v plazmi ne odraža njihove koncentracije v tumorskem tkivu in zato določanje sestavin sistema aktivatorjev plazminogena v krvi ne omogoča napovedi poteka raka dojk.⁸

Razporeditev uPA in PAI-1 v tumorskem tkivu

Antigene uPA in PAI-1 določamo v izvečkih iz tumorjev s standardiziranimi imunometričnimi metodami (ELISA). Po letu 1980 so s številnimi raziskavami dokazali, da imajo bolnice z nizkimi koncentracijami teh antigenov v tkivu primarnega tumorja daljše preživetje kot bolnice z visokimi koncentracijami antigenov. Še vedno ni jasno, ali so za to odgovorne relativne koncentracije uPA in PAI-1 v stromi tumorja ali v samih tumorskih celicah. Zato tudi ni povsem jasno, kolikšen delež strome je lahko prisoten v posameznem tumorskem vzorcu, da še omogoča ustrezno vrednotenje rezultatov. V ta namen so Hildebrand in sod. z mikrodisekcijo ločili tumorske celice od tkiva strome in nato s tehniko ELISA določili vrednosti uPA, uPAR in PAI-1 v 60 vzorcih raka dojk. Prav tako so s pomočjo imunohistokemijskih preiskav ugotavljali razporeditev teh dejavnikov v parafinskih rezinah tumorskega tkiva raka dojk. Ugotovili so, da med koncentracijami uPA, uPAR in PAI-1 v tumorskih celicah, stromi tumorja in neobdelanem tumorskem tkivu ni bilo razlik. Na osnovi rezultatov raziskave so zaključili, da količina strome tumorja, ki je prisotna pri analizi tumorskega tkiva, ne vpliva na napoved poteka bolezni.⁹ Ko so Hildebrand in sod. lokalizirali uPA, uPAR in PAI-1 še v tkivih invazivnih rakov ter duktalnih karcinomov *in situ* (DCIS) z imunohistokemijskimi preiskavami ter s hibridizacijo *in situ*, prav tako niso našli razlik v koncentracijah

teh dejavnikov med posameznimi kompartmenti. Nadalje so ugotovili, da so bili uPA, uPAR in PAI-1 močno izraženi predvsem v fibroblastih in makrofagih skoraj vseh vzorcev invazivnih vrst raka in DCIS. Dokazali so tudi, da so beljakovine in mRNA uPAR ter PAI-1 izražene v večini mioepitelnih celic DCIS. Prav tako so ugotovili, da je izraženos uPAR v mioepitelnih celicah pomembna za interakcijo med uPAR in vitronektinom, kar je celično-matriksno dogajanje, ki uravnava adhezijo in pripenjanje celic na površino. Hildebrand in sod. so postavili hipotezo, po kateri naj bi PAI-1 povzročil izgubo protiinvazivnega mioepitelnega sloja pri DCIS in s tem omogočil invazijo celic skozi bazalno membrano.¹⁰

V klinični praksi uporabljamo različne mejne vrednosti uPA in PAI-1 v tkivih. Harbeck in sod. so za optimalno mejno vrednost uPA določili 3 ng/mg beljakovin, za PAI-1 pa 14 ng/mg beljakovin,¹¹ ki sta sprejeti kot standardni razmejitveni vrednosti. Borštnar in sod. so določili mejno vrednost za PAI-2, in sicer 6,5 ng/mg beljakovin.¹²

Soodvisnost med uPA in PAI-1 ter drugimi lastnostmi raka dojk

Schneider in sod. so preučevali prisotnost kompleksov uPA in PAI-1 znotraj celic raka dojk s pomočjo imunohistokemijskih preiskav pri 212 bolnicah z zgodnjim rakom (pT1). Njihovo izraženos so primerjali z ostalimi kliničnimi in biološkimi dejavniki (histološki tip, diferenciacija, hormonski receptorji, Ki67, izraženos c-erb-B2, p53 in CD44std) in z zasevanjem v področne bezgavke. Ugotovili so, da prisotnost kompleksov uPA in PAI-1 pri bolnicah z izraženimi progesteronskimi receptorji korelira s prisotnostjo zasevkov v pazdušnih bezgavkah. Pri teh bolnicah je prisotnost kompleksov uPA in PAI-1 predstavljala kar 14-krat večje tveganje za zasevke v pazdušnih bezgavkah. Zaključili so z ugotovitvijo, da lahko z imunohistokemijskim določanjem kompleksov uPA in PAI-1 v tumorskih celicah hormonsko pozitivnih zgodnjih rakov dojk s sicer dobro napovedjo izida bolezni ugotovimo

