

# KLINIČKA I ETIOPATOGENETSKA ULOGA PLAZMINOGENSKOGA I METALOPROTEINAZNOGA SUSTAVA U TUMORSKOME RASTU

## Pericelularna razgradnja međustaničnoga matriksa i tumorski rast

### CLINICAL AND ETIOPATHOGENETIC ROLE OF PLASMINOGEN AND METOPROTEINASE SYSTEMS IN THE TUMOR GROWTH

#### Pericellular proteolysis of extracellular matrix and tumor growth

SANDA JELISAVAC ĆOSIĆ, ZDENKO KOVAČ\*

**Deskriptori:** Tumori – metabolizam, patologija; Tumorske metastaze – patofiziologija; Izvanstanični matriks – metabolizam; Matriksne metaloproteinaze – metabolizam; Tkivni aktivator plazminogena – metabolizam; Urokinazni aktivator plazminogena – metabolizam, analiza; Inhibitor aktivatora plazminogena 1 – metabolizam, analiza; Tumorski biljezi – analiza; Tumori dojke – dijagnoza, patologija

**Sažetak.** Pericelularna proteoliza složen je kaskadni proces razgradnje međustanične tvari, koji sudjeluje u fiziološkim i etiopatogenetskim procesima. Osim razgradnje tkivne strome i slabljenja međustaničnih sveza u tkivu, tom se proteolizom stvaraju bioaktivne tvari (citokini, čimbenici rasta i čimbenici kočenja). Plazminogeni sustav djeluje fibrinolitički i nadređen je sustavu metaloproteinaza. Aktivnost proteolitičkih enzima uvjetovana je stupnjem zimogene aktivacije, biološkim poluvijekom molekula te učincima inhibicijskih molekula. Kočenje enzima pericelularne proteolize ostvaruje se na više koraka izravnim vezanjem inhibitora i enzima. Pericelularna proteoliza sudjeluje u procesima invazije i metastaziranja tumora, upalnim procesima, degenerativnim bolestima i drugim procesima. Patofiziološka regulacija pericelularne proteolize u tim stanjima pridonosi kliničkim svojstvima bolesti te ima dijagnostičku i terapijsku važnost.

**Descriptors:** Neoplasms – metabolism, pathology; Neoplasm metastasis – physiopathology; Extracellular matrix – metabolism; Matrix metalloproteinases – metabolism; Tissue plasminogen activator – metabolism; Urokinase-type plasminogen activator – metabolism, analysis; Plasminogen activator inhibitor 1 – metabolism, analysis; Tumor markers, biological – analysis; Breast neoplasms – diagnosis, pathology

**Summary.** Pericellular proteolysis is a cascade process involved in degradation of extracellular matrix. This process is included in various physiological and pathological processes. Pericellular proteolysis has major functions like degradation of tissue stroma and weakening of intercellular connections but it also has a function in the synthesis of bioactive molecules (cytokines, growth factors and inhibitory factors). Plasminogen system is involved in fibrinolysis and starts metalloproteinase activation. Activity of proteolytic molecules is controlled by the rate of zymogenic activation, half-life of molecules, and action of inhibitory molecules. Inhibition is achieved through direct binding of inhibitor and enzyme and takes a few steps. Pericellular proteolysis is involved in tumor invasion and metastasis, inflammatory reaction, degenerative diseases and other diseases. Pathophysiological regulation of pericellular proteolysis in mentioned diseases contributes to clinical properties of diseases and has diagnostic and therapeutic importance.

Liječ Vjesn 2011;133:56–63

#### Mehanizmi regulacije plazminogenog sustava i pericelularne tkivne proteolize

Makromolekularne promjene i pregradnja izvanstanične strome i bazalnih membrana u tkivima izravno i posredno reguliraju stanični promet u tkivima te samu građu tkiva. Utkivljenje, selidba i recirkuliranje stanica imaju fiziološko i patofiziološko značenje. Fiziološka tkivna pericelularna proteoliza uključuje enzimsko remodeliranje izvanstaničnog matriksa u razvojnoj tkivnoj morfogenezi, organogenezi te održavanju tkivne funkcijsko-morfološke homeostaze tijekom života.<sup>1-4</sup> Patofiziološki procesi u upalnome reagiranju, neoangiogenezi, fibrogenezi, aterogenezi, patogenezi malignih bolesti, cijeljenju rana i prijeloma te degenerativnim procesima uključuju aktivnu pregradnju izvanstanične strome. Pericelularna strukturalna pregradnja ima važnu regulatornu ulogu. Aktivnost izvanstaničnih proteolitičkih enzima te sinteza i polimerizacija temeljni su procesi koji određuju svojstva izvanstaničnoga matriksa. Budući da se radi o amplifikacijskom enzimatskom sustavu, filogenijski je razvijen nadzorni sustav lokalne inhibicije tih kaskadnih procesa. Stoga, stvarna trenutačna aktivnost proizlazi iz dinamičkih međudodna proteolitičkih i antiproteolitičkih molekula. Načelno se regulacija pericelularne proteolize ostvaruje u

četiri koraka: regulacijom genskog izražaja enzima i njihovih inhibitora, kompartmentaliziranjem sintetiziranih proenzima, zimogenom aktivacijom te vezanjem inhibitorynih molekula i brzinom razgradnje (obrtaj molekula).<sup>1,2,5</sup>

Plazminogeni sustav čine proenzimske (plazminogen, pro-uPA, pro-tPA), enzimske (urokinazni aktivator plazminogena – uPA, tkivni aktivator plazminogena – tPA, i plazmin) i inhibicijske bjelančevine (PAI-1, PAI-2) te stanične receptorske molekule (uPAR), čija su osnovna biokemijska i funkcijska svojstva navedena na tablici 1. Te molekule čine kaskadni aktivacijski sustav s više razina regulacije. Prvi korak izvanstanične proteolize je vezanje uPA (53 kDa) na receptor uPAR (CD87) koji je glikozil-fosfatidilinozitolnim sidrom vezan na staničnu membranu.<sup>6</sup> Vezanje uPA na uPAR omogućava proteolizu plazminogena u plazmin (v.

\* Zavod za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb (Sanda Jelisavac Ćosić, dr. med.; prof. dr. sc. Zdenko Kovač, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. S. Jelisavac Ćosić, Zavod za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb, Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb

Primljeno 17. lipnja 2009., prihvaćeno 31. ožujka 2010.

sliku 1). Cijepanje peptidnoga veza Arg561-Val562 u plazminogenu u funkcijskome smislu predstavlja zimogenu aktivaciju čime nastaje plazmin. Vežanjem na uPAR istodobno se pokreću endocitoza i membransko-citoplazmatsko kruženje receptora, što pojačava uPAR-izražaj i posljedično aktivacija pro-uPA pri čemu se aktivnost uPA povećava više od 100 puta.<sup>7</sup> S druge strane, vežanjem uPA na uPAR dolazi do cijepanja samog receptora uPAR na D<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-fragment koji ima oko 1000 puta niži afinitet za uPA i vitronektin i time samonizuje aktivaciju sustava.<sup>8</sup> Taj dinamički međuodnos pojačanja i sniženja uPAR-aktivnosti važan je regulator sveukupne plazminogene aktivacije. Na slici 1. naznačeno je da aktivirani prokoagulacijski čimbenici XIa i XIIa aktiviraju plazminogen, dakle, antikoagulacijski sustav, što predstavlja samoregulaciju trombogenetskih i trombolitičkih procesa.<sup>9</sup> Isto tako, terapijska primjena streptokinaze u protokolima trombolize osniva se na aktivaciji plazminogenoskoga sustava.<sup>10</sup>

