

Množství, aktivita a genetický polymorfismus Pro197Leu glutation peroxidázy u spinocelulárního karcinomu hlavy a krku – předběžné výsledky.

Salzman R.¹, Pácal L.², Kaňková K.², Tomandl J.³, Horáková Z.¹, Kostřica R.¹

1) *Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku FN u sv. Anny v Brně a LF Masarykovy Univerzity, Brno,*

2) *Ústav patologické fyziologie*

3) *Biochemický ústav Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, přednosta: prof. MUDr. R. Kostřica, CSc.*

Adresa pro korespondenci: MUDr. Richard Salzman, Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku, FN u sv. Anny, Pekařská 53, Brno

V posledních letech je pořád lépe dokládána úloha oxidativního stresu v kancerogenezi. Cílem výzkumu bylo posoudit vztah mezi jednotlivými genetickými variantami genetického polymorfizmu Pro197Leu pro glutation peroxidázu 1 (GPx), její aktivitou a množstvím, dále hladinami parametrů oxidativního stresu a onkologickou charakteristikou pacientů se spinocelulárními karcinomy hlavy a krku.

Do prospektivní studie bylo zahrnuto 88 pacientů (78 mužů, 10 žen, průměrný věk 59,038.79 roku), kteří prodělali chirurgickou léčbu pro spinocelulární karcinom hlavy a krku na Klinice otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku FN u sv. Anny v Brně od července 2004 do ledna 2006. V periferní krvi odebrané časně pooperačně po chirurgické resekci nádoru byl stanovován malondialdehyd (MDA) jako marker lipidové peroxidace metodou kapalinové chromatografie dle Khoschsorura, tumor nekrosis faktor alfa (TNF) ELISA komerčním kitem firmy R&D System, množství GPx v plazmě (p-GPx) komerčním kitem firmy Merck Biosciences (Calbiochem) a dále aktivita GPx v erytrocytech (ery-GPx) komerčním kitem firmy Cayman Chemical Company. Navíc jsme stanovovali aktivitu GPx i v alveolárních makrofázách (AM-GPx) obdobným postupem jako v erytrocytech. Stanovování genotypů polymorfizmu Pro197Leu pro glutation peroxidázu 1 bylo provedeno polymerázovou řetězovou reakcí následovanou štěpením amplikonu restriční endonukleázou podle metody popsané Hu a Diamondem. Hardy-Weinbergova rovnováha a testování rozdílu významnosti ve frekvencích genotypů resp. alelických frekvencích bylo provedeno 2 testy a Fisher-exact testem. K porovnání ostatních proměnných byly použity běžné neparametrické testy (Mannův-Whitney, Kruskal-Wallis ANOVA a Spearmanovy korelační koeficienty). Ke srovnání délky bezpříznakového intervalu v závislosti na genotypu jsme použili Kaplan-Meierovu analýzu přežívání a log-rank test. Hladinu $P < 0.05$ jsme považovali za statisticky signifikantní.

Alelické frekvence GPx byly 62,2% pro prolin a 37,8% pro leucin. Frekvence genotypů byly v souladu s Hardy-Weinbergovou rovnováhou ($p > 0,05$, χ^2 test). V našem souboru jsme neprokázali souvislost mezi jednotlivými genetickými variantami a TNM klasifikací.

Nižší hladinu p-GPx jsme našli u genetické varianty Leu/Leu než u wild-type homozygota a heterozygota ($p = 0,03$, Pro/Pro+Pro/Leu vs Leu/Leu, Mann-Whitney). Obrácený vztah jsme prokázali u AM-GPx, které vyšší aktivity jsme našli u heterozygota a homozygota Leu/Leu ($p = 0,04$, Pro/Pro vs Pro/Leu, Mann-Whitney). Podobnou tendenci i když bez statistické významnosti jsme naměřili i u MDA.

Při srovnávání TNM klasifikace s parametry oxidativního stresu jsme zjistili, že pacienti s T1-2 mají vyšší aktivitu ery-GPx než pacienti s pokročilými nádory ($p = 0,03$, Mann-Whitney). Diferenciace nádorů negativně korelovala s p-GPx ($p = 0,02$), MDA ($p = 0,05$) a pozitivně korelovala s AM-GPx ($p = 0,001$) a hraničně s GPx ery (0,12, vše Spearman).

Z celého souboru 4 pacienti nedosáhli kompletní remisi (CR). Ze zbývajících 84 pacientů se projevila recidiva do 24 měsíců po operaci u 14 pacientů a 70 dalších zůstalo v CR. Zvýšenou hladinu MDA jsme našli u pacientů, u kterých se projevila recidiva nádorového onemocnění ($p = 0,01$, Mann-Whitney). Pacienti s MDA měřeným v perioperačním období může predikovat recidivu nádoru. Pacient s $MDA < \text{medián}$ má 6krát vyšší riziko výskytu recidivy než pacient s $MDA \leq \text{medián}$ ($p = 0,007$, Fisher exact test). Obdobný rozdíl je i v délce bezpříznakového intervalu ($p = 0,10$, Log rank test).

Závěr naší práce v souladu s množícím se dalšími pracemi doplňuje důkazy o úloze oxidativního stresu v problematice nádorů hlavy a krku. Praktický přínos po potvrzení našich výsledků na větším souboru může mít korelace aktivity GPx s diferenciací a zejména význam MDA jako markeru oxidativního stresu v buňce pro predikci recidivujícího průběhu spinocelulárního karcinomu hlavy a krku.

Práce byla podpořena granty IGA MZ ČR NR/7996-3 a NR/9200-3.