tiste, ki imajo večjo verjetnost zasevanja v bezgavke.¹³

Descotes in sod. so preučevali povezanost med vrednostmi uPA in PAI-1 v tumorju ter anatomsko razširitvijo tumorja v bezgavke. Ugotovili so, da je PAI-1 neodvisni napovedni dejavnik širjenja raka dojk v bezgavke, kar je najbolj izraženo pri bolnicah z duktalnim rakom dojk v stadiju pNo.¹⁴

V zadnjem času vedno več podatkov nakazuje na povezanost med angiogenezo in potekom raka dojk. Angiogeneza je večstopenjski proces, ki je posledica urejenega zaporedja dogodkov, na katere vplivajo številni pozitivni in negativni oblikovalci rasti kapilar in izraženost različnih proteolitičnih encimov. Dazzi in sod. so v ta namen pri 81 bolnicah z rakom dojk primerjali prisotnost rastnega dejavnika žilnega endotela (VEGF) in gostoto kapilar v tumorju s koncentracijami uPA in PAI-1 v citosolu. Ugotovili so značilno povezanost med koncentracijami uPA in PAI-1 v citosolu, med VEGF in stanjem hormonskih receptorjev, med PAI-1 in diferenciacijo tumorja ter med uPA in tumorji, večjimi od 1 cm. Pri preučevanju poteka bolezni so ugotovili značilno povezanost med nizkimi koncentracijami uPA in preživetjem brez ponovitve bolezni. Prav tako so potrdili dotlej še neznanu povezavo med visokimi vrednostmi VEGF in daljšim preživetjem brez ponovitve bolezni. Zaključili so, da lahko na osnovi vrednosti uPA v citosolu primarnega raka dojk sklepamo na verjetnost zgodnje ponovitve bolezni¹⁵.

Pomen uPA in PAI-1 pri napovedi poteka bolezni in pri napovedi odgovora na zdravljenje

Določanje uPA in PAI-1 za napovedovanje poteka bolezni (prognostični dejavniki)

Napovedni (prognostični) dejavniki napovedujejo potek bolezni (preživetje brez ponovitve bolezni in skupno preživetje) in niso odvisni od zdravljenja. Najpomembnejši klasični napovedni dejavniki pri raku dojk so stanje bezgavk, velikost tumorja, stopnja

diferenciacije tumorja (gradus) ter invazija v krvne in limfne žile. V zadnjih letih so v okviru prospektivnih raziskav kot neodvisni napovedni dejavnik potrdili tudi status HER2 in vsebnost uPA in PAI-1 v primarnem tumorju. Prognostični vrednosti DNA-ploidije in deleža faze S pa še nista povsem pojasnjeni.¹⁶

Leissner in sod. so preučevali napovedno vrednost uPA in PAI-1 na ravni mRNA pri 87 bolnicah brez zasevkov v bezgavkah in z izraženimi hormonskimi receptorji v tkivu raka dojk. Vse bolnice so bile zdravljene z dopolnilnim obsevanjem in s kemoterapijo z antraciklini, nato pa so pet let prejemale še tamoksifen. Bolezen se je ponovila pri 30 bolnicah, od katerih jih je 22 umrlo. Meritve so pokazale, da izraženost uPA in PAI-1 mRNA ni bila povezana z nobenim kliničnim ali patološkim dejavnikom. Preživetje brez ponovitve bolezni in skupno preživetje sta bila pri bolnicah z močnejše izraženo uPA in PAI-1 mRNA značilno krajša. Prav tako so ugotovili, da izraženost gena uPA napoveduje slabše preživetje brez ponovitve bolezni in slabše skupno preživetje. Zaključili so, da predstavlja izraženost uPA in PAI-1 mRNA pri bolnicah brez zasevkov v bezgavkah in z izraženimi hormonskimi receptorji v tkivu raka dojk pomemben in neodvisni napovedni dejavnik oddaljenega zasevanja in celotnega preživetja.¹⁷

