

©Borgis

*Weronika Bulska-Bedkowska, Jerzy Chudek

Markery uszkodzenia śródbłonna we wczesnym i zaawansowanym rozszewie raka piersi

Markers of endothelial dysfunction in early and advanced breast cancer dissemination

Department of Internal Diseases and Oncological Chemotherapy, School of Medicine in Katowice, Medical University of Silesia, Poland

Słowa kluczowe

rak piersi, przerzuty, śródbłonek, adhezyny, biomarkery

Keywords

breast cancer, metastasis, endothelium, adhesions, biomarkers

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów
None

Adres/address:

*Weronika Bulska-Bedkowska
Katedra i Oddział Kliniczny
Chorób Wewnętrznych
i Chemioterapii Onkologicznej
Wydział Lekarski w Katowicach
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
ul. Reymonta 8, 40-032 Katowice
tel.: +48 (32) 252-60-91

Streszczenie

Śródbłonek jest wyspecjalizowaną wyściółką naczyń krwionośnych, zbudowaną z pojedynczej warstwy płaskich komórek, które pełnią czynność transportową i parakrynną. Coraz więcej danych sugeruje, że komórki śródbłonna ogrywają ważną rolę we wzroście nowotworów i procesie powstawania przerzutów. W związku z tym, że odległe przerzuty stanowią główną przyczynę zgonów, m.in. z powodu raka piersi, poszukiwane są markery wczesnego rozszewu nowotworowego, niewykrywalnego dostępnymi metodami obrazowania, które mogłyby uzasadniać stosowanie bardziej agresywnej terapii neoadjuwantowej i adjuwantowej, jak również stanowić nowe cele terapeutyczne. Zainteresowanie onkologów wzbudziły adhezyny uczestniczące w regulacji procesów różnicowania, proliferacji, migracji i apoptozy. Spośród licznej grupy uznanych markerów uszkodzenia śródbłonna z grupy adhezyn, badania naukowe ograniczają się do E-selektyny, ICAM-1 i VCAM-1. Wzrost stężenia tych adhezyn pojawia się u chorych z rozszewem odległym komórek raka sutka. Dostępne wyniki badań wskazują na potencjalne znaczenie prognostyczne tych markerów.

Summary

Endothelium is a specialized lining of blood vessels, made up of a single layer of simple squamous cells that carry out transport and paracrine activities. The increasing number of studies suggest that endothelial cells play an indirect role in tumor growth and metastasis. Due to the fact that distant metastases are the main cause of death in breast cancer, markers of early neoplastic dissemination, undetectable by available imaging methods, are sought and that could justify the use of more aggressive neoadjuvant and adjuvant therapies, as well as might be a new potential therapeutic goals. Adhesins involved in the regulation of processes of differentiation, proliferation, migration and apoptosis raised interest among oncologists. Among a large group of recognized markers of endothelial dysfunction, mostly adhesins: E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 were studied. Increase in the concentration of these adhesins occurs in patients with distant dissemination of breast cancer cells. Available research results indicate the potential prognostic significance of these markers.

WPROWADZENIE

Śródbłonek jest wyspecjalizowaną wyściółką naczyń krwionośnych o powierzchni do 7 m², zbudowaną z pojedynczej warstwy płaskich komórek, których liczba wynosi 1-6 x 10¹³ (1, 2). Za odkrywcę śródbłonna (w XIX wieku) uznaje się Friedricha von Recklinghausena (1).

Komórki śródbłonna pełnią czynność głównie parakrynną, uczestnicząc w regulacji przepływu i ciśnie-

INTRODUCTION

Endothelium is a specialized lining of blood vessels with the area up to 7 m², made up of a single layer of 1-6 x 10¹³ simple squamous cells (1, 2). Endothelium was discovered in the 19th century by Friedrich von Recklinghausen (1).

Endothelial cells express paracrine activity and play a critical role in the regulation of blood flow, blood

nia krwi, procesów krzepnięcia, angiogenezy, reakcji zapalnej, w transporcie substancji z krwi do tkanek (1). Coraz więcej danych sugeruje, że komórki śródbłonka ogrywają pośrednią, ale ważną rolę we wzroście nowotworów i procesie powstawania przerzutów. W związku z tym, że odległe przerzuty stanowią główną przyczynę zgonów z powodu raka piersi, poszukiwane są wczesne markery rozszew nowotworowego, niewykrywalnego dostępnymi metodami obrazowania. Ponadto mogą one stanowić nowy potencjalny cel terapeutyczny. Markery uszkodzenia śródbłonka są obiecującym przedmiotem badań naukowych. Do tej kategorii należą cząsteczki adhezyjne (ang. *cell adhesion molecules* – CAM), które w warunkach fizjologicznych odpowiadają za utrzymanie ciągłości tkanek, poprzez oddziaływanie komórek pomiędzy sobą i z macierzą zewnątrzkomórkową (3). Ponadto CAM odgrywają ważną rolę w odpowiedzi immunologicznej, zwłaszcza w migracji leukocytów przez śródbłonek i rekrutacji do ognisk zapalnych. Adhezyny uczestniczą również w regulacji procesów różnicowania, proliferacji, migracji i apoptozy, stąd zaburzenia ekspresji adhezyn wzbudziły zainteresowanie onkologów (3, 4).

Cząsteczki adhezyjne fizjologicznie stanowią integralną składową błon komórkowych. Po uwolnieniu do krążenia mogą być wykrywane w formie rozpuszczalnej (ang. *soluble CAM* – sCAM) (4). Aktywacja śródbłonka przez mediatory zapalne prowadzi do wzrostu poziomu rozpuszczalnych frakcji CAM we krwi. Zwiększony poziom sCAM, obserwowany u pacjentów z rakiem, jest wynikiem nie tylko dysfunkcji śródbłonka, ale także nadprodukcji sCAM przez komórki nowotworowe, jak i odpowiedzi immunologicznej na nowotwór (3, 4).