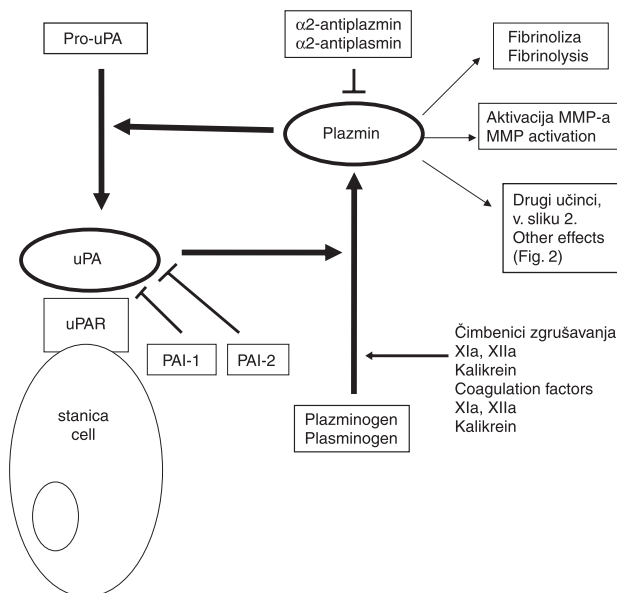
Aktivni enzimi uPA, tPA i plazmin serinske su proteaze (sadržavaju serin u katalitičkome središtu enzima), s tim da

je uPA usko specifičan enzim, a plazmin ima širok spektar supstrata. Između uPA i plazmina uspostavlja se samopojačivački sustav, pri kojem novonastali plazmin povećava stvaranje aktivnog uPA iz pro-uPA, a uPA povratno povećava aktiviranje plazmina (v. sliku 1). Ta pozitivna povratna sprema doprinosi jačini proteolitičke razgradnje i zahtijeva nadređenu inhibicijsku kontrolu.<sup>11</sup> Pozitivna povratna sprema uspostavlja se između tPA i plazmina, što je naznačeno na slici 2. i tablici 1. Aktivirani enzimi povratno aktiviraju zimogene vlastitih aktivatora i time zatvaraju začarani krug (lat. *circulus vitiosus*). Aktivnost tPA pojačivačkoga kruga slično kao uPA pojačivačkoga kruga pod kontrolom su inhibicijskih molekula PAI-1 i PAI-2 (v. sliku 2). Iako uPA i tPA obavljaju sličnu aktivacijsku zadaću u plazminogenoskom sustavu, te molekule imaju svega oko 40% strukturne homologije, što upućuje da tek u dalekoj filogeniji nasljeđuju zajednički genski motiv. tPA je dominantno uključen u intravaskularnu trombolizu, a uPA većim dijelom sudjeluje u procesima pericelularne proteolize u ekstravaskularnome međustaničnom prostoru.

Tablica 1. Osnovna fiziološka i biokemijska svojstva čimbenika plazminogenoskoga sustava  
Table 1. Members of plasminogen system and their physiological and biochemical properties

Čimbenik /Factor	a) Smještaj u genomu /Genome location b) Masa /Molecular mass (kDa)	a) Koncentracija u plazmi /Plasma concentration b) Poluvijek /Half-life	a) Tkivni/stanični izražaj /Tissue/Cell expression b) Način molekularne aktivacije/inhibicije /Mode of activation/inhibition
Plazminogen /Plasminogen	a) 6q26 b) 92	a) 200 mg/mL b) 0,8–2,1 dan	a) Hepatociti/Hepatocytes b) uPA i tPA cijepanjem, u katalitički aktivni plazmin (90kDa). $\alpha$ 2-antiplazmin i $\alpha$ 2-makroglobulin koče plazmin vežanjem. /uPA and tPA cleave plasminogen to active plasmin (90 kDa). Inhibition is achieved through binding of $\alpha$ 2-antiplasmin and $\alpha$ 2-macroglobuline to plasminogen.
$\alpha$ 2-antiplazmin / $\alpha$ 2-antiplasmin	a) 17p12 b) 51	a) 70 $\mu$ g/mL b) 2–6 dana	a) Hepatociti/Hepatocytes b) Od pro- $\alpha$ 2-antiplazmina veličine 464 aminokiseline enzim aktivator odcjepljuje peptid veličine 12 aminokiselina, što daje aktivnu molekulu. /An active form (12 amino acids is cleaved from pro- $\alpha$ 2-antiplasmin (464 amino acids)
uPA	a) 10q24 b) 53	a) 0,9–8 ng/mL b) 5–10 minuta	a) Stromalne stanice, trofoblasti/Stroma cells, trophoblast cells b) Plazmin cijepa pro-uPA u aktivni oblik uPA. PAI-1 i PAI-2 te $\alpha$ 2-makroglobulin koče uPA, vežanjem. /Pro-uPA is cleaved by plasmin to active uPA. Inhibition is accomplished through binding to PAI-1, PAI-2 and $\alpha$ 2-macroglobuline
tPA	a) 8p12 b) 70	a) 9 ng/mL b) 1,6 sati	a) Endotelne stanice/Endothelial cells b) Jednolančana tPA-molekula izravno je aktivna. Plazmin ju cijepa u dvovalčanu aktivnu molekulu, a fibrin vežanjem pojačava aktivnost oko 100 puta. PAI-1, vrlo brzo, i PAI-2, usporeno, te $\alpha$ 2-makroglobulin vežanjem koče tPA /Single-chain tPA is active form but it can be cleaved to doublechain molecule by plasmin and it is also an active form. Binding of double chain form to fibrin enhances its activity 100 times. Inhibition is strong through PAI-1 action and weak through PAI-2 action. Binding to $\alpha$ 2-macroglobuline is also inhibitory.
uPAR (CD87)	a) 19q13 b) 55–60	NSM* insoluble molecule	a) Fibroblasti, monociti/Fibroblast cells and monocytes b) Vežanje uPA:PAI-1-kompleksa uzrokuje internalizaciju i ponovni izražaj uPAR na membrane. /Binding of uPA:PAI-1 complex to uPAR localized on cell membrane causes internalization and subsequently re-expression of uPAR.
PAI-1	a) 7q21.3-q22 b) 52	a) 20 ng/mL b) 2–3 sata	a) Endotel, stanice glatkog mišića žila, adipociti, megakariociti /Endothelial cells, smooth muscle cells, adipocytes, megakaryocytes b) Vežanje PAI-1 na vitronektin održava PAI-1 u aktivnu obliku, vežanje PAI-1 na heparin održava aktivnu strukturu stabilnom. /Binding of PAI-1 to vitronectin maintains PAI-1 in active form and subsequent binding to heparin maintains the active structure in stabile form.
PAI-2	a)18q21.3-q21.33 b) 47–60	a) 250 ng/mL b) 24 sata	a) Placenta, aktivirani monociti, keratinociti, eozinofili /Placental cells, activated monocytes, keratinocytes, eosinophiles b) Pobuda monocita i makrofaga s TNF-om i LPS-om povećava lučenje PAI-2. /TNF and LPS activation of monocytes and macrophages increases PAI-2.
Vitronektin /Vitronectin	a) 17q11 b) 75	a) 200–400 $\mu$ g/mL b) 8 sati	a) Glatke mišićne stanice žila/Vascular smooth muscle cells b) Vežanje PAI-1 priječi vežanje uPAR-a i integrin /Binding of PAI-1 inhibits binding of uPAR and integrin to vitronectin. Unbound uPAR and integrins are inactive.

\* NSM – Nije solubilna molekula/insoluble molecule.