V večini raziskav glede napovednega pomena uPA in PAI-1, ki so bile narejene v osemdesetih in devetdesetih letih prejšnjega stoletja, so ta dva napovedna dejavnika določali z metodo ELISA v tumorskem citosolu ali ekstraktu. Večina raziskav,¹⁸⁻²¹ med drugimi tudi raziskave, narejene na Onkološkem inštitutu,²²⁻²⁴ je pokazala, da sta uPA in PAI-1 neodvisna napovedna dejavnika poteka bolezni. Visoke vrednosti vsakega od njiju, še bolj pa kombinacija obeh, so napovedovale krajši čas do ponovitve bolezni in krajše preživetje. Do podobnih rezultatov so prišli Čufer in sod. v raziskavi, v katero je bilo vključenih 460 bolnic z zgodnjim rakom dojk, ki so prejemale različne vrste dopolnilnega zdravljenja.²² Borštnar in sod. so ugotovili, da imajo bolnice z nizkimi koncentracijami PAI-1 in visokimi koncentracijami PAI-2 boljše preživetje brez ponovitve

bolezni, medtem ko vrednosti uPA in uPAR v njihovi raziskavi na preživetje niso vplivale.²³

Nesporno neodvisno napovedno vrednost uPA in PAI-1 pri bolnicah s primarnim rakom dojke so dokazali v združenih analizah individualnih raziskav Look-ove in sod. V to raziskavo je bilo vključenih 8377 bolnic, med drugim tudi bolnice, zdravljene na Onkološkem inštitutu v Ljubljani. V povprečnem času opazovanja (79 mesecev) se je bolezen ponovila pri 35 % bolnic, 27 % bolnic pa je umrlo. Pri multipli logistični regresiji so upoštevali še starost, menopavzni status, stanje bezgavk, velikost in diferenciacijo tumorja ter stanje hormonskih receptorjev. Ugotovili so, da so visoke vrednosti uPA in PAI-1 poleg zasevkov v bezgavkah najbolj zanesljivi kazalniki krajšega preživetja brez bolezni in krajšega skupnega preživetja. To velja tako za bolnice z zasevki v bezgavkah in tudi za bolnice brez zasevkov. Še posebej močno napovedno vrednost uPA in PAI-1 pa so ugotovili pri bolnicah brez zasevkov v bezgavkah, na osnovi česar predvidevajo, da lahko uPA in PAI-1 uporabljamo pri določanju najustreznejšega in individualiziranega načina zdravljenja pri bolnicah brez zasevkov v bezgavkah.²⁵

De Cremoux in sod. so nedavno objavili raziskavo, v kateri so preučevali potek bolezni pri 169 bolnicah z rakom dojke brez zasevkov v bezgavkah, ki niso prejemale dopolnilne kemoterapije. Med njimi je imelo 56,8 % bolnic vrednosti uPA, večje od 3 ng/mg beljakovin, in vrednosti PAI-1, večje od 14 ng/mg beljakovin. Povprečno obdobje spremljanja je bilo 73 mesecev. Ugotovili so značilno povezanost med vrednostmi uPA in obdobjem brez ponovitve bolezni ter uPA, PAI-1 in kombinacijo uPA s PAI-1 z oddaljenimi zasevki. Niso pa uspeli potrditi povezave med uPA/PAI-1 in tveganjem za lokalno-regionalno ponovitev bolezni. Zaključili so, da sta uPA in PAI-1 uporabna napovedna dejavnika za oddaljene zasevke pri bolnicah z zgodnjim rakom dojke brez zasevkov v bezgavkah.²⁶