Do markerów uszkodzenia śródbłonka z grupy adhezyn zaliczamy: E-selektynę (CD62E), P-selektynę (CD62P), cząsteczkę adhezji komórkowej naczyni 1 (VCAM-1), cząsteczkę adhezji międzykomórkowej 1 (ICAM-1), naczyniowo-śródbłonkową kadherynę (VE-kadheryna) i endoglinę (CD105). Większość prac naukowych ogranicza się do badań E-selektyny, ICAM-1 i VCAM-1. Do grupy adhezyn zalicza się także cząsteczkę adhezji komórkowej 1 (CADM-1), której ekspresję w śródbłonku po raz pierwszy wykazano kilka lat temu za pomocą metody immunofluorescencyjnej (5).

E-SELEKTYNA

E-selektyna (CD62E) jest cząsteczką adhezyjną o budowie glikoproteinowej, składającą się z domen lektynowej, EGF-podobnej, homologicznej z białkami regulującymi dopełniacz oraz fragmentów przezbłonowych i wewnątrzkomórkowego. Selektyny występują w postaci związanej z błonami cytoplazmatycznymi komórek oraz w formie rozpuszczalnej w płynach ustrojowych, pozbawionej domeny transbłonowej i wewnątrzkomórkowej. E-selektyna pełni ważną rolę w adhezji neutrofilów do aktywowanych komórek śródbłonka. Ulega ona ekspresji na komórkach śródbłonka stymulowanego przez mediatory zapalne, które są niezbędne do jej wytwarzania (4).

Pierwsze badania sugerowały, że E-selektyna może pośredniczyć w adhezji komórek rakowych do komórek

pressure, coagulation, angiogenesis, inflammatory response, and participate in the transport of substances from blood to the tissues (1). The increasing number of studies suggest that endothelial cells play an indirect, but important role in tumor growth and formation of metastases. As distant metastases are the main cause of death in patients with breast cancer, early markers of neoplastic dissemination, undetectable by available imaging techniques, are searched. They also may serve as new potential therapeutic goals. Markers of endothelial dysfunction are promising subjects of scientific research. A list of the markers includes cell adhesion molecules (CAM), which in physiological conditions are responsible for maintaining continuity of the tissue, through the interaction of cells between themselves and the extracellular matrix (3). In addition, CAM play an important role in the immune response, especially in the migration of leukocytes across the endothelium and their recruitment to inflammatory foci. As adhesins are involved in the regulation of processes of differentiation, proliferation, migration and apoptosis, they raised interest among oncologists (3, 4).

CAMs are physiologically bind to the cytoplasmic membrane. After cleavage, soluble forms can be detected in the circulation (soluble CAM, sCAM) (4). Endothelial activation by inflammatory mediators is associated with an increase in the levels of these soluble particles in the blood. Increased level of sCAM, observed in cancer patients is not only a result of endothelial dysfunction, but also their overproduction by tumor cells, as well as an immune response to the cancer (3, 4).

Markers of endothelial dysfunction belong to a group of adhesins, containing: E-selectin (CD62E), P-selectin (CD62P), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), vascular endothelial cadherin (VE-cadherin), endoglin (CD105). Most studies in oncology are limited to E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1. In addition, the group includes cell adhesion molecule 1 (CADM-1), which expression on the endothelium was demonstrated for the first time several years ago, applying immunofluorescence method (5).

E-SELECTIN

E-selectin (CD62E) is an adhesive molecule with a glycoprotein structure that consists of lectin domain, an epidermal growth factor-like domain, homological to complement control protein, transmembrane domain, and an intracellular cytoplasmic tail. The selectins exist in the form bound to cytoplasmic membrane and in a soluble form, deprived of the transmembrane and intracellular domains, circulating in the body fluids. E-selectin play an important role in neutrophil adhesion to activated endothelial cells. E-selectin is expressed on endothelial cells stimulated by inflammatory mediators, that are necessary to induce its production (4).

śródbłonna, przyczyniając się do tworzenia przerzutów odległych (6). E-selektyna została wykryta (immunohistochemicznie) na komórkach śródbłonna żylnego u pacjentek z rakiem sutka, co świadczy o jego aktywacji (7). Najnowsze badania potwierdzają hipotezę i wyjaśniają rolę E-selektyny w adhezji i migracji komórek nowotworowych poprzez interakcję z receptorem CD44 (8, 9). Aktualne badania skupiają uwagę na roli rozpuszczalnej formy E-selektyny w adhezji i transmigracji komórek raka piersi (9). Wykazano, że sE-selektyna może promować adhezję komórek raka piersi CD44+ do nieaktywowanych ludzkich komórek śródbłonna naczyniowego (ang. *human microvascular endothelial cells* – HMVEC). Takiego efektu nie stwierdzono dla linii komórek nowotworowych CD44-. W badaniach *in vitro* inkubacja komórek nowotworowych CD44+ z sE-selektyną wyzwała fosforylację kinazy FAK (ang. *focal adhesion kinase*), natomiast adhezja tych komórek do śródbłonna indukowała zwiększenie przepuszczalności błony cytoplazmatycznej śródbłonna.

Ponadto obserwowano, że stężenie sE-selektyny korelowało ze stopniem złośliwości guza, zaawansowania choroby i występowaniem przerzutów (10). Przeprowadzone badania wykazały: istotnie wyższe stężenie sE-selektyny w raku piersi w porównaniu do guzów łagodnych (10-12), korelację między stężeniem sE-selektyny i stopniem złośliwości histologicznej guza (10), stopniem zaawansowania klinicznego według klasyfikacji TNM (10, 11) – wielkością guza i zajęciem węzłów chłonnych (10), występowaniem przerzutów do wątroby (7, 13) i kości (7). Stężenie sE-selektyny zostało również postrzeżone jako potencjalny predyktor całkowitego przeżycia (13). Ponadto wykazano korelację pomiędzy stężeniem sE-selektyny (jak również innych CAM: sICAM-1, sVCAM-1) z poziomem markera Ca15-3 (11). Co ciekawe, wyższe stężenia sE-selektyny stwierdzono u kobiet z rakiem piersi niewykazującym ekspresji receptorów estrogenowych (10).

