

## 127 Endoteliální dysfunkce u karcinomu prsu.

Tesařová P., Barkmanová J., Pazdrová G., Dlouhá Z., Mestek O., Soukupová J., Kalousová M., Zima T., Petruželka L.  
*Onkologická klinika, Praha*

Pro metastazování nádorových buněk jsou mj. nutné změny vlastností endotelu, které mají alespoň některé rysy aktivace endotelu, resp. endotelové dysfunkce. Lze prokázat např. zvýšenou expresi adhezních molekul (např. E-selektinu), zvýšenou produkci protrombotických (thromboxan A2) a antifibrinolytických faktorů (např. PAI-1). Bylo prokázáno, že zvýšená exprese adhezních molekul (např. VCAM-1) je v přímém vztahu k nádorové angiogenezi. Některé další parametry endotelové funkce (vazodilatace při zvýšení průtoku či po vazodilatačních podnětech, produkce NO a volných radikálů, ale ani exprese von Willebrandova faktoru) nebyly dosud u pacientek s nádory systematicky studovány, takže v současné době nelze jednoznačně odpovědět na otázku, zda mají pacienti s nádory pouze některé známky aktivace endotelu, či zda lze změny endotelové funkce charakterizovat podobně jako u aterosklerózy jako generalizovanou endotelovou dysfunkci. U našich pacientek jsme studovali funkci endotelu v různých stádiích karcinomu prsu pomocí měření průtokem stimulované vazodilatace (flow mediated vasodilation) za současného sledování cirkulujících (solubilních) markerů aktivace endotelinu (E- a P-selektinu, VCAM-1, PAI-1, von Willebrandova faktoru). Zjištěné změny funkce a známky aktivace endotelu byly vztahy k prognóze nemocných, zejména k riziku generalizace původně lokalizovaného onemocnění.

Endotel tvoří jednovrstevnou vnitřní výstelku cévního lumen. Celkový povrch endotelu představuje plochu asi 500-1000 m<sup>2</sup>. Dlouho se předpokládalo, že endotel tvoří pouze pasivní buněčnou bariéru oddělující krev od cévní stěny a bránící extravazaci krve a jejímu srážení, ale výzkum posledních let ukázal, že endotel je velmi aktivní orgán s celou řadou fyziologických funkcí. Jednou z nejdůležitějších funkcí endotelu je regulace propustnosti cévní stěny pro buňky i makromolekuly. Extravazaci krevních elementů (zejména leukocytů) umožňuje exprese různých adhezních molekul (E-selektinu, P-selektinu, ICAM-1, VCAM-1, PECAM-1) buňkami endotelu. Endotel je také schopen regulovat regionální průtok krve tvorbou jak vazodilatačních (např. oxidu dusnatého, prostacyklinu a endotelového hyperpolarizujícího faktoru), tak vazokonstrikčních faktorů (např. endotelinu-1). Poškození endotelu má obvykle za následek převažující vazokonstrikci postižené cévy. Jestliže je narušena integrita endotelové bariéry, dochází k aktivaci von Willebrandova faktoru s následnou stimulací agregace krevních destiček a aktivací koagulační kaskády. Současně hraje endotel důležitou roli v antikoagulaci (váže antitrombin III a produkuje trombomodulin) a fibrinolýze (endotel syntetizuje jak tkáňová aktivátor plasminogenu – tPA, tak inhibitor aktivátoru plazminogenu – PAI-1). Mediátory uvolňované z endotelu (FGF2, TGFbeta, PDGF, NO) mohou stimulovat, nebo inhibovat proliferaci cévní intimy a hypertrofii cévní stěny a přispívat k angiogenezi.

Endotelová dysfunkce je definovaná jako funkční poškození endotelu, charakterizované zvýšenou propustností cévní stěny a nerovnováhou mezi různými vazoaktivními, koagulačními a proliferaci ovlivňujícími působky, která má za následek sklon k vazokonstrikci, trombotické diatéze a nedostatečnou inhibici subendotelové proliferace intimy. Endotelová dysfunkce je tak

charakterizována nedostatečnou odpovědí na vazodilatační podněty (zvýšený průtok krve, nebo např. acetylcholin) s tendencí k vazokonstrikci, zvýšené expresi adhezních molekul s následnou infiltrací cévní stěny monocyty/makrofágy, zvýšenou tendencí k tvorbě destičkových trombů s porušenou fibrinolýzou a zvýšenou tvorbu volných radikálů přispívající k poškození cévní stěny a zvýšení její permeability.

Generalizovaná nebo lokalizovaná endotelová dysfunkce hraje také velmi významnou roli v patogenezi časně aterosklerózy, hypertenze, diabetických komplikací, srdečního a renálního selhání a sepse. K endotelové dysfunkci může přispívat řada faktorů poškozujících endotel, např. stárnutí, hypertenze, hyperlipoproteinémie, hyperglykémie, hypoxie, hyperhomocysteinémie, kouření, infekce, imunitní komplexy, nebo léčba cytostatiky.

Tvorba nádorových metastáz je závislá na změnách endotelové funkce, které mohou mít alespoň určitou podobnost s endotelovou dysfunkcí, např. zpomalení rychlosti toku krve, zvýšená produkce protrombotických (thromboxan A2) a antifibrinolytických (např. PAI-1) faktorů. Expresie adhezních molekul (E-selektinu, P-selektinu, VCAM-1) endotelem je nezbytná pro extravazaci nádorových buněk. Bylo prokázáno, že zvýšená expresie adhezních molekul (např. VCAM-1) má vztah k nádorové angiogenezi.

Tkáňová extravazace nádorových buněk, která je předpokladem vzniku metastáz, vyžaduje interakci mezi nádorovými buňkami a endotelem, velmi podobnou interakce endotelů s leukocyty před jejich extravazací v zánětlivě změněné tkáni. Tato interakce je zprostředkována adhezními molekulami jak ze selektinové rodiny (E-selektin a P-selektin), tak z imunoglobulinové superrodiny (ICAM-1 a VCAM-1). Nádorové buňky musí na svém povrchu exprimovat protireceptory těchto adhezních molekul, stejně jako aktivované leukocyty (lektiny a beta-1 a beta-2 integriny). Expresie adhezních molekul endotelem je stimulována cirkulujícími prozánětlivými cytokiny. Převládající typ exprimované adhezní molekuly může přispívat k lokalizaci metastáz, např. E-selektin je preferenčně exprimován v jaterní cirkulaci, zatímco VCAM-1 je preferenčně exprimován v cirkulaci plicní. Zvýšené sérové hladiny solubilního E-selektinu byly skutečně nalezeny u pacientů s metastatickým karcinomem prsu, nejvyšší sérové hladiny E-selektinu měly pacientky s metastatickým karcinomem prsu s jaterními metastázami. Pacientky s karcinomem prsu s vysokými sérovými koncentracemi solubilního E-selektinu měly více vyjádřenou nádorovou angiogenezi významně kratší dožití. Solubilní E-selektin byl u pacientek s karcinomem prsu identifikován jako nezávislý negativní prognostický faktor. Jinou adhezní molekulou, která může hrát důležitou roli v tvorbě nádorových metastáz, je P-selektin. Protireceptorem P-selektinu na nádorových buňkách je CD24 (mucinová molekula). Podání solubilního CD24 nebo selektivní deplece CD24 z povrchu nádorových buněk snížila významně metastatický potenciál buněk karcinomu prsu. Jiné (a obvykle běžnější) protireceptory P- a E-selektinu (sialyl Lewis(x) a sialyl Lewis(a)) nejsou normální epiteliemi prsní žlázy exprimovány, exprimují je ale buňky karcinomu prsu.

V našich předchozích studiích jsme zjistili, že pacientky s metastatickým (i nemetastatickým) karcinomem prsu mají zvýšené hladiny E- a P-selektinu a ICAM-1. Sérové hladiny P-selektinu u těchto pacientek těsně korelovaly se sérovými hladinami TNFalfa. Sérové hladiny solubilního VCAM-1 sice nebyly u pacientek s karcinomem prsu ve srovnání s kontrolami zvýšeny, ale pacientky s metastatickým (stadium IV) karcinomem prsu měly sérové hladiny solubilního VCAM-1 vyšší než pacientky s lokalizovaným onemocněním (stadium 0-I). Sérové hladiny solubilního VCAM-1 i P-selektinu u pacientek s karcinomem prsu významně poklesly tři měsíce a jeden rok po zahájení léčby. Sérové hladiny ICAM-1 u těchto pacientek po léčbě také významně klesly, zůstávaly ale stále ve srovnání s kontrolami výrazně zvýšeny.

Je zřejmé, že jak metastazování, tak angiogeneze jsou velmi komplexní děje, kdy event. „endotelová dysfunkce“ může být pouze jedním z faktorů v proponované patogenetické kaskádě (vedle aktivace řady cytokinů, růstových faktorů, proteáz, aj.). Generalizovaná endotelová dysfunkce také nemůže zcela vysvětlit specifické metastazování nádorů do různých tkání. Předpokládáme, že by „endotelová dysfunkce“ mohla být nutnou, ale nikoli postačující podmínkou pro metastazování a angiogenezi.

Karcinom prsu je v naší republice stále velmi závažným problémem. Ročně onemocní touto diagnózou více než 5 tisíc nemocných. Rychle se rozvíjející mamografický skríninkový program umožňuje časnější záchyt karcinomu prsu, a tím nám dává šanci soustředit se zejména na prevenci pozdní generalizace onemocnění. Identifikace časných markerů endotelové aktivity a endotelové dysfunkce by mohlo umožnit včas diagnostikovat pacientky s vysokým rizikem generalizace (tvorby metastáz), které by měli být zřejmě častěji kontrolovány, event. by tento nálezní mohl v budoucnu určitým způsobem modifikovat i terapeutický postup.

V naší studii jsme se zaměřili zejména na zvlášť rizikovou skupinu premenopauzálních pacientek do 40 let. U těchto pacientek vyšetřujeme nejen markery aktivity endotelu, ale také průtokem stimulovanou vazodilataci pomocí dopplerovské sonografie. U těchto pacientek bychom měli být schopni minimalizovat riziko ovlivnění endotelové funkce aterosklerózou.

První výsledky z vyšetření 57 pacientek chceme prezentovat v tomto sdělení.

*Výzkum byl podpořen Grantem České onkologické společnosti a grantem IGA NR-9020.*