Kljub številnim raziskavam pa je le malo takšnih, ki bi osvetlile vlogo proteaz in njihovih inhibitorjev na lokalno-regionalne ponovitve raka dojke. Čufer in sod. so na

osnovi raziskave, v katero je bilo vključenih 766 bolnic z rakom dojke, ugotovili, da je PAI-1 biološki označevalec, ki omogoča prepoznavanje tistih bolnic, pri katerih je verjetnost lokalne ponovitve bolezni večja in so zato kandidatke za agresivnejše načine zdravljenja.²⁷

Pomanjkanje napovednih dejavnikov, ki bi omogočali zanesljivo določanje biološke agresivnosti neinvazivnega tumorja, kot je duktalni karcinom *in situ* (DCIS), neugodno vpliva na izbiro najučinkovitejšega načina zdravljenja. Hurd in sod. so preučevali izraženo uPAS v 60 tumorjih DCIS. Pri 95 % so potrdili prisotnost uPA v malignem duktalnem epitelu. uPA mRNA so našli le v malignem duktalnem epitelu, ne pa v zdravem duktalnem epitelu in predelu strome. uPAR so bili izraženi pri 27 % DCIS visoke stopnje in pri 24 % DCIS nizke stopnje. Hkratna izraženo uPA in uPAR je bila prisotna le pri 25 % tumorjev. PAI-1 je bil izražen pri 14 % DCIS visoke stopnje in odsoten pri DCIS nizke stopnje. Zaključujejo, da hkratna izraženo uPA in uPAR predstavlja podskupino DCIS s povečanim tveganjem za napredovanje v invazivno obliko raka. V tem primeru bi uPAS predstavljal enega od napovednih dejavnikov, ki vplivajo na izbiro zdravljenja v primeru DCIS.²⁸

Določanje uPA in PAI-1 za napovedovanje odgovora na zdravljenje (prediktivni dejavniki)

Prediktivni dejavniki predstavljajo verjetnost odziva ali neodzivnosti tumorja na določeno vrsto zdravljenja. Danes poznamo pri raku dojke samo dva jasno dokazana in potrjena prediktivna dejavnika: izraženo hormonskih receptorjev, ki napoveduje odgovor na hormonsko zdravljenje, in izraženo HER2, ki napoveduje odgovor na zdravljenje antiHER2 s trastuzumabom in lapatinibom pri HER2-pozitivnem raku dojke.

Tudi uPA in PAI-1 sta se v nekaj raziskavah izkazala kot morebitna napovedna dejavnika za ugotavljanje odgovora na določeno vrsto dopolnilnega sistemskega zdravljenja. V raziskavi na Onkološkem inštitutu v Ljubljani so ugotovili, da zdravljenje s tamoksifenom

izboljša izid bolezni pri bolnicah iz sicer napovedno neugodne skupine bolnic z visokimi vrednostmi uPA in PAI-1. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi nekateri drugi,²⁹⁻³² medtem ko v združeni nemško-nizozemski raziskavi, ki je vključevala 3424 bolnikov, morebitne napovedne vrednosti uPA/PAI-1 za ugotavljanje odgovora na zdravljenje s tamoksifenom niso potrdili; pokazalo pa se je, da bolnicam z velikimi vrednostmi uPA in PAI-1 dopolnilna kemoterapija koristi.³³ Enako so ugotovili še v raziskavi Mandersa s sod.³² ter tudi v zelo pomembni prospektivni randomizirani klinični raziskavi »Chemo No«, s katerima so prav tako pokazali koristnost dopolnilne kemoterapije pri bolnicah z negativnimi pazdušnimi bezgavkami in velikimi vrednostmi uPA in PAI-1.^{34,35} Vse raziskave so vključevale pretežno kemoterapijo po shemi CMF (ciklofosamid, metotreksat in 5-fluoruracil). Nedavno objavljena raziskava Borštnar s sod. je pokazala, da je pri bolnicah z velikimi vrednostmi uPA in PAI-1 bolj učinkovita kemoterapija z antraciklini kot pa kemoterapija po shemi CMF.³⁶