Jednak nie wszystkie badania potwierdzają zależność pomiędzy stężeniem sE-selektyny a występowaniem przerzutów raka sutka do narządów odległych. Zhang i Adachi (7) nie wykazali wzrostu sE-selektyny u kobiet z przerzutami do płuc, opłucnej, mózgu i tkanek miękkich (7). Kirwan i wsp. (14) nie obserwowali różnic w stężeniu rozpuszczalnej E-selektyny u pacjentek z wczesnym i zaawansowanym rakiem piersi. Zestawienie badań nad markerami uszkodzenia śródbłonna zawarto w tabelach 1 i 2.

Warto podkreślić, że podwyższone stężenia sE-selektyny stwierdzono także w badaniach nad innymi nowotworami złośliwymi (15, 16). Alexiou i wsp. (17) zaobserwowali spadek stężenia sE-selektyny u pacjentów poddanych radykalnej resekcji raka jelita grubego, przy utrzymującym się poziomie adhezyn po operacjach paliatywnych.

Należy podkreślić, że status menopauzalny silnie wpływa na stężenie sE-selektyny. Zdrowe kobiety przed menopauzą mają niższe stężenia niż kobiety po menopauzie (18). Fakt ten może wpłynąć na wyniki i interpretację niektórych badań naukowych w tym obszarze.

The first studies suggested that E-selectin may play a role in the adhesion of cancer cells to endothelium, contributing to the formation of distant metastases (6). E-selectin was detected (immunohistochemically) on venous endothelial cells in patients with breast cancer, that indicates endothelial activation in these patients (7). Recent studies support the hypothesis and explain the role of E-selectin in the adhesion and migration of cancer cells that is related to the interaction with CD44 receptors (8, 9). Current studies focus on the role of sE-selectin in adhesion and transmigration of breast cancer cells. It was shown, that sE-selectin may promote adhesion of CD44+ breast cancer cells to non-activated human microvascular endothelial cells (HMVEC) (9). The similar effect was not found for the CD44-tumor cell line. *In vitro*, the incubation of CD44+ cancer cells with sE-selectin triggered phosphorylation of focal adhesion kinase (FAK), while the adhesion of these cells to the endothelium induced an increase in the permeability of the cytoplasmic membrane in the endothelium.

In addition, concentration of sE-selectin was shown to correlate with breast cancer grading and staging, and the presence of metastases (10). Various studies have shown: a significantly higher concentration of sE-selectin in breast cancer in comparison to benign tumors (10-12), correlation between E-selectin concentration and tumor grading (10), TNM staging – tumor size, lymph nodes involvement (10), and the presence of liver (7, 13) and bone metastases (7). The sE-selectin concentration was also considered as a potential predictor of overall survival (13). In addition, there was a correlation between concentrations of sE-selectin (as well as: sVCAM-1, sICAM-1) and the level of tumor marker Ca 15-3 (11). Of interest, higher concentration was found in women with breast cancer without expression of estrogen receptors (10).

However, some studies did not confirm the relationship between concentration of sE-selectin and the occurrence of breast cancer metastases. Zhang and Adachi (7) did not observe the increase in sE-selectin in women with metastases to the lung, pleura, brain and soft tissue. Kirwan et al. (14) did not demonstrate any difference in serum concentration of sE-selectin in patients with early and advanced breast cancer. The list of studies concerning markers of endothelial dysfunction is given in tables 1 and 2.

It is worth noting that increased concentration of sE-selectin has also been found in studies on other malignancies (15, 16). Alexiou et al. (17) observed a decrease in the concentration of sE-selectin in patients after radical surgery of colorectal carcinoma, while a persistent level of this adhesin after palliative surgery.

It should be stressed that menopausal status strongly affects concentration of sE-selectin. Healthy premenopausal women have lower concentrations than

Tab. 1. Zestawienie badań nad markerami śródbłonna w odniesieniu do stopnia zaawansowania klinicznego raka piersi

Liczba badanych	Oznaczone markery	Kierunek zmian u chorych z przerzutami odległymi	Kierunek zmian zależny od wielkości guza pierwotnego	Kierunek zmian przy zajęciu węzłów chłonnych	Autorzy
92/31 ¹	sE-selektyna sICAM-1 sVCAM-1	↑ ↑ ↑	↑ ↔ ↔	↔ ↔ ↔	(11)
64/16 ¹	sE-selektyna	↑	↑	↑	(10)
113/42 ¹	sE-selektyna	↑	↔	↔	(13)
49 ²	sE-selektyna sICAM-1	↑ ↑	---	---	(7)
134 ²	sE-selektyna sVCAM-1	↔ ↑	--- ---	--- ---	(14)
103/40 ¹	sICAM-1 sVCAM-1	--- ---	↑ ↑	↑ ↑	(23)
26 ²	sICAM-1	---	↔	↑	(26)
51 ²	sICAM-1	↑	↑	↔	(24)
88 ²	sICAM-1	↑	↔	↔	(25)
95 ²	sE-selektyna sICAM-1 sVCAM-1	↔ ↔ ↑	--- --- ---	--- --- ---	(28)

¹grupa pacjentek z rakiem piersi/grupa kontrolna

²grupa pacjentek z rakiem piersi bez grupy kontrolnej

↑ wzrost stężenia markerów

↔ brak zmian stężenia markerów

--- cecha niebadana

Tab. 1. Markers of endothelial dysfunction in relation to the stage of breast cancer