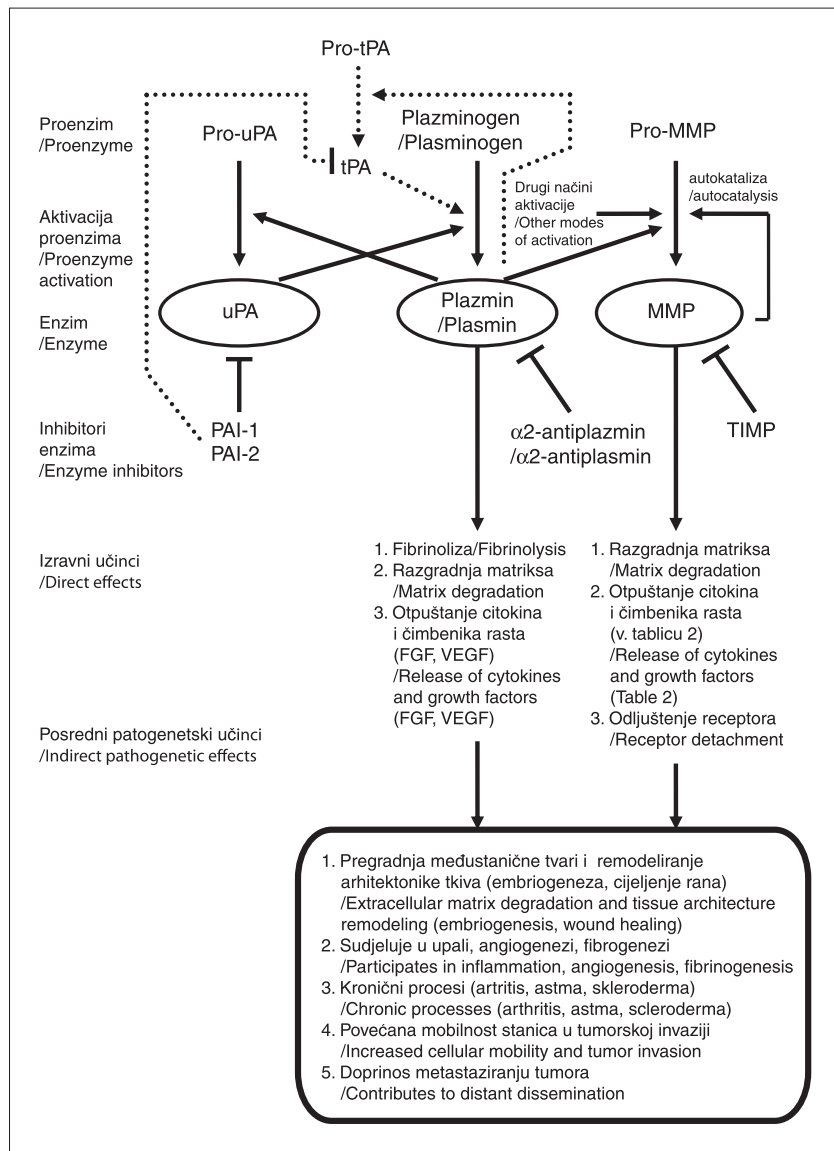


Kratice/Abbreviations:

uPA – urokinazni aktivator plazminogena/urokinase-type plasminogen activator; uPAR – stanični receptor za uPA/urokinase-type plasminogen activator receptor; PAI – inhibitor aktivatora plazminogena, serpin/plasminogen activator inhibitor; MMP – metaloproteinaze/matrix metalloproteinase.

Slika 1. Između aktivacije plazmina i uPA uspostavlja se pojačivačka pozitivna povratna spregra, koja je pod nadzorom serpina PAI-1, PAI-2 i  $\alpha$ 2-antiplazmina. Amplifikacijske međuaktivacije enzima odvijaju se na uPAR-staničnim receptorima.

Figure 1. A feedforward loop is established for plasmin and uPA activation and it is supervised by serpins PAI-1, PAI-2 and  $\alpha$ 2-antiplasmin. Amplificatory interactions of enzymes take place on uPAR cell receptors.



Kratice/Abbreviations:

uPA – urokinazni aktivator plazminogena /urokinase-type plasminogen activator; tPA – tkivni aktivator plazminogena /tissue-type plasminogen activator; PAI – inhibitor aktivatora plazminogena, serpin /plasminogen activator inhibitor; TIMP – tkivni inhibitor metaloproteinaza /tissue inhibitor of metalloproteinases; FGF – fibroblastni čimbenik rasta /fibroblast growth factor; VEGF – čimbenik rasta žilnog endotela /vascular endothelial growth factor.

Slika 2. Plazminogeni aktivatori (uPA, tPA) i njihovi inhibitori (PAI-1, PAI-2) hijerarhijski su nadređeni aktivaciji plazminogena i prometaloproteinaza i time moćan kaskadni regulator distalnih izravnih i posrednih etiopatogenetskih učinaka. Isprekidanim linijama naznačeni su unutaržilni međuodnosi pri aktivaciji fibrinolize, a punim linijama označeni su procesi koji dominiraju u intersticiju tkiva s posljedičnom razgradnjom međustanične tvari.

Figure 2. Plasminogen activators (uPA, tPA) and their inhibitors (PAI-1, PAI-2) are superior in hierarchy to activation of plasminogen and pro-metalloproteinases and thus powerful regulators in cascade of distal direct and indirect etiopathogenetic effects. With broken lines are designated intravascular interactions in activation of fibrinolytic process, and with full lines are designated processes which dominate in tissue interstitium with consequential intercellular matrix degradation.

Osim razgradnje fibrina i protukoagulacijskog učinka u krvožilnome sustavu, plazmin izravno cijepa molekule izvanstaničnoga matriksa te doprinosi solubiliziranju nekih citokina.<sup>1,2</sup> Aktivnost plazmina pod izravnim je nadzorom  $\alpha$ 2-antiplazmina, plazmatskoga proteina sintetiziranog u hepatocitima.  $\alpha$ 2-antiplazmin je primarni inhibitor plazmina s poluvijekom 2–6 dana u plazmi koji kočenje postiže izravnim vezanjem plazmina.<sup>12</sup> Prisutan je u plazmi u koncentraciji od oko 70  $\mu$ g/mL (oko 1  $\mu$ M), a koncentracija plazmina je oko 2  $\mu$ M. Kočenje plazmina nastaje stvaranjem uobičajenog serpin-enzimskog kompleksa.<sup>12</sup>

Inhibitori uPA (PAI-1 i PAI-2) određuju aktivnost uPA i tPA, te poredno aktivnost plazmina preko aktivacije plazminogena. PAI-1 je ranije u literaturi nazivan i endotelni inhibitor jer ga izlučuju endotelne stanice i glatke mišićne stanice žila, a može se mjeriti u plazmi i trombocitima. Kočenje t-PA i uPA aktivnosti PAI-1 i PAI-2 ostvaruju vezanjem enzima u omjeru 1:1<sup>13</sup> te posljedičnom razgradnjom bimolekularnoga kompleksa. Dokazano je da PAI-1 ima podjednako visok afinitet za uPA i tPA. U plazmi PAI-1 je vezan na vitronektin, glikoprotein koji ima i druge fiziološke uloge. Vitronektin je povišen na mjestima bolesti ili ozljede gdje veže kolagene, uPAR i integrin. PAI-1 je vezan na somatomedin B domenu vitronektina isto kao i uPAR. Afinitet te domene za PAI-1 je visok. Slobodni PAI-1 gubi svoju aktivnost, a vezan putem vitronektina zadržava funkciju. Vitronektin omogućava lokalizaciju PAI-1 na specifična područja tkiva. Time je vitronektin kofaktor za PAI-1 jer posredno upravlja njegovom aktivnošću i određuje mjesto djelovanja. PAI-1 ima središnju ulogu u staničnoj adheziji preko integrina ili uPA/uPAR-kompleksa. U plazmi zdravih osoba izražaj PAI-1 je nizak i većinom ga izlučuju glatke mišićne stanice žila adipociti i megakariociti. Njegova se koncentracija povisuje djelovanjem citotoksina čimbenika rasta i endotoksina i tada može biti izražen u endotelnim stanicama. VEGF i bFGF mogu potaknuti endotelne stanice na stvaranje PAI-1.<sup>14,15</sup> Inhibitori serinskih proteaza zbirno su nazvani serpini, što je kovanica od serinski proteazni inhibitor, a upućuje na istovjetni mehanizam kočenja ciljnih enzima.