Tarčna zdravila proti uPA

Znano je, da pri raku dojke večino smrti povzročijo oddaljeni zasevki. Strokovnjaki zato poskušajo razviti postopke zdravljenja, ki bi proces zasevanja čim bolj upočasnili ali ga celo preprečili. V zadnjem desetletju smo bili priča številnim novostim na področju molekularnih mehanizmov zaporedja zasevanja, ki vsebuje šest korakov: lokalizirana invazija, prehod v žile (intravazacija), prenos (translokacija), izhod iz žil (ekstravazacija), tvorba mikrozasvokov in kolonizacija. Uspešnost zasevanja je odvisna od ravnovesja in zapletenih mehanizmov dejavnikov zasevanja in njihovih zaviralcev. Da bi te procese natančneje preučili, so raziskovalci osamili številna protitelesa in majhne molekule, ki zavirajo medsebojno vplivanje med ligandi in receptorji spodbujevalcev zasevanja (HGF/c-Met), zavirajo encime, ki spodbujajo zasevanje (AMF, uPA, MMP) in inhibirajo prepisovanje spodbujevalcev zasevanja (beta-katenin). Neketera od tarčnih zdravil, med njimi tudi tista, ki so usmerjena proti uPA, že preizkušajo v kliničnih raziskavah.³⁷

Odločitev o zdravljenju na podlagi vrednosti uPA in PAI-1

Številne raziskave v zadnjih 15 letih, tudi multicentrična, prospektivna in randomizirana raziskava »Chemo No«, so potrdile, da imajo bolnice z nizkimi vrednostmi uPA in PAI-1 v tumorjih zelo dobro napoved izida bolezni, kar še posebej velja za bolnice brez zasevkov v bezgavkah, ki jim lahko celo prihranimo dopolnilno zdravljenje s citostatiki. Po drugi strani pa imajo bolnice brez zasevkov v bezgavkah z visokimi vrednostmi uPA in PAI-1 večjo verjetnost ponovitve bolezni. Pri njih se bolezen ponovi enako pogosto kot pri bolnicah, ki imajo tri pozitivne bezgavke ali več, zato je sistemsko dopolnilno zdravljenje pri njih primerno in indicirano.³⁸ Dobrobit kemoterapije so dokazali v številnih retrospektivnih raziskavah in tudi v raziskavi »Chemo No«. Raziskava, ki smo jo opravili na Onkološkem inštitutu v Ljubljani, pa nakazuje tudi, da bolnicam z velikimi vrednostmi uPA in PAI-1 bolj koristi antraciklinska kemoterapija kot kemoterapija po shemi CMF.³⁶ Trenutno poteka tudi multicentrična, prospektivna, randomizirana klinična raziskava NNBC-3, s katero preučujemo, ali je pri bolnicah z velikimi vrednostmi uPA in PAI-1 v tumorju primernejša kemoterapija z antraciklini ali s kombinacijo antraciklinov in taksanov.³⁹

Prognostični in prediktivni dejavniki so klinično izjemno pomembni pri načrtovanju zdravljenja, ki omogoča izboljšanje celotnega preživetja, preživetja brez ponovitve bolezni in kakovosti življenja. Odločitev o zdravljenju je vedno bolj individualna in odvisna od lastnosti tumorja pri vsaki posamezni bolnici. Večstopenjsko individualizacijo zdravljenja priporoča v vsakodnevni klinični praksi tudi Čufer.⁴⁰ Mednarodno usklajena priporočila, sprejeta na konferenci v St. Gallenu leta 2009, zahtevajo, da pri odločanju o zdravljenju upoštevamo naslednje dejavnike: velikost tumorja, stadij, starost, stanje bezgavk, stanje hormonskih receptorjev in stanje izraženosti HER2, od dodatnih pa tudi uPA in PAI-1, ki so glede na prepričljive rezultate individualnih raziskav, združene analize in prospektivne klinične raziskave »Chemo No« dosegli dokazno stopnjo