Size of the study group	Markers	Direction of changes in patients with distant metastases	Direction of changes in relation to tumor size	Direction of changes in relation to involvement lymph node	Authors
92/31 ¹	sE-selectin sICAM-1 sVCAM-1	↑ ↑ ↑	↑ ↔ ↔	↔ ↔ ↔	(11)
64/16 ¹	sE-selectin	↑	↑	↑	(10)
113/42 ¹	sE-selectin	↑	↔	↔	(13)
49 ²	sE-selectin sICAM-1	↑ ↑	---	---	(7)
134 ²	sE-selectin sVCAM-1	↔ ↑	--- ---	--- ---	(14)
103/40 ¹	sICAM-1 sVCAM-1	--- ---	↑ ↑	↑ ↑	(23)
26 ²	sICAM-1	---	↔	↑	(26)
51 ²	sICAM-1	↑	↑	↔	(24)
88 ²	sICAM-1	↑	↔	↔	(25)
95 ²	sE-selectin sICAM-1 sVCAM-1	↔ ↔ ↑	--- --- ---	--- --- ---	(28)

¹group of patients with breast cancer/healthy control group

²only group of patients with breast cancer, without control group

↑ increase in the concentration of marker

↔ no changes in the concentration of marker

--- no data

Tab. 2. Zestawienie badań nad markerami śródbłonna w odniesieniu do stopnia złośliwości histologicznej raka piersi

Liczba badanych	Oznaczone markery	Kierunek zmian w odniesieniu do stopnia złośliwości histologicznej	Autorzy
92/31 ¹	sE-selektyna sICAM-1 sVCAM-1	↔ ↔ ↑	(11)
64/16 ¹	sE-selektyna	↑	(10)
103/40 ¹	sICAM-1 sVCAM-1	↑ ↑	(23)
26 ²	sICAM-1	↔	(24)
51 ²	sICAM-1	↔	(25)

¹grupa pacjentek z rakiem piersi/grupa kontrolna

²grupa pacjentek z rakiem piersi bez grupy kontrolnej

↑ wzrost stężenia markerów

↔ brak zmian stężenia markerów

Tab. 2. Markers of endothelial dysfunction in relation to the grade of breast cancer

Size of the study group	Markers	Direction of changes in relation to grading	Authors
92/31 ¹	sE-selectin sICAM-1 sVCAM-1	↔ ↔ ↑	(11)
64/16 ¹	sE-selectin	↑	(10)
103/40 ¹	sICAM-1 sVCAM-1	↑ ↑	(23)
26 ²	sICAM-1	↔	(24)
51 ²	sICAM-1	↔	(25)

¹group of patients with breast cancer/healthy control group

²only group of patients with breast cancer, without control group

↑ increase in the concentration of marker

↔ no changes in the concentration of marker

ICAM-1

ICAM-1 (CD54) jest glikoproteiną o masie cząsteczkowej 90 kDa, należąca do adhezyn o budowie zbliżonej do immunoglobulin. Adhezyna ta znajduje się przede wszystkim na powierzchni śródbłonna i komórkach układu odpornościowego. Do jej ekspresji dochodzi w wyniku pobudzenia przez endotoksyny i cytokiny (TNF- α , IL-1, INF- γ). Najwyższą gęstość błonową osiąga po 2 godz. od ekspozycji na cytokiny. Ekspresja utrzymuje się do 24 godz. od zaniku stymulacji (19). ICAM-1 jest ligandem dla integryny LFA-1 (ang. *lymphocyte function-associated antigen 1*), receptora zlokalizowanego na leukocytach (20).

ICAM-1 odgrywa ważną rolę w odpowiedzi immunologicznej, ale także w rozwoju wielu typów nowotworów złośliwych. ICAM-1 ulega ekspresji na powierzchni komórek nowotworowych, ale nie na prawidłowych komórkach nabłonkowych (7). Ta obserwacja sugeruje, że ICAM-1 może przyczyniać się do progresji raka piersi. Hipotezę potwierdzają badania nad innymi nowotworami złośliwymi. Santarosa i wsp. (21) wykazują korelację między ekspresją ICAM-1 a nawrotem raka nerki. Usami i wsp. (22) zaobserwowali zwiększoną ekspresję ICAM-1 u pacjentów z progresją raka płaskonabłonkowego języka.

Rola ICAM-1 w progresji choroby nowotworowej jest wielokierunkowa. ICAM-1 jest czynnikiem proangiogennym odpowiedzialnym za proces unaczynienia guza (23). Prawdopodobnie ICAM-1 synergistycznie z E-selektyną odgrywa rolę w powstawaniu przerzutów poprzez zwiększenie adhezji komórek nowotworowych do śródbłonna. W badaniach *in vitro* zablokowanie ICAM-1 na HMVEC zmniejsza zależną od sE-selektyny adhezję komórek nowotworowych (9).

W badaniach *in vivo*, ze względu na dostępność materiału biologicznego, oznacza się zwykle stężenie rozpuszczalnej formy ICAM-1 (sICAM-1). W kilku ostatnich badaniach obserwowano wzrost stężenia sICAM-1 wraz ze stopniem zaawansowania raka piersi według klasyfikacji TNM: w tym wielkością guza, zajęciem węzłów chłonnych i obecnością przerzutów odległych (11, 24-26). Wykazano wyższe stężenie sICAM-1 u pacjentek z przerzutami do wątroby i kości niż u kobiet z wczesnym rakiem piersi. Ponadto wyższe wartości sICAM-1 stwierdzono u pacjentek z przerzutami do kilku narządów (7). Z kolei O'Hanlon i wsp. (11) wykazali, że wzrost stężenia sICAM-1 nie jest związany z lokalizacją przerzutów odległych w zaawansowanym raku piersi. W przeciwieństwie do poprzednich badań, Haghi i wsp. (24) nie wykazali korelacji pomiędzy poziomem sICAM-1 a stopniem zaawansowania klinicznego i stopniem złośliwości histologicznej w raku piersi. W tym badaniu tylko naciekanie naczyń limfatycznych wiązało się z podwyższonym stężeniem sICAM-1.

Warto zauważyć, że Kostler i wsp. (25) zaobserwowali dodatnią korelację między poziomem sICAM-1 a mianem CEA, a także Ca 15-3 (niespecyficzny marker raka piersi).