Na slici 1. naznačena je aktivacijska uloga plazminogenoskoga sustava u pobudi matriksnih metaloproteinaza (MMP). Plazmin aktivira brojne prometaloproteinaze proteolitičkim cijepanjem. Osim plazminogenoske aktivacije metaloproteinaze se mogu aktivirati kisikovim radikalima i drugim enzimskim sustavima.<sup>3,4</sup> Jednom pokrenuta aktivnost metaloproteinaza ima autokatalitičku aktivnost (v. sliku 2).

Sustav matriksnih metaloproteinaza sadržava više od 24 endopeptidaze, koje imaju cinkove ione ( $Zn^{++}$ ) u aktivnome mjestu enzima (stoga se nazivaju metaloproteinazama). MPP su neutralne proteaze, supstratno specifične za molekule izvanstaničnoga matriksa, a njihove se proteolitičke aktivnosti međusobno u velikoj mjeri preklapaju.<sup>3</sup> Izvanstanični matriks sastoji se od temeljnih stuktturnih proteina (kolagen, elastin), specijaliziranih proteina (fibronektin, laminin), peptidoglikana (glukozaminoglikani), a formiraju bazalne membrane i međustanične makromolekularne mreže. MMP razgrađuju sve proteine matriksa, odljušćuju stanične receptore i imaju dugotrajne učinke. MMP sintetiziraju i izlučuju različite stanice (fibroblasti, endotelne stanice, makrofagi, dendritičke stanice, glija-stanice, glatke mišićne stanice, tumorske stanice i druge) u obliku zimogena, a aktiviraju se ograničenom proteolizom. Pri aktivaciji im se smanjuje molekularna masa. Primjerice, pro-MMP-1 od 55 kDa mase zimogena postaje aktivna molekula MMP-1 od 45 kDa, a pro-MMP-13 se pri aktivaciji skraćuje sa 60 na

48 kDa.<sup>3</sup> MMP se razvrstavaju u kolagenaze (MMP-1, -8, -13, -18), gelatinaze (MMP-2 i -9), stromelizin (MMP-3, -10, -11), membranske (MPP-14, -15, -16, -17, -24, -25) te druge, nerazvrstane MPP. Genski izražaj i izlučivanje MMP-a strogo su regulirani procesi. Većina MMP-a ima konstitutivni izražaj u tkivima, a njihov izražaj mogu potaknuti stanično-stanične jukstastimulacije, neki citokini i čimbenici rasta te lipopolisaharid (LPS).

Osim MMP-a u pericelularnoj proteolizi sudjeluju još dvije veleskupine enzima s metaloproteinaznom domenom. To su ADAM-skupina (prema engl. *A Disintegrin and Metalloproteinase*) koja sadržava i disintegrinsku domenu te ADAMTS-skupina (prema engl. *A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motif*) koja uz metaloproteinaznu i disintegrinsku domenu sadržava i trombospondinsku domenu. Od 25 ADAM-molekula izraženih u čovjeka 19 ih ima proteolitičku aktivnost. Veleskupinu ADAMTS čini 19 molekula i sve se luče u izvanstanični prostor gdje neke ostaju solubilne, a neke se vežu na matriks. Osim proteolitičke uloge izvanstaničnih matriksnih bjelančevina ovi enzimi ljušte i aktiviraju biološki važne regulacijske molekule. Primjerice, ADAM-17 ljušti pro-TNF- $\alpha$  s membrane.<sup>3,7</sup>

Na slici 2. naznačeno je da MMP-aktivnost kože tkivni inhibitori matriksnih metaloproteinaza (TIMP, prema engl. *tissue inhibitors of metalloproteinase*). TIMP-molekule su mali glikoproteini (21–30 kDa) koji se svojim N-krajem nekovalentno vežu na MMP (s visokim afinitetom vezanja od  $10^{-9}$  do  $10^{-12}$  M) i kože njihovu katalitičku aktivnost. Identificirana su četiri homologa TIMP-1, -2, -3, -4. Inhibitore metaloproteinaze luče fibroblasti i u visokim koncentracijama prisutni su u serumu.<sup>16</sup>

### Učinci pericelularne proteolize na neposrednu staničnu regulaciju

Središnji koncept etiopatogeneze metastaziranja vidi pericelularnu proteolizu kao ključni događaj »oslobađanja« transformirane stanice od primarnoga sjajala.<sup>10,17</sup> Enzimatska razgradnja matriksa i bazalnih membrana otvara la bi put odvajanjima i migracijama stanica. Aktivacija odnosno prigušivanje plazminogenoskoga sustava i sustava MMP-a doprinosi većem odnosno manjem uklanjanju makromolekularnih anatomskih barijera. Utkivljene stanice time mijenjaju čvrstinu adhezijskih spona s tkivnom strukturom. Osim u procesima metastaziranja mehanizam tkivnoga »oslobađanja« stanica, pericelularna proteoliza sudjeluje u fiziološkim procesima utkviljenja i recirkulacije upalnih stanica (neutrofili, eozinofili i druge), imunskih stanica (limfociti, stanice monocitne lize), u citokinezi pri angiogenezi te implantaciji i embriogenezi.<sup>1,3,7</sup>

S druge strane, osim promjene strukture međustaničnih prostora enzimatska razgradnja izravno i posredno uzrokuje biokemijske i mehaničke signale na dodirnim stanicama. Cijepanjem međustanične tvari stvaraju se važni bioaktivni peptidi, koji se nalaze kao kriptogene komponente u strukturi bjelančevina. Degradacijom plazminogena stvara se angiostatin,<sup>1,18</sup> a iz kolagena XVIII proteolizom se oslobađa endostatin,<sup>19</sup> a iz kolagena IV tumstatin. Sve tri molekule su snažni antiangiogenetski čimbenici.<sup>1</sup> Angiostatin je peptid mase 38 kDa koji obuhvaća prve četiri domene plazminogena, a koči stanični ciklus smanjivanjem izražaja ciklinskih CDK-kompleksa, koči energijski metabolizam i pojačava izražaj gena za FasL.<sup>1</sup> Endostatin je 20 kDa razgradni peptid koji antiangiogenetski učinak postiže kočenjem VEGF-R2-vezivanja, blokadom staničnoga ciklusa u G1/S-nadzornoj točki i



pokretanjem apoptoze preko aktivacije kaspaze 9.<sup>19</sup> Tumstain je 28 kDa razgradni ulomak kolagena IV koji koči proliferaciju, uzrokuje G1/S-zastoj, pokreće apoptozu preko aktivacije kaspaze 3 te koči sintezu proteina.<sup>20</sup> Sva tri degradacijska antiangiogenetska peptida proizvode stanične signale koji zajedno s drugim halonskim (inhibitornim) peptidima (kao trombospondin, PF4) doprinose regulaciji angiogeneze.

Na tablici 2. navedene su metaloproteinazne aktivacije citokina i čimbenika rasta, preko kojih se ostvaruju dostatne lokalne koncentracije za pobudu stanica. Ti signali sudjeluju u migracijama, pokretanju upale te regulaciji fibrogeze. Migracija stanica potaknuta je kemotaktičkim tvarima, a proteolizom se neke od njih stvaraju. Time pericelularna proteoliza sudjeluje kao regulacijski mehanizam.