I napovedne vrednosti pri zgodnjem raku dojk.⁴¹

Zaključek

Urokinazni aktivator plazminogena in njegovi inhibitorji sodelujejo v številnih procesih, ki se odvijajo na bazalni membrani in v zunajceličnem matriksu, in so ključnega pomena za rast raka dojk ter njegovo zasevanje. Sistem urokinaznega aktivatorja plazminogena omogoča tudi razgradnjo zunajceličnega matriksa z nadzorovano proteolizo, kar je ena ključnih lastnosti malignih tumorjev, sodeluje pa celo pri procesu angiogeneze. Urokinazni aktivator plazminogena in PAI-1 sta dosegla dokazno stopnjo I kot napovedna dejavnika poteka zgodnjega raka dojk. Bolnice z nizkimi vrednostmi uPA in PAI-1 v tumorjih, še posebej bolnice brez zasevkov v bezgavkah, imajo zelo dobro napoved poteka bolezni. Bolnicam z visokimi vrednostmi uPA in PAI-1 pa zdravljenje, tako hormonsko kot dopolnilno zdravljenje s kemoterapijo, še posebej z antraciklini, zelo koristi.

Zahvala

Avtorji se zahvaljujejo dr. Ivanu Vrhovcu in mag. Barbari Možina z Onkološkega inštituta v Ljubljani za dolgoletno in uspešno sodelovanje pri projektu določanja proteaz.

Literatura

- McMahon B, Kwaan HC. The plasminogen activator system and cancer. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2008; 36: 184–94.
- Ulisse S, Baldini E, Sorrenti S, D'Armiato M. The urokinase plasminogen activator system: a target for anti-cancer therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2009; 9: 32–71.
- Han B, Nakamura M, Mori I, Nakamura Y, Kaku-do K. Urokinase-type plasminogen activator system and breast cancer (Review). *Oncol Rep* 2005; 14: 105–12.
- Kwaan HC, McMahon B. The role of plasminogen-plasmin system in cancer. *Cancer Treat Res* 2009; 148: 43–66.
- Dupont DM, Madsen JB, Kristensen T, Bodker JS, Blouse GE, Wind T, Andreasen PA. Biochemical properties of plasminogen activator inhibitor-1. *Front Biosci* 2009; 14: 1337–61.
- Lademann UA, Unni Rømer M. Regulation of programmed cell death by plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1). *Thromb Haemost* 2008; 100: 1041–6.
- Biermann JC, Holzscheiter L, Kotsch M, Luther T, Kiechle-Bahat M, Sweep FC, Span PN, Schmitt M, Magdolen V. Quantitative RT-PCR assays for the determination of urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 mRNA in primary tumor tissue of breast cancer patients: comparison to antigen quantification by ELISA. *Int J Mol Med* 2008; 21: 251–9.
- Grebenchtchikov N, Maguire TM, Riisbro R, Gaurts-Moespot A, O'Donovan N, Schmitt M, McGreal G, McDermott E, O'Higgins N, Brünner N, Sweep CG, Duffy MJ. Measurement of plasminogen activator system components in plasma and tumor tissue extracts obtained from patients with breast cancer: an EORTC Receptor and Biomarker Group collaboration. *Oncol Rep* 2005; 14: 235–9.
- Hildenbrand R, Schaaf A, Dorn-Beineke A, Allgayer H, Sütterlin M, Marx A, Stroebel P. Tumor stroma is the predominant uPA-, uPAR-, PAI-1-expressing tissue in human breast cancer: prognostic impact. *Histol Histopathol* 2009; 24: 869–77.
- Hildenbrand R, Schaaf A. The urokinase-system in tumor tissue stroma of the breast and breast cancer cell invasion. *Int J Oncol* 2009; 34: 15–23.
- Harbeck N, Thomssen C, Berger U, Ulm K, Kates R, Höfler H, Jänicke F, Graeff H, Schmitt M. Invasion marker PAI-1 remains a strong prognostic factor after long-term follow-up both for primary breast cancer and following first relapse. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 54: 147–57.
- Borstnar S, Vrhovec I, Cufer T. Prognostic value of plasminogen activator inhibitors in breast cancer. *Int J Biol Markers* 2002; 17: 96–103.
- Schneider J, Pollán M, Tejerina A, Sánchez J, Lucas AR. Accumulation of uPA-PAI-1 complexes inside the tumour cells is associated with axillary nodal invasion in progesterone-receptor-positive early breast cancer. *Br J Cancer* 2003; 88: 96–101.
- Descotes F, Riche B, Saez S, De Laroche G, Datchary J, Roy P, André J, Bobin JY. Plasminogen activator inhibitor type 1 is the most significant of the usual tissue prognostic factors in node-negative breast ductal adenocarcinoma independent of urokinase-type plasminogen activator. *Clin Breast Cancer* 2008; 8: 168–77.
- Dazzi C, Cariello A, Maioli P, Magi S, Rosti G, Giovannini G, Lanzanova G, Marangolo M. A high cytosol value of urokinase-type plasminogen activator (uPA) may be predictive of early relapse in primary breast cancer. *Cancer Invest* 2003; 21: 208–16.
- Gazic B, Pizem J, Bracko M, Cufer T, Borstnar S, Pohar-Marinsek Z, Us-Krasovec M. S-phase fraction determined on fine needle aspirates is an independent prognostic factor in breast cancer—a multivariate study of 770 patients. *Cytopathology* 2008; 19: 294–302.
- Leissner P, Verjat T, Bachelot T, Paye M, Krause A, Puisieux A, Mouglin B. Prognostic significance of urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 mRNA expression in lymph node- and hormone receptor-positive breast cancer. *BMC Cancer* 2006; 6: 216.
- Andreasen PA, Kjøller L, Christensen L, Duffy MJ. The urokinase-type plasminogen activator system