W interpretacji wyników badań należy uwzględnić zależność stężenia sICAM-1 od wieku, poziomu

post-menopausal once (18). This fact may bias the results, and their interpretation of some scientific reports in this area.

INTERCELLULAR ADHESION MOLECULE 1 (ICAM-1)

ICAM-1 (CD54) is a glycoprotein with a molecular weight estimated to 90, a member of the immunoglobulin superfamily. This adhesion molecule is located primarily on the surface of the endothelium and cells of the immune system. ICAM-1 expression is induced by endotoxins and cytokines (TNF- α , Interleukin-1, INF- γ). The highest membrane density of ICAM-1 is observed 2 hours after exposition to cytokines. The expression is maintained during 24 hours after stimulation (19). ICAM-1 is a ligand for LFA-1 integrin – a receptor located on leukocytes (20).

ICAM-1 plays an important role in the immune response, as well as in the development of numerous types of malignancies. ICAM-1 is expressed on the surface of cancer cells, but not on normal epithelial cells (7). This observation suggests that ICAM-1 may contribute to the progression of breast cancer. The hypothesis is supported by scientific research on other malignancies. Santarosa et al. (21) demonstrated a correlation between expression of ICAM-1 and recurrence of renal cell cancer. Furthermore, Usami et al. (22) observed increased expression of ICAM-1 in patients with progression of squamous cell carcinoma of the tongue.

The role of ICAM-1 in the progression of cancer is multidirectional. ICAM-1 is one of proangiogenic factor that induces tumor vascularization (23). ICAM-1 probably plays a role in the formation of metastases synergistically with E-selectin, by promoting cancer cells adhesion to the endothelium. *In vitro* inhibition of ICAM-1 on HMVECs reduced sE-selectin-dependent adhesion of cancer cells (9).

In the *in vivo* experiments, soluble form of ICAM-1 (sICAM-1) is usually studied due to the accessibility of biological material. Several recent studies have shown an increase in sICAM-1 concentration along with breast cancer staging – TNM (23): tumor size, lymph nodes involvement and the presence of distant metastases (11, 24-26). Significantly increased concentrations of sICAM-1 have been found in women with metastases to the liver/bone in comparison to women with early breast cancer. In addition, higher sICAM-1 values were observed in women with metastases to several organs than with metastases to one location (7). O'Hanlon et al. (11) demonstrated that the increase in sICAM-1 is not related to location of metastases in the advanced breast cancer. Contrary to the previous results, Haghi et al. (24) did not show any correlation between sICAM-1 and TNM staging and grading of the disease. In the study, only infiltration of lymphatic vessels by breast cancer cells was associated with an elevated concentration of sICAM-1.

TPS (tkankowy swoisty antygen polipeptydowy) i stężenia CRP (11). Czynniki te mogą częściowo tłumaczyć rozbieżność uzyskanych wyników badań.

Badania powyższych autorów różnią się, ale potwierdzają rolę sICAM-1 w progresji raka piersi, prawdopodobnie już na wczesnym etapie choroby – tworzeniu przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych (tab. 1). Dlatego można przypuszczać, że sICAM-1 jest potencjalnym markerem wczesnego rozsiewu – mikroprzerzutów nieuchwytnych w dostępnych badaniach obrazowych, a nawet może stać się potencjalnym celem terapeutycznym.

VCAM-1

VCAM-1 (CD106) znana jako cząsteczka adhezji komórkowej naczyń jest glikoproteiną, która należy do nadrodziny immunoglobulin. Adhezyna została odkryta w 1989 roku przez dwa niezależne zespoły badawcze. Ekspresja VCAM-1 jest stymulowana przez cytokiny, wysokie stężenie glukozy, reaktywne formy tlenu, oksydowane LDL (oxLDL). Ulega ekspresji przede wszystkim na komórkach śródbłonnkach, ale też na komórkach dendrytycznych, makrofagach w śledzionie i grasicy oraz komórkach Kupffera-Browicza w wątrobie (3, 27). VCAM-1 jest ligandem dla VLA-4 (ang. *very late antygen-4*), który stanowi receptor na błonie plazmatycznej leukocytów (27).

Pierwsze odkrycie związku VCAM-1 z komórkami nowotworowymi dotyczyło czerniaka (27). Ze względu na agresywny przebieg *melanoma* podejrzewano, że VCAM-1 może odgrywać rolę w rozprzestrzenianiu się przerzutów. Stąd liczne badania w onkologii nad znaczeniem ekspresji VCAM-1 w tkankach nowotworowych i rozpuszczalnej formie tej adhezyny w osoczu/surowicy.

Liczne nowotwory, w tym: rak nerki, żołądka, piersi, wykazują nasiloną ekspresję VCAM-1. Jednak ekspresja VCAM-1 na komórkach raka piersi nie prowadzi do ich adhezji do śródbłonna, inwazji i migracji międzyśródbłonkowej. Zamiast tego VCAM-1 umożliwia komórkom nowotworowym silną adhezję i interakcję z integriną VLA-4 na monocytach i makrofagach, które gromadzą się w tkance płucnej i odpowiadają za powstawanie przerzutów nowotworowych w płucach. Ponadto monocyty i makrofagi naciekające tkankę nowotworową zapewniają tolerancję immunologicznych dla komórek guza. Podobnie rola VCAM-1 na komórkach raka piersi w przerzutowaniu do kości wynika z interakcji z integriną VLA-4 na preosteoklastach. Ta interakcja prowadzi do różnicowania się prekursorów w dojrzałe, wielojądrzaste osteoklasty, które niszczą macierz kostną. VCAM-1 jest więc czynnikiem inicjującym tworzenie osteolitycznych przerzutów nowotworowych (27).

U części pacjentów z przerzutami można stwierdzić podwyższony poziom rozpuszczalnej formy VCAM-1 (sVCAM-1). Prawdopodobnie przyczyną zwiększonego stężenia sVCAM-1 jest uwalnianie tej adhezyny przez komórki szybko rosnących guzów (28), jednak proporcja VCAM-1 pochodzenia śródbłonkowego i nowotworowego nie jest znana.