Enzimska razgradnja uzrokuje prekide staničnih kontakata pri čemu je gubitak ligandnih interakcija signal za stanice. Gubitak kontakata s bazalnom membranom može pokrenuti programiranu smrt stanice te unutarstaničnu razgradnju – autofagiju stanica. Promjene izvanstaničnoga matriksa (pregradnja, promjene strukture) mogu pokrenuti molekularne mehanizme anoikisne smrti stanice.<sup>21</sup> Anoikisna smrt je podvrsta apoptotske programirane smrti stanica koju pokreće odvajanje od prirodnih sveza stanice s okolišem. Naime, odvajanjem od izvanstaničnoga matriksa gubi

Tablica 2. Metaloproteinaze cijepanjem molekula preteča aktiviraju brojne citokine, čimbenike rasta i druge molekule čime pridonose regulacijskim učincima pericelularne proteolize na stanicama u neposrednoj blizini

Table 2. Metalloproteinases by cleaving pro-molecules activate numerous cytokines, growth factors and other molecules and thus contribute to regulatory actions of pericellular proteolysis to near cells

Enzim Enzyme	Molekula preteča Pro-molecule	Bioaktivna molekula Bioactive molecule	Literaturni izvor Literature sources
MMP7	Pro- $\alpha$ -defenzin	$\alpha$ -defenzin	6, 52, 53,
	Pro- $\alpha$ -defensine	$\alpha$ -defensine	
	Dekarin/Decorin	TGF $\beta$	54, 55
	Membranski FasL Membrane FasL	Solubilni FasL Soluble FasL	
	Plazminogen Plasminogen	Angiostatin	
	Pro-TNF $\alpha$	TNF $\alpha$	
MMP1	Perlektan	FGF	52, 54, 55,
	Pro-TNF $\alpha$	TNF $\alpha$	
MMP3	Dekarin/Decorin	TGF $\beta$	6, 52, 54,
	Perlektan	FGF	
	Pro-IL1 $\beta$	IL1 $\beta$	
	Plazminogen Plasminogen	Angiostatin	
	Pro-TNF $\alpha$	TNF $\alpha$	
MMP2	Dekarin/Decorin	TGF $\beta$	52, 53, 54
	Pro-IL1 $\beta$	IL1 $\beta$	
	Pro-TNF $\alpha$	TNF $\alpha$	
MMP9	Pro-IL1 $\beta$	IL1 $\beta$	53, 53, 55
	Plazminogen Plasminogen	Angiostatin	
	Pro-TNF $\alpha$	TNF $\alpha$	
	Membranski IL2R Membrane IL2R	Solubilni IL2R Soluble IL2R	

Kratice/Abbreviations:

MMP – metaloproteinaza/matrix metalloproteinase, FasL – ligand za Fas/Fas ligand; TGF $\beta$  – transformirajući čimbenik  $\beta$ /transforming growth factor  $\beta$ ; TNF $\alpha$  – tumorski nekrotizirajući čimbenik  $\alpha$ /tumor necrosis factor  $\alpha$ ; FGF – fibroblastni čimbenik rasta/fibroblast growth factor; IL – interleukin; R – receptor.

se prirodna jukstaregulacija te pokreće programirana smrt stanice. Anoikisna smrt pokreće se pri odvajanju fizioloških parenhimskih stanica i transformiranih stanica.<sup>21</sup> U procesima metastaziranja tumora preduvjet širenja stanica je stjecanje otpornosti na anoikisnu smrt pokrenutu odvajanjem primarne stanice od matriksa.<sup>22</sup> Isto tako, pregradnje izvanstaničnoga matriksa mogu pokrenuti autofagiju,<sup>23</sup> složeni unutarstanični proces razgradnje supcelularnih organela, koji se inače pokreće u stanju staničnoga supstratnog nedostatka putem drugih mehanizama.

### Etiopatogenetska uloga pericelularne proteolize u tumorskim i drugim bolestima

Zloćudne stanice imaju nestabilan genom, nekontrolirano mitogeno aktivnost, nepravilnu histoarhitektoniku te sposobnost infiltrativnoga, ekspanzivnoga rasta i metastaziranja.<sup>17,24</sup> Neoangiogeneza, izbjegavanje imunodne obrane domaćina te klonska selekcija temeljem mutatorskoga genotipa omogućavaju tumorski rast u domaćinu i nastanak tumorske bolesti. Za invaziju u susjedno zdravo tkivo i metastaze potrebni su otpuštanje stanica od izvanstaničnoga matriksa, razgradnja bazalnih membrana i međustaničnoga matriksa, ulazak zloćudnih stanica u vezivna tkiva i njihovo širenje putem krvi ili limfe. Sustav pericelularne proteolize sudjeluje u patogenezi tumorske bolesti u procesima širenja u somatskim tkivima te kroz krvne i limfne prostore, neoangiogenezi i metastaziranju. Stvaranjem povećane količine tih enzima zloćudno tkivo može povećati svoju invazivnost. S druge strane, samo tumorsko tkivo smanjuje stvaranje proteina izvanstaničnoga matriksa.<sup>25,26</sup>

Više objavljenih kliničkih istraživanja upućuje na dijagnostičku i prognostičku važnost uPA i PAI-1 u patogenezi tumorskih bolesti. Kod 2780 bolesnika s primarnim invazivnim karcinomom dojke utvrđeno je da su uPA i PAI-1 nezavisni prediktivni faktori loše remisije i ukupnoga preživljavanja u bolesnica s infiltracijom limfnih čvorova i bez nje.<sup>27,56</sup> U 576 bolesnica s karcinomom dojke bez zahvaćanih limfnih čvorova uPA-PAI-1-kompleks korelirao je s histološkim stupnjem malignosti i nezavisni je prediktor preživljavanja ( $p=0,039$ ).<sup>28,35</sup> Sličan rezultat pokazan je metaanalizom 8377 bolesnica gdje su uPA i PAI-1 zajedno pokazali najjaču prognostičku značajnost ( $p<0,001$ ) kod bolesnica s negativnim limfnim čvorovima. Više drugih izvješća upućuje na sličan zaključak o ulozi izražaja molekula plazminogenškoga sustava u patogenezi karcinoma dojke (v. tablicu 3). U našem istraživanju<sup>29</sup> koje je obuhvatilo 112 bolesnica od primarnog raka dojke sa srednjim vremenom praćenja bolesti od 44 mjeseca dobili smo podudarne rezultate s gore navedenim rezultatima. Pojačani izražaji uPA i PAI-1 pokazali su se kao negativni prognostički pokazatelji s visokom statističkom značajnošću ( $P<0,001$ ). Bolesnice sa sniženim izražajem uPA/PAI-1 imaju snižen rizik od smrtnog ishoda bolesti u promatranome vremenu. Optimalne granične vrijednosti dobivene su ROC-analizama, za uPA je 0,92 ng/mg proteina (osjetljivost testa 70%, specifičnost testa 76%), a za PAI-1 1,44 ng/mg proteina (osjetljivost testa 77%, specifičnost testa 66%).