- in cancer metastasis: a review. *Int J Cancer* 1997; 72: 1–22.
19. Schmitt M, Harbeck N, Thomssen C, Wilhelm O, Magdolen V, Reuning U, Ulm K, Höfler H, Jänicke F, Graeff H. Clinical impact of the plasminogen activation system in tumor invasion and metastases: prognostic relevance and target for therapy. *Tromb Haemostasis* 1997; 78: 285–96.
 20. Duffy MJ, Maguire T, McDermott EW, O'Higgins N. Urokinase plasminogen activator: a prognostic marker in multiple types of cancer. *J Surg Oncol* 1999; 71: 130–5.
 21. Look MP, Foekens JA. Clinical relevance of the urokinase plasminogen activator system in breast cancer. *APMIS* 2000; 107: 150–9.
 22. Cufer T, Borstnar S, Vrhovec I. Prognostic and predictive value of the urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitors PAI-1 and PAI-2 in operable breast cancer. *Int J Biol Markers* 2003; 18: 106–15.
 23. Borstnar S, Vrhovec I, Svetic B, Cufer T. Prognostic value of the urokinase-type plasminogen activator, and its inhibitors and receptor in breast cancer patients. *Clin Breast Cancer* 2002; 3: 138–46.
 24. Borstnar S, Vrhovec I, Cufer T. Prognostic value of plasminogen activator inhibitors in breast cancer. *Int J Biol Markers* 2002; 17: 96–103.
 25. Look MP, van Putten WL, Duffy MJ, Harbeck N, Christensen IJ, Thomssen C, Kates R, Spyrtos F, Fernö M, Eppenberger-Castori S, Sweep CG, Ulm K, Peyrat JP, Martin PM, Magdelenat H, Brünner N, Duggan C, Lisboa BW, Bendahl PO, Quillien V, Daver A, Ricolleau G, Meijer-van Gelder ME, Manders P, Fiets WE, Blankenstein MA, Broët P, Romain S, Daxenbichler G, Windbichler G, Cufer T, Borstnar S, Kueng W, Beex LV, Klijn JG, O'Higgins N, Eppenberger U, Jänicke F, Schmitt M, Foekens JA. Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94: 116–28.
 26. DE Cremoux P, Grandin L, Diéras V, Savignoni A, Degeorges A, Salmon R, Bollet MA, Reyat F, Sigal-Zafrani B, Vincent-Salomon A, Sastre-Garau X, Magdelénat H, Mignot L, Fourquet A; On behalf of the Breast Cancer Study Group of the Institut Curie. Urokinase-type Plasminogen Activator and Plasminogen-activator-inhibitor Type 1 Predict Metastases in Good Prognosis Breast Cancer Patients. *Anticancer Res* 2009; 29: 1475–82.
 27. Cufer T, Vrhovec I, Borstnar S. Prognostic significance of plasminogen activator inhibitor-1 in breast cancer, with special emphasis on locoregional recurrence-free survival. *Int J Biol Markers* 2002; 17: 33–41.
 28. Hurd TC, Sait S, Kohga S, Winston J, Martinick M, Saxena R, Lankes H, Markus G, Harvey S, Gibbs JF. Plasminogen activator system localization in 60 cases of ductal carcinoma in situ. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 3117–24.
 29. Harbeck N, Alt U, Berger U, Krüger A, Thomssen C, Jänicke F, Höfler H, Kates RE, Schmitt M. Prognostic impact of proteolytic factors (uPA, PAI-1, cathepsins B, D, L) in primary breast cancer reflects effects of adjuvant systemic therapy. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2757–64.