It is worth noting that Kostler et al. (25) observed a positive correlation between the levels of sICAM-1 and CEA, as well as Ca 15-3 (non-specific marker of breast cancer).

The relation of sICAM-1 to age, levels of tissue specific polypeptide antigen (TPS), concentration of CRP should be taken under considered in the interpretation of the results (11). These factors may partly explain the discrepancies in the results of published scientific studies.

The results of the above-mentioned studies are diverse, but confirm the role of sICAM-1 in the progression of breast cancer, probably at an early stage – formation of metastasis in the regional lymph nodes (tab. 1). Therefore, it can be assumed that sICAM-1 is a potential marker of early dissemination – presence of undetectable by available imaging technics micrometastases, and even may become a potential new therapeutic goal.

VASCULAR CELL ADHESION MOLECULE 1 (VCAM-1)

VCAM-1 (CD106), known as vascular cell adhesion molecule 1 is glycoprotein, which belongs to immunoglobulin superfamily. It was discovered in 1989 by two independent research teams. The expression of VCAM-1 is stimulated by cytokines, high glucose concentration, reactive oxygen species, and oxidized low density lipoproteins. It is expressed primarily on endothelial cells, but also on dendritic cells, macrophages in the spleen and thymus, as well as Kupffer-Browicz cells in the liver (3, 27). VCAM-1 is a ligand for Very Late Antigen-4 (VLA-4), which is a receptor of the plasma membrane of leukocytes (27).

The association between VCAM-1 and cancer cells was first discovered in studies on the melanoma cells (27). Due to an aggressive course of melanoma, it was suspected that VCAM-1 may play a role in the metastatic spread. Increased VCAM-1 expression in tumor tissues and its soluble form in plasma/serum raised the interest among oncologists.

Numerous cancers, including renal cell carcinoma, gastric, and breast cancer, show VCAM-1 overexpression. However, the overexpression of VCAM-1 on breast cancer cells did not increase their adhesion to endothelium, settlement and extravasation. Instead of that, VCAM-1 by interaction with the integrin VLA-4, enhances tumor cells adhesion to monocytes and macrophages, and their deposition in the lung tissue, contributing to the formation of metastases. In addition, tumor infiltrating monocytes and macrophages may induce immune tolerance to cancer antigens. Similarly, the interaction between VCAM-1 overexpressed on breast cancer cells with the VLA-4 integrin on preosteoclasts predispose for the formation of bone metastases. This interaction stimulates differentiation of osteoclast precursors into mature, multinucleated osteoclasts that destroy the bone matrix. Therefore, VCAM-1 overexpression

Badania nad sVCAM-1 w raku sutka są nieliczne. Kirwan i wsp. (14) wykazali wyższe stężenie rozpuszczalnej formy VCAM-1 u pacjentek z zaawansowanym rakiem piersi niż u tych z wczesnym stadium choroby. Ponadto O'Hanlon i wsp. (11) wykazali znaczący wzrost stężenia sVCAM-1 w przerzutowym raku piersi, bez wpływu wielkości guza i zajęcia regionalnych węzłów chłonnych na stężenie sVCAM-1. Z kolei badania Thielemann i wsp. (23) pokazują zależność pomiędzy stężeniem sVCAM-1 i stopniem zaawansowania klinicznego według TNM: w tym wielkością guza i obecnością przerzutów w węzłach chłonnych pachowych.

Również Bewick i wsp. (28) potwierdzają związek występowania przerzutów w węzłach chłonnych z wyższym stężeniem sVCAM-1. Podobne rozbieżności w wynikach przeprowadzonych badań przez różnych autorów były zauważalne także w oznaczeniach sICAM-1. W chorobie uogólnionej grupy badawcze potwierdzają podwyższone stężenie adhezyn, jednak we wcześniejszych stadiach choroby wyniki są przeciwstawne. Ponadto stężenia sVCAM-1 korelują z mianem markerem Ca 15-3, jak również stężeniem sICAM-1 (11).

Obserwowano także zależność pomiędzy stopniem złośliwości histologicznej raka piersi a stężeniem sVCAM-1 (11). Wyższe poziomy adhezyn u pacjentek z rakiem piersi z cechą G3 mogą wynikać z występowania mikroprzerzutów, jednak jest to wyłącznie hipoteza wymagająca potwierdzenia.

Chociaż wyniki badań nie są jednoznaczne (tab. 1), wydaje się, że sVCAM-1 może odgrywać rolę w powstawaniu przerzutów raka piersi. Mechanizm jest słabo poznany, a wysunięta hipoteza, wymagająca potwierdzenia, przypisuje sCAM znaczenie w naciekaniu tkanki guza limfocytami cytotoksycznymi, które pomagają komórkom nowotworowym uniknąć rozpoznania przez układ immunologiczny gospodarza i w ten sposób przyczyniają się do przerzutowania do różnych narządów (28).

Cytowane badania sugerują, że stężenie sVCAM-1 może być uznawane za potencjalny czynnik rokowniczy i stanowić cel terapeutyczny. Formułowanie ostatecznych wniosków jest jednak przedwczesne.

CADM-1

CADM-1 (ang. *cell adhesion molecule 1*) to cząsteczka adhezji komórkowej o budowie zbliżonej do immunoglobulin. Odgrywa rolę w adhezji komórek poprzez wiązania homofilne i heterofilne. CADM-1 wykazuje ekspresję na mastocystach, neurycach oraz na śródbłonku żylnym (po raz pierwszy ekspresję wykazano w 2009 roku za pomocą immunofluorescencji). Sugeruje się, że rolą CADM-1 jest utrzymanie bariery śródbłonkowej. Ponadto CADM-1 pełni różnorodne funkcje od spermatogenezy (uczestnicząc w adhezji spermatogonii do komórek Sertolego), zakrzepicy (synergizm z układem APC), po proces nowotworzenia (rak płuca, białaczki T komórkowej ATL) (5, 29).