U bolesnika s rakom želudca utvrđeno je da klinički teži stadiji koreliraju s povećanim izražajem uPA/uPAR u tumorskome tkivu.<sup>28</sup> Epidemiološko preživljavanje bolesnika s visokim izražajem uPA i uPAR (mjereno hibridizacijom glasničke RNA i imunološkim tehnikama) skraćeno je u odnosu na bolesnike bez izražaja (25 mjeseci u odnosu na 49 mjeseci). U endometrijskom karcinomu utvrđeno je da je povišeni uPAR povezan s većom smrtnošću, a u cervikalnom

karcinomu povećani uPA i PAI-1-izražaj upućuje na skupine bolesnica s povećanim rizikom od progresije tumora.<sup>27</sup>

Opisane kliničke korelacije pokazuju jasne obrasce prema kojima povećana pericelularna proteoliza doprinosi razvoju tumorskih bolesti. Takvi se obrasci toka i ishoda bolesti izravno očekuju iz temeljne fiziološke zadaće međustanične proteolize. Naime, tumorskim stanicama bilo bi olakšano širenje kroz razgrađeni matriks. Međutim, iznenađuje da i pojačani izražaj inhibicijskih molekula potiče razvoj tumorskih bolesti (što se epidemiološki očituje kao pozitivna korelacija s povećanim morbiditetom i mortalitetom – usporedi podatke na tablici 3). To je proturječno

očekivanju da bi povećani kočni kapacitet inhibicijskih molekula trebao sveukupno smanjivati pericelularnu proteolizu i posljedično smanjiti invaziju i metastaziranje tumora.<sup>30,31</sup> Nasuprot tomu brojni podatci upućuju na pozitivne korelacije izražaja kočnih molekula i razvoja tumorskih bolesti. Slična su opažanja opisana u analizi drugih bioloških antagonističkih sustava i opisani su kao »sinergizam u antagonizmu«. <sup>27,32</sup> Naime, biološki sustav ne dopušta prekomjernu dominaciju jednog od suprotstavljenih parova, već se dominacija očituje tek kao netto-prevaga. Stoga je pri povećanoj aktivnosti uPA povećana i aktivnost PAI-1 (vjerojatno nešto manji funkcijski porast), što bi dalo prevagu proteolize. Postoje i druga objašnjenja paradoksa, koja uključuju druge funkcije kočnih molekula koje se paralelno pokreću.

Tablica 3. Mjerljive promjene plazminogenškoga sustava u različitim tumorskim bolestima imaju prognostičku vrijednost

Table 3. Measurable changes of plasminogen system in different neoplastic diseases are proven to have prognostic significance

Korelacije kliničkoga toka tumorske bolesti s promjenama elemenata plazminogenškoga sustava /Correlations of neoplastic disease clinical course and change in concentrations of plasminogen system members	Literaturni izvor Literature source
<b>Rak dojke/Breast cancer</b>	
Povišen uPA povezan je s lošijom prognozom i većim metastaziranjem /Increased uPA is associated with worse outcome and higher degree of distant dissemination	6, 40, 41
Povišen uPA i PAI-1 povezani su s lošijom prognozom bolesti /Increased uPA and PAI-1 is associated with worse outcome	42, 43
Povišen PAI-1 povezan je s većim metastaziranjem i lošijom prognozom /Increased PAI-1 is associated with higher degree of distant dissemination and worse outcome	
<b>Rak prostate/Prostate cancer</b>	
Cirkulirajuća uPA povezana je s invazijom i metastaziranjem /Circulating uPA is associated with tumor invasion and metastasis	6, 44
<b>Rak želuca i jednjaka/Gastric cancer and esophageal cancer</b>	
Povećana sklonost metastaziranju raka jednjaka povezana je s većim izražajem uPA /Higher expression of uPA is associated with higher susceptibility to distant dissemination of esophageal cancer	45
Povećan izražaj uPA i uPAR povezani su s povećanom angiogenezom i lošijom prognozom raka želuca /Higher expression of uPA and uPAR is associated with higher angiogenesis and worse prognosis for gastric cancer	46, 47
PAI-1-izražaj nezavisni je prognostički faktor preživljavanja /Expression of PAI-1 is an independent prognostic marker for survival	48
<b>Rak debelog crijeva i rektuma/Colon and rectal cancer</b>	
Visoki izražaj PAI-1 je povezan s lošijom prognozom, a niži izražaj povezan je s boljom prognozom bolesti /Higher expression of PAI-1 is associated with worse prognosis and lower expression of PAI-1 is associated with better prognosis	6, 49, 50
Povišen solubilni uPAR povezan je s 2,3 puta većim rizikom kolorektalnoga karcinoma /Higher soluble uPAR is associated with 2.3 times higher risk of colorectal carcinoma	51, 52
Povišeni izražaji uPA, uPAR, PAI-1 i MMP1 povezani su sa sklonošću razvoju metastaza /Higher expressions of uPA, uPAR, PAI-1 and MMP-1 are associated with higher susceptibility to create metastases	48
<b>Hondrosarkom/Chondrosarcoma</b>	
Povećan izražaj PAI-1 povezan je s većom agresivnosti bolesti /Higher expression of PAI-1 is associated with highly aggressive disease	53
Povećan izražaj uPA povezan je s većim rizikom od metastaziranja i recidiva /Higher expression of uPA is associated with higher risk of metastatic disease and relapse	54

### Dijagnostička i prognostička važnost odedivanja uPA/PAI-1-aktivnosti u kliničkoj praksi

Na slikama 1. i 2. shematski su prikazani međudodnosni serpinskih i enzimskih molekula plazminogenškoga i metaloproteinaznoga sustava, prema kojima je aktivnost uPA i kočna aktivnost serpina PAI-1 hijerarhijski nadređena cijeloj pericelularnoj proteolizi. Dijagnostičko mjerenje tih parametara stoga pruža uvid u aktivnost etiopatogenetskoga mehanizma u sklopu kliničke procjene patobioloških svojstava tumorske bolesti. uPA/PAI-1-testiranje ima dokazanu korisnost u bolesnica s karcinomom dojke. U standardnoj kliničkoj procjeni karcinoma dojke rabe se brojni pokazatelji. Relativni rizik od povratne bolesti povezan je s metastatskom pozitivnošću limfnih čvorova aksile, veličinom primarnog tumora, generativnom dobi i menopauzom, starošću, angiogenezom u tumoru, histološkim stupnjem bolesti (gradus G1-G3), statusom steroidnih receptora, patohistološkim tipom tumora i statusom HER2-receptora.<sup>33</sup> Pretraga uPA/PAI-1 doprinosi novi značajni parametar. Već spomenuta retrospektivna istraživanja u 2780 bolesnica bila su prva studija koja je upućivala na to da bi uPA/PAI-1-status mogao biti vrijedan prognostički pokazatelj.<sup>34</sup> Rezultati istraživanja uključeni su u metaanalizu koja obuhvaća podatke sveukupno 18 studija sa ukupnim brojem bolesnica 8377.<sup>35</sup> Nakon toga su objavljeni rezultati randomiziranoga kontroliranog pokusa.<sup>36</sup> Metaanaliza i randomizirani kontrolirani pokus zasebno imaju najveću dokaznu snagu (engl. level of evidence one).<sup>37</sup> Određivanje tumorskih biljega uPA i PAI-1 ima najveću razinu dokazane kliničke koristi prema evaluacijskoj standardnoj ljestvici (*Tumor Marker Utility Grading System*).<sup>38</sup>

Određivanje uPA i PAI-1 ima prognostičku i prediktivnu kliničku vrijednost. Naime, visoke vrijednosti uPA i PAI-1 upućuju na biološku agresivnost (invazivnost) tumora i dobro koreliraju sa skraćenjem remisije bolesti (skraćeni DFI, disease free interval) i ukupnim preživljenjem (OS, overall survival). Prema metaanalizi<sup>33</sup> skupina bolesnica s niskim vrijednostima uPA i PAI-1 ima manji rizik od nastanka udaljenih metastaza u toku desetogodišnjeg praćenja i veće preživljenje od skupine bolesnica u kojih su jedan ili oba ova parametra povišena.<sup>35</sup> Statistička značajnost ovakve podjele u skupine veća je nego kada se bolesnice podijele u skupine samo prema jednom od parametara. U prediktivnom smislu dokazan je pozitivan učinak CMF-protokola adjuvantne terapije na petogodišnje preživljenje u grupi bolesnica s visokim izražajem uPA/PAI-1.<sup>35</sup> U radu je prikazano smanjenje rizika od relapsa bolesti bolesnica s visokim izražajem uPA/PAI-1 koje su primile kemoterapiju. Liječenje kemoterapijom ima manji učinak u grupi bolesnica s niskim izražajem uPA/PAI-1.<sup>35</sup> Dakle za skupinu bolesnica s viso-

kim uPA i PAI-1 preporučeno je davanje kemoterapije zbog dokazanoga povoljnog učinka takvog liječenja.<sup>35</sup>

Pretraga uPA/PAI-1 sve se učestalije obavlja u brojnim centrima, što upućuje na međunarodnu prihvaćenost testa. Prema smjernicama za obradu bolesnika s karcinomom dojke preporučena je provedba uPA/PAI-1-pretrage za skupinu bolesnica bez metastaza u aksili.<sup>36</sup> Skupina bolesnica s negativnom aksilom i niskim uPA/PAI-1-statusom – smatra se – smije biti pošteđena adjuvantne kemoterapije uz konzultaciju s bolesnicom. Za bolesnice koje su prema smjernicama savjetovanja u St Gallenu svrstane u skupinu bolesnica s osrednjim rizikom od ponovne pojave bolesti, ako imaju povišeni uPA/PAI-1 status, smatra se da je bolest agresivnija nego što nam sugeriraju ostali pokazatelji, te je potrebno bolesnicu liječiti kemoterapijom.<sup>36</sup> Njemačka radna skupina za ginekološku onkologiju, AGO (prema njem. Allgemeine Gynekologische Onkologie) dala je smjernice za liječenje i dijagnostiku raka dojke koje su ustanovljene prema standardima medicine temeljene na dokazima. AGO preporuča testiranje uPA/PAI-1-sustava kao rutinsku pretragu. Preporučene su kao biljezi koji omogućavaju procjenu rizika od relapsa bolesti uz ostale već priznate biljege za procjenu raka dojke.<sup>37</sup>

Liječniku ova pretraga omogućava individualizirani pristup u liječenju bolesnica s rakom dojke koje imaju povoljne prognostičke pokazatelje (malen tumor, 1–5 cm), negativni PHD-nalaz limfnih čvorova aksile) te im nije potrebno dati kemoterapiju. Prema dosadašnjim kriterijima (preporuke iz St Gallena) još uvijek bi 90% bolesnica ove grupe s povoljnom prognozom trebalo primiti terapiju. Niske vrijednosti uPA i PAI-1 upućuju na tumor niskoga metastatskog potencijala. Oko 56% bolesnica koje imaju negativni PHD-nalaz limfnih čvorova aksile ima niske vrijednosti uPA i PAI-1, a tek 44% ih ima povišen jedan ili oba parametra.

S druge strane metaanalitički pokazatelji upućuju na to da je učinkovitije kemoterapijsko liječenje (CMF) u bolesnica s visokim izražajem uPA/PAI-1,<sup>35,39,15</sup> što je važno pri kliničkom odlučivanju o oblicima terapije. Budući da je rak dojke uz rak pluća najučestalija maligna bolest i problem od posebnoga javnozdravstvenoga interesa, laboratorijska analiza i procjena elemenata plazminogenoskoga sustava imaju dodatnu vrijednost.

#### LITERATURA

1. Tabruyn SP, Griffioen AW. Molecular pathways of angiogenesis inhibition. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;355:1–5
2. Ingber DE. Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circ Res* 2002;91:877–87.
3. Ra HJ, Parks WC. Control of matrix metalloproteinase catalytic activity. *Matrix Biol* 2007;26:587–96.
4. Adibhatia RM, Hatcher J. Tissue plasminogen activator (tPA) and matrix metalloproteinases in the pathogenesis of stroke: Therapeutic strategies. *CNS Neurol Disorder Drug Targets* 2008;7:243–53.
5. Overall CM, Dean RA. Degradomics: Systems biology of the protease web. Pleiotropic roles of MMPs in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2006;25:69–75.
6. Dass K, Ahmad A, Azmi SA, Sarkar SH, Sarkar FH. Evolving role of uPA/uPAR system in human cancer. *Cancer Treatment Rev* 2008;34:122–36.
7. Duffy MJ. The urokinase activator system. Role in malignancy. *Curr Pharm Res* 2004;10:39–49.
8. Cunningham O, Andolfo A, Santovito ML, Iuzollino L, Blasi F, Sidenius N. Dimerization controls the lipid raft partitioning of uPAR/CD87 and regulates its biological functions. *EMBO J* 2003;22:5994–6003.
9. Longstaff C, Williams S, Thelwell C. Fibrin binding and the regulation of plasminogen activators during thrombolytic therapy. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2008;6:212–23.
10. Yarovaya GA, Blokhina TB, Neshkova EA. Contact system. New concepts of activation mechanisms and bioregulatory functions. *Biochemistry (Mosc)* 2002;67:13–24.
11. Rha SJ, Yang WI, Gong SJ i sur. Correlation of tissue and blood plasminogen activation system in breast cancer. *Cancer Lett* 2000;150:137–45.
12. Coughlin PB. Antiplasmin. The forgotten serpin. *FEBS J* 2005;272:4852–7.
13. Loskutoff DJ, Sewdey M, Mimuro J. Type-1 plasminogen activator inhibitor. U: Collier BS, ur. *Progress in hemostasis and thrombosis*. Philadelphia: Saunders; 1989, str. 87–115.
14. Noël A, Bajou K, Masson V i sur. Regulation of cancer invasion and vascularization by plasminogen activator inhibitor-1. *Fibrinolysis & Proteolysis* 1999;13(6):220–25.
15. Czekay RP, Aertgeerts K, Curriden SA, Loskutoff DJ. Plasminogen activator inhibitor-1 detects cells from extracellular matrices by inactivating integrins. *J Cell Biol* 2003;160(5):781–91.
16. Rosenthal EL, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases in head and neck cancer. *Head Neck-Doi* 10.1002/hed 639–48.
17. Kovač Z. Nestabilnost genoma i poremećaj staničnoga ciklusa u karcinogenezi. U: Gamulin S, Marušić M i Kovač Z, ur. *Patofiziologija*, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2005, str. 626–30.
18. Wahl ML, Kenan DJ, Gonzales-Gronow M, Pizzo SV. Angiostatin's molecular mechanisms: Aspects of specificity and regulation elucidated. *J Cell Biochem* 2005;96:242–6.
19. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y i sur. Endostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997;88:277–85.
20. Hammann Y, Kullari R. Tumstatin, the NC1 domain of alpha 3 chain of type IV collagen is an endogenous inhibitor of pathological angiogenesis and suppresses tumor growth. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;333:292–8.
21. Chiarugi P, Giannoni E. Anoikis: A necessary death program for anchorage dependent cells. *Biochem Pharmacol* 2008;26:1552–64.
22. Eccles SA, Weich DR. Metastasis: Recent discoveries and novel treatment strategies. *Lancet* 2007;369:1742–57.
23. Lock R, Debnath J. Extracellular matrix regulation of autophagy. *Curr Opin Cell Biol* 2008;20:583–8.
24. Gupta A, Lotan Y, Ashfaq R i sur. Predictive value of the differential expression of the urokinase plasminogen activation axis in radical prostatectomy patients. *Eur Urol* 2008, doi 10.1016/j.eururo.2008.06.054.
25. Laiho M, Keski-Oja J. Growth factors in the regulation of pericellular proteolysis: a review. *Cancer Res* 1989;49:2533–2553.
26. Irigoyen JP, Muñoz-Cánoves P, Montero L, Koziczak M, Nagamine Y. The plasminogen activator system: biology and regulation. *Cell Mol Life Sci* 1999;56:104–32.
27. Steiner E, Pollow K, Hasenclever D i sur. Role of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) for prognosis in endometrial cancer. *Gyn Oncol* 2008;108:569–76.
28. Schmitt M, Mengele K, Schuere E i sur. European organisation for research and treatment of cancer (EORTC) pathobiology group standard operating procedure for the preparation of human tumour tissue extracts suited for the quantitative analysis of tissue-associated biomarkers. *Eur J Cancer* 2007;43:835–844.
29. Jelisavac Čosić S. Urokinazni i tkivni aktivator plazminogena i njihov inhibitor (PAI-1) u raku dojke (Magistarski rad). Zagreb: Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; 2004, str. 50.
30. Sobel BE. Increased plasminogen activator inhibitor-1 vasculopathy. A reconcilable paradox. *Circulation* 1999;99:2496–8.
31. Overall CM, Kleinfeld O. Towards third generation matrix metalloproteinase inhibitors for cancer therapy. *Br J Cancer* 2006;94:941–6.
32. Kovač Z, Gamulin S. Cjelovito reagiranje suprotstavljenih regulacijskih mehanizama. U: Gamulin S, Marušić M i Kovač Z, ur. *Patofiziologija*, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2005, str. 540–1.
33. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D. Prognostic factors in breast cancer (College of American pathologists consensus statement 1999). *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:966–78.
34. Duffy MJ. Urokinase plasminogen activator and its inhibitor, PAI-1, as prognostic markers in breast cancer: from pilot to level 1 evidence studies. *Clin Chem* 2002;48(8):1194–97.
35. Look MP, van Putten WLJ, Duffy MJ i sur. Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2000;94:116–28.
36. Janicke F, Prechtel A, Thomssen C i sur. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1. German Chemo N<sub>0</sub> Study Group. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:913–20.
37. Duffy MJ. Urokinase plasminogen activator and its inhibitor, PAI-1, as prognostic markers in breast cancer: from pilot to level 1 evidence studies. *Clin Chem* 2002;48(8):1194–97.
38. Hayes DF, Bast RC, Desch CE i sur. Tumor marker utility grading system: A framework to evaluate clinical utility of tumor markers. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1456–66.
39. Harbeck N, Kates RE. Enhanced benefit from adjuvant chemotherapy in breast cancer patients classified high-risk according to urokinase-



- type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor type 1 (n=3424). Clin Chem 2002;62:4617–22.
40. *Duffy MJ, Duggan C, Mulcahy HE, McDermott EW, O'Higgins NJ.* Urokinase plasminogen activator: a prognostic marker in breast cancer including patients with axillary node-negative disease. Clin Chem 1998;44:1177–83.
  41. *Look MP, van Putten WL, Duffy MJ i sur.* Pooled analysis of prognostic impact of urokinase plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 2002;94:116–28.
  42. *Sillfried GE, Saunders DN, Ranson M.* Plasminogen binding and activation at the breast cell surface: the integral role or urokinase activity. Breast Cancer Res 2007;9:R14–18.
  43. *Castello T, Espana F, Vazquez C, Almenar SM, Aznmar J.* Plasminogen activator inhibitor-1-4G/5G polymorphism in breast cancer patient and its association with tissue PAI-1 levels and tumor severity. Thromb Res 2006;117:487–92.
  44. *Shanat SF, Roehrborn CG, McConnel JD i sur.* Association of the circulating levels of the urokinase system of plasminogen activation with the presence of prostate cancer and invasion, progression, and metastasis. J Clin Oncol 2007;25:349–55.
  45. *Shiomi H, Eguchi Y, Tani T, Kodama M, Hattori T.* Cellular distribution and clinical value of urokinase-type plasminogen activator, its receptor, and plasminogen activator inhibitor-2 in esophageal squamous cell carcinoma. Am J Pathol 2000;156:567–75.
  46. *Ji F, Chen YL, Wang WL, Yang ZL, Li MW.* Relationship between matrix metalloproteinase-1 mRNA expression and clinicopathological and urokinase-type plasminogen activator system parameters and prognosis in human gastric cancer. World J Gastroenterol 2005;11:3222–6.
  47. *Zhang L, Zhao ZS, Ru GQ, Ma J.* Correlation studies on uPA mRNA and uPAR mRNA expression with vascular endothelial growth factor, microvessel density, progression and survival time of patients with gastric cancer. World J Gastroenterol 2005;12:3970–6.
  48. *Binder BR, Mihaly J.* The plasminogen activator inhibitor »paradox« in cancer. Immunol Lett 2008;118:116–24.
  49. *Nielsen HJ, Christensen IJ, Sorensen S, Moesgard E, Brunner N.* Pre-operative plasma plasminogen activator inhibitor type-1 and serum C-reactive protein levels in patients with colorectal cancer. The TANX05 Colorectal Cancer Study Group. Ann Surg Oncol 2000;7:617–23.
  50. *Hogdall CK, Christensen IJ, Stephens RW, Sorensen-Pedersen B, Nielsen HJ.* Serum tetranectin is an independent prognostic marker in colorectal cancer and weakly correlated with plasma suPAR, plasma PAI-1 and serum CEA, APMIS 2002;110:630–8.
  51. *Tsuchiya H, Sunayama C, Matsuda E, Tomita K, Binder BR.* Plasminogen activator inhibitor-1 accelerates lung metastasis formation of human fibrosarcoma cells. Anticancer Res 1997;313–6.
  52. *Baker EA, Leaper DJK.* The plasminogen activator and matrix metalloproteinase systems in colorectal cancer: relationship to tumor pathology. Eur J Cancer 2003;39:981–8.
  53. *McCawley LJ, Matrisian LM.* Matrix metalloproteinases: They are not just for matrix anymore. Curr Opin Cell Biol 2001;13:534–40.
  54. *Mastroianni C, Liuzzi GM.* Matrix metalloproteinase dysregulation in HIV infection: Implications for therapeutic strategies. Trends Mol Med 2007;13:449–59.
  55. *Imai k, Hiramatsu A, Fukushima D, Pierschbacher MD, Okada Y.* Degradation of decorin by matrix metalloproteinases: Identification of cleavage sites, kinetic analysis and transforming growth factor-beta 1 release. Biochem J 1997;269:809–14.
  56. *Foekens JA, Peters HA, Look MP.* The urokinase system of plasminogen activation and prognosis in 2780 breast cancer patients. Cancer Res 2000;60:636–43.



## Vijesti News



HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR  
HRVATSKO DRUŠTVO ZA UROGENITALNE I SPOLNO PRENOSIVE INFEKCIJE  
*organizira*

### **3. hrvatski kongres o urogenitalnim i spolno prenosivim infekcijama s međunarodnim sudjelovanjem**

**Grand hotel 4 opatijska cvijeta, Opatija  
20.–22. svibnja 2011.**

pokrovitelj  
Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske

*Glavne teme kongresa:* Infekcije mokraćnog sustava; Infekcije genitalnog sustava žene; Prostatitis, epididimitis i orhitis; Infekcije uzrokovane humanim papilomavirusima; HIV/AIDS; Hepatitis kao spolno prenosiva bolest; Infekcije uzrokovane klamidijom trahomatis; Infekcije uzrokovane urogenitalnim mikoplazmama; Klasične spolno prenosive bolesti; Perinatalne infekcije; Sprječavanje spolno prenosivih infekcija; Bolničke urogenitalne infekcije; Imunologija urogenitalnog sustava; Reaktivni artritis; Kontracepcija; Neplodnost; Slobodne teme

*Opće informacije, registracija, hotelski smještaj, prijevoz:* ULIX putnička agencija, Miramarska 26, 10000 Zagreb; Telefon: +385 1 6410 935; Fax: +385 1 6154 092; Mob: +385 99 707 7007; +385 99 6154 321; E-mail: kongresi@ulixtravel.com

*Više o kongresu uskoro na adresi: [www.hdugi2011.com](http://www.hdugi2011.com)*