 30. Harbeck N, Kates R, Schmitt M. Clinical relevance of invasion factors uPA and PAI-1 for individualized therapy decisions in primary breast cancer is greatest when used in combination. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1000–7.
 31. Fernö M, Bendahl PO, Borg Å, Brundell J, Hirschberg L, Olsson H, Killander D. Urokinase plasminogen activator in breast cancer, analysed in steroid receptors cytosols with a luminometric immunoassay. *Eur J Cancer* 1996; 32A: 793–801.
 32. Manders P, Tjan-Heijnen VCG, Span PN, Grebenchtchikov N, Geurts-Moespot A, van Tienoven DT, Beex LV, Sweep FC. Predictive impact of urokinase-type plasminogen activator: Plasminogen activator inhibitor type-1 complex on the efficacy of adjuvant systemic therapy in primary breast cancer. *Cancer Res* 2004; 64: 659–64.
 33. Harbeck N, Kates RE, Look MP, Meijer-Van Gelder ME, Klijn JG, Krüger A, Kiechle M, Jänicke F, Schmitt M, Foekens JA. Enhanced benefit from adjuvant systemic chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1). *Cancer Res* 2002; 62: 4617–22.
 34. Jänicke F, Prechtel A, Thomssen C, Harbeck N, Meisner C, Untch M, Sweep CG, Selbmann HK, Graeff H, Schmitt M; German No Study Group. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk, lymph node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 913–20.
 35. Harbeck N, Schmitt M, Meisner C, Friedel C, Untch M, Schmidt M, Lisboa B, Sweep C, Jänicke F, Thomssen C, Chemo No Study Group 2009. Final 10-year analysis of prospective multicenter Chemo No trial for validation of ASCO-recommended biomarkers uPA/PAI-1 for therapy decision making in node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 15.
 36. Borstnar S, Sadikov A, Mozina B, Cufer T. High levels of uPA and PAI-1 predict a good response to anthracyclines. *Breast Cancer Res Treat* 2009. In print. doi: 10.1007/s10549-009-0691-8.
 37. Iizumi M, Liu W, Pai SK, Furuta E, Watabe K. Drug development against metastasis-related genes and their pathways: a rationale for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1786: 87–104.
 38. Harbeck N, Kates RE, Gauger K, Willems A, Kiechle M, Magdolen V, Schmitt M. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitor PAI-1: novel tumor-derived factors with a high prognostic and predictive impact in breast cancer. *Thromb Haemost* 2004; 91: 450–6.
 39. Annecke K, Schmitt M, Euler U, Zerm M, Paepke D, Paepke S, von Minckwitz G, Thomssen C, Harbeck N. uPA and PAI-1 in breast cancer: review of their clinical utility and current validation in the prospective NNBC-3 trial. *Adv Clin Chem* 2008; 45: 31–45.
 40. Cufer T. Which tools can I use in daily clinical practice to improve tailoring of treatment for breast cancer? The 2007 St Gallen guidelines and/or Adjuvant! Online. *Ann Oncol* 2008; 19 (Suppl 7):vii 41–5.
 41. Decker T, Hungermann D, Böcker W. Prognostic and predictive factors of invasive breast cancer: update 2009. *Pathologie* 2009; 30: 49–55.