Gen *CADM-1* odgrywa rolę genu supresorowego w ludzkim niedrobnokomórkowym raku płuc, stąd inna

is considered as a triggering factor in the formation of osteolytic bone metastases (27).

Increased level of soluble form of VCAM-1 (sVCAM-1) was demonstrated in some patients metastatic breast cancers. Probably, it is caused by an increased release of this adhesin by the cells of the rapidly growing tumors (28). However, the ratio of endothelial and tumor origin sVCAM-1 is unknown.

There are only few published studies on sVCAM-1 in breast cancer. Kirwan et al. (14) showed increased concentration in sVCAM-1 in patients with advanced breast cancer than those with early stage of the disease. In addition, O'Hanlon et al. (11) demonstrated statistically significant increase in the concentration of sVCAM-1 only in women with metastatic breast cancer, but without influence of tumor size and lymph node involvement on the levels. In turn, Thielemann et al. (23) found a relationship between concentration of sVCAM-1 and TNM staging: tumor size and the presence of metastases in axillary lymph nodes. Bewick et al. (28) also confirmed the association between regional lymph node involvement and higher sVCAM-1 concentration. Similar discrepancies in the results were related to sICAM-1. According to the literature, the increased concentration of adhesins occurs in generalized breast cancer, however, the results in the early breast cancer are opposite. In addition, sVCAM-1 concentrations correlate with Ca 15-3 levels as well as with sICAM-1 (11).

The relationship between grading of breast cancer and sVCAM-1 concentration was also demonstrated (11). Higher levels of adhesins in patients with grade 3 breast cancer may be due to the presence of micrometastases, but this is only a hypothesis requiring confirmation.

Although the results are not unequivocal (tab. 1), it seems that sVCAM-1 may play a role in the formation of breast cancer metastasis. Some aspects of this mechanism are poorly understood, and the hypothesis concerning significance of sCAM in the formation of infiltration of tumor tissue by cytotoxic lymphocytes, which help cancer cells to avoid being recognized by the host's immune system and thus contribute to metastasing, require confirmation (28).

The cited studies suggest that concentration of sVCAM-1 may be considered as a potential prognostic factor, and may be a therapeutic goal. However, the formulating final conclusions is premature.

CELL ADHESION MOLECULE 1 (CADM-1)

CADM-1 (cell adhesion molecule 1) is an adhesion molecule with immunoglobulin-like structure. It plays a role in intracellular adhesion through homophilic and heterophilic binding. The expression of CADM-1 was shown on mastocytes, neurons, and venous endothelium (in 2009 using immunofluorescence method). It is suggested that the main role of CADM-1 is to maintain an endothelial barrier function. In addition, CADM-1 plays a role in spermatogenesis (participating in the adhesion of spermatogonia to Sertoli cells), thrombo-

nazwa: *TSCL1* (ang. *tumor suppression in lung cancer 1*). Utrata ekspresji *CADM-1* może przyczyniać się także do rozwoju innych nowotworów litych. W raku sutka utrata ekspresji białka *CADM-1* ma związek z zaawansowaniem choroby, zajęciem węzłów chłonnych, wielkością guza pierwotnego oraz krótszym całkowitym czasem przeżycia. Wikman i wsp. raportują, że utrata białka *CADM-1* u pacjentek z rakiem sutka jest niezależnym czynnikiem ryzyka przerzutów do mózgu (30). Przypuszcza się, że zwiększone ryzyko przerzutowania jest wynikiem zaburzonej przepuszczalności bariery śródbłonkowej.

Obecnie brak jest danych dotyczących ewentualnego zastosowania *CADM-1* w formie rozpuszczalnej w badaniach klinicznych.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzone dotychczas badania wskazują na synergistyczną rolę E-selektyny, VCAM-1, ICAM-1 w powstawaniu rozsiewu nowotworowego. Jednak dokładne mechanizmy zależne od adhezyn są słabo poznane. Nie wiadomo, czy podwyższone stężenie form rozpuszczalnych jest efektem powstania przerzutów, czy dopiero wyprzedza proces ich powstania. Ograniczona czułość wykrywania wczesnego rozsiewu nowotworowego przy stosowaniu współczesnych metod obrazowania utrudnia interpretację badań obserwacyjnych, zwłaszcza o charakterze przekrojowym.

sis (synergizm with activated protein C), and cancerogenesis (lung cancer, adult T-cell leukemia) (5, 29).

The *CADM-1* play a role of tumor-suppressor gene in human non-small cell lung cancer, hence known as *TSCL1* (tumor suppressor in lung cancer 1). The loss of *CADM-1* expression may also contribute to the development of other solid tumors. In breast cancer, the loss of *CADM-1* expression is related to the cancer stage, tumor size, involvement of lymph nodes, and a shorter overall survival. Wikman et al. (30) reported that the loss of *CADM-1* expression is an independent risk factor for the development of brain metastases in patients with breast cancer. It is speculated that the increased risk of metastasis is due to the impaired endothelial barrier permeability. So far, there is no data on the assessment of s*CADM-1* in clinical trials.

CONCLUSIONS

The recent studies suggest an important, synergistic role of E-selectin, VCAM-1, ICAM-1 in the formation of neoplastic dissemination. However, the precise mechanisms are not well understood. It is not known whether the increased concentration of soluble CAM is the result of metastasis formation, or exists far ahead, and predisposes to their formation. The limited sensitivity of modern imaging techniques for the detection of early neoplastic dissemination does not allow for a reliable interpretation of observational, especially cross-sectional studies.

PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

1. Tomczyk M, Nowak W, Jaźwa A: Śródbłonek w fizjologii i patogenezie chorób. *Post Bioch* 2013; 59: 357-364.
2. Obońska K, Grąbczewska Z, Fisz J: Ocena czynności śródbłonna naczyniowego – gdzie jesteśmy, dokąd zmierzamy? *Folia Cardiologica Excerpta* 2010; 5: 292-297.
3. Kwiatkowski P, Godlewski P, Śliwińska-Jewsiewiecka A, Kmieć Z: Cząsteczki adhezyjne w procesie nowotworzenia i przerzutowania. *Pol Ann Med* 2009; 16: 128-137.
4. Żerdziński M, Rychlik M, Partyka R: The selectins role in the development of inflammatory response. *Diagn Lab* 2012; 48: 347-351.
5. Hasstedt SJ, Bezemer ID, Callas PW et al.: Cell adhesion molecule1: a novel risk factor for venous thrombosis. *Blood* 2009; 114: 3084-3091.
6. Tozeren A, Kleinman HK, Grant DS et al.: E-selectin-mediated dynamic interactions of breast- and colon-cancer cells with endothelial-cell monolayers. *Int J Cancer* 1995; 60: 426-431.
7. Zhang GJ, Adachi I: Serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in metastatic breast carcinoma: correlations with clinicopathological features and prognosis. *Int J Oncol* 1999; 14: 71-77.
8. Kang SA, Hasan N, Mann AP et al.: Blocking the Adhesion Cascade at the Pre-metastatic Niche for Prevention of Breast Cancer Metastasis. *Mol Ther* 2015; 23: 1044-1054.
9. Kang SA, Blache CA, Bajana S et al.: The effect of soluble E-selectin on tumor progression and metastasis. *BMC Cancer* 2016; 16: 331.
10. Sheen-Chen SM, Eng HL, Huang CC, Chen WJ: Serum levels of soluble E-selectin in women with breast cancer. *Br J Surg* 2004; 91: 1578-1581.
11. O'Hanlon DM, Fitzsimons H, Lynch J et al.: Soluble adhesion molecules (E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1) in breast carcinoma. *Eur J Cancer* 2002; 38: 2252-2257.
12. Ragab HM, Afify M, Samy N et al.: Evaluation of serum soluble E-selectin in breast cancer. *J Appl Pharm Sci* 2017; 7: 57-61.
13. Hebbar M, Revillion F, Louchez MM et al.: The relationship between concentrations of circulating soluble E-selectin and clinical, pathological, and biological feature in patients with breast cancer. *Clin Cancer Res* 1998; 4: 373-380.
14. Kirwan CC, McCollum CN, McDowell G, Byrne GJ: Investigation of proposed mechanisms of chemotherapy-induced venous thromboembolism: endothelial cell activation and procoagulant release due to apoptosis. *Clin Appl Thromb Hemost* 2015; 21: 420-427.
15. Korniluk A, Kamińska J, Kiszło P et al.: Lectin adhesion proteins (P-, L- and E-selectins) as biomarkers in colorectal cancer. *Biomarkers* 2017; 22: 629-634.
16. Zhou F, Chen J, Tao G et al.: Increased levels of exhaled sICAM-1, sVCAM-1, and s-E-selectin in patients with non-small cell lung cancer. *Respir Med* 2014; 108: 1670-1676.

17. Alexiou D, Karayiannakis AJ, Syrigos KN: Serum levels of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 in colorectal cancer patients: correlations with clinicopathological features, patient survival and tumour surgery. *Eur J Cancer* 2001; 37: 2392-2397.
18. Roldán V, Marín F, Lip GY, Blann AD: Soluble E-selectin in cardiovascular disease and its risk factors. A review of the literature. *Thromb Haemost* 2003; 90: 1007-1020.
19. Levy JH, Tanaka KA: Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2003; 75: 715-720.
20. Reina M, Espel E: Role of LFA-1 and ICAM-1 in cancer. *Cancers (Basel)* 2017; 1: 153.
21. Santarosa M, Favaro D, Quaia M et al.: Expression and release of intercellular adhesion molecule-1 in renal-cancer patients. *Int J Cancer* 1995; 62: 271-275.
22. Usami Y, Ishida K, Sato S et al.: Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression correlates with oral cancer progression and induces macrophage/cancer cell adhesion. *Int J Cancer* 2013; 133: 568-578.
23. Thielemann A, Baszczuk A, Kopczyński Z et al.: The clinical usefulness of assessing the concentration of cell adhesion molecules sVCAM-1 and sICAM-1 in the serum of women with primary breast cancer. *Contemp Oncol* 2014; 18: 252-259.
24. Haghi AR, Vahedi A, Shekarchi AA, Kamran A: Correlation of serum intercellular adhesion molecule 1 and vascular endothelial growth factor with tumor grading and staging in breast cancer patients. *J Cancer Res Ther* 2017; 13: 257-261.
25. Kostler WJ, Tomek S, Brodowicz T et al.: Soluble ICAM-1 in breast cancer: clinical significance and biological implications. *Cancer Immunol Immunother* 2001; 50: 483-490.
26. Mills PJ, Parker B, Jones V et al.: The effects of standard anthracycline-based chemotherapy on soluble ICAM-1 and vascular endothelial growth factor levels in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4998-5003.
27. Schlesinger M, Bendas G: Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) an increasing insight into its role in tumorigenicity and metastasis. *Int J Cancer* 2015; 136: 2504-2014.
28. Bewick M, Conlon M, Lee H et al.: Evaluation of sICAM-1, sVCAM-1, and sE-selectin levels in patients with metastatic breast cancer receiving high-dose chemotherapy. *Stem Cells Dev* 2004; 13: 281-294.
29. Tatsumi K, Taatjes DJ, Wadsworth MP et al.: Cell adhesion molecule 1 (CADM-1) is ubiquitously present in the endothelium and smooth muscle cells of the human macro- and micro-vasculature. *Histochem Cell Biol* 2012; 138: 815-820.
30. Wikman H, Westphal L, Schmid F et al.: Loss of CADM-1 expression is associated with poor diagnosis and brain metastasis in breast cancer patients. *Oncotarget* 2014; 5: 3076-3087.

otrzymano/received:
zaakceptowano/accepted: