

D-vitamin szupplementáció jelentősége a szervezet redox-homeosztázisára prosztatarákos betegekben

**Szabó Gergő¹, Kleiner Dénes¹, Windisch Vivien¹, Varga Imre²,
Blázovics Anna¹**

*Semmelweis Egyetem Farmakognóziai Intézet¹, Budapest,
Dunakeszi Szakorvosi Rendelő Intézet²*

A prosztatarák incidenciája

A prosztata adenocarcinómája a vezető halálokok közé tartozik hazánkban is.

Évente 3000 újonnan diagnosztizált rákos betegből 1000 férfit veszünk el egy 2012-es statisztikai felmérés szerint.

A prognosztikus faktorok közül a PSA és a szövettani kép során talált Gleason score segítenek a rák viselkedésének megítélésében, de jelenleg nincs optimális faktor a betegség prognózisának definiálására.

Célkitűzés

Az utóbbi évek kutatási eredményei alapján bizonyítást nyert a genetikai determináltság és a káros környezeti tényezők mellett a szervezet D-vitamin hiányának jelentősége.

Az irodalmi adatok értékelése alapján a D-vitamin pótlása a hagyományos kezelési protokollba beépült, ezért kutatásaink célja a Dunakeszi Szakorvosi Rendelőintézetben kezelt prosztatatarákos betegek redoxi státuszának tanulmányozása volt D-vitamin szupplementációban részesülő betegek esetében.

Betegcsoportok

A vizsgálatokba 22 beteget vontunk be, átlag életkor $70 \pm 8,5$ év volt. A szövettanilag igazolt prosztatatarákos betegek (N=9) mellett feltételezett beteg (N=9), illetve 4 nem rákos, egyéb betegségben szenvedő korban illesztett önkéntes kontrollegyén redoxi paramétereit (plazma és erythrocyta RLU%, redukálóképesség, szabad SH-csoport koncentráció) határoztuk meg a rutinlaboratóriumi vizsgálatokon felül. (IKEB 01/2015)

A vizsgálatokra 1 hónapon belül került sor, vérmintát minden vizsgálatra jelentkezőtől egyszeri alkalommal vettünk.

Kezelés: napi 3-6000 NE D3-vitamin egyénenként figyelembe véve az eltérő testsúly értékeket, valamint az esetlegesen fennálló D-vitamin rezisztencia jelenségét.

Mintaelőkészítés

A redoxi mérésekhez szükséges vérmintát az általános laboratóriumi vizsgálatokhoz szükséges vérvétellel egy időben vettük le. Ez 2 db citrátos alvadásgátolt csőbe történt.

A mintákat ezután 4 °C-ra hűtve tároltuk a feldolgozásig.

A szeparálási folyamatot 1,5 órával a vérvétel után megkezdjük. Melynek során a plazmát elkülönítettük az erythrocyta frakciótól, valamint megszabadítottuk a „buffy coat” állománytól.

Majd az erythrocyta frakciót hemoglobintartalomra standardizáltuk.

Módszerek

Szabad-SH-csoport meghatározás:

A szabad SH-csoportok (mmol/l) meghatározása *Ellmann-reagens* (5,5-ditiobis-2-nitro-benzoésav) jelenlétében, *Sedlak* és *Lindsay* által módosított *Ellman*-módszerrel történt. 440 nm-en detektáltuk a keletkező 2-nitro-5-merkaptobenzoésavat (DTNB). Standardként redukált glutationt használunk.

Irodalom: Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein bound and non protein sulfhydryl groups in tissues with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25: 192-05.

Plazma és erythrocyta indukált szabadgyök-szint meghatározása luminometriás módszerrel:

A méréseket Blázovics és mtsai módszere szerint végezzük. Kis mennyiségű humán plazmából (0,15 ml), illetve erythrocytából (0,05 ml) történt a vizsgálat. A reakcióelegy $H_2O_2/\cdot OH$ - mikroperoxidáz - luminol komponensekből áll (pH = 10,5). A méréshez Berthold Lumat 9501 készüléket használtunk.

Irodalom: Blázovics A, Kovács Á, Lugasi A, Hagymási K, Bíró L, Fehér J. Antioxidant defense in erythrocytes and plasma of patients with active and quiescent Crohn's disease and ulcerative colitis: A chemiluminescence study. *Clin Chem* 1999; 45: 895-96.

Mérési módszerek

H-donor aktivitás mérése:

A plazmaminták H-donor-aktivitását 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) stabil szabad gyök jelenlétében mértük *Hatano és mtsai* szerint. Az eredményt gátlásszázalékban adtuk meg.

$$\text{Gátlás \%} = [\text{Abs(kontroll)} - \text{Abs(minta)}] / \text{Abs(kontroll)} \times 100$$

Irodalom: Hatano T, Kagawa H, Yasuhara T, Okuda T. Two new flavonoids and other constituents in licore root: their relative astringency and radical scavenging effects. Chem Pharm Bull 1988; 36: 2090-97.

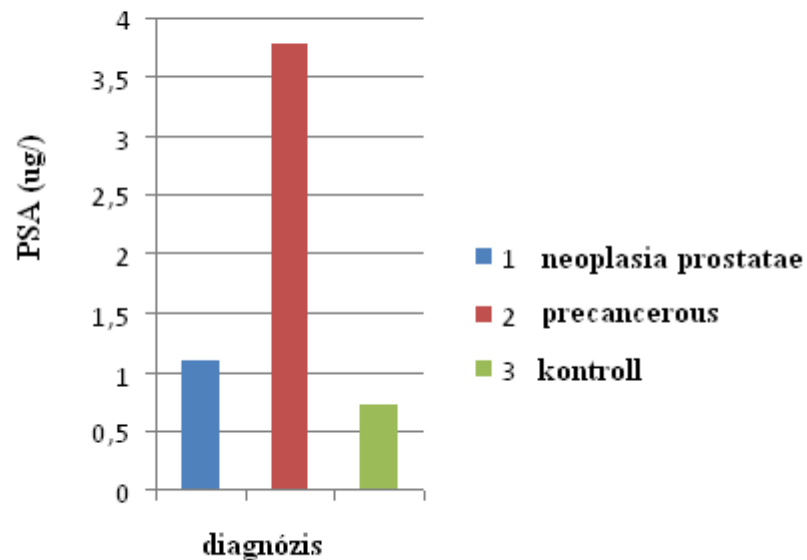
Redukálóképesség mérése:

A redukálóképességet Oyaizu szerint határoztuk meg 700 nm-en spektrofotometriás módszerrel. A minta redukálóképességét aszkorbinsav-ekvivalensben adtuk meg .

Irodalom: Oyaizu M. Studies on products of browning reaction prepared from glucoseamine. Jpn J Nutr 1986; 44: 307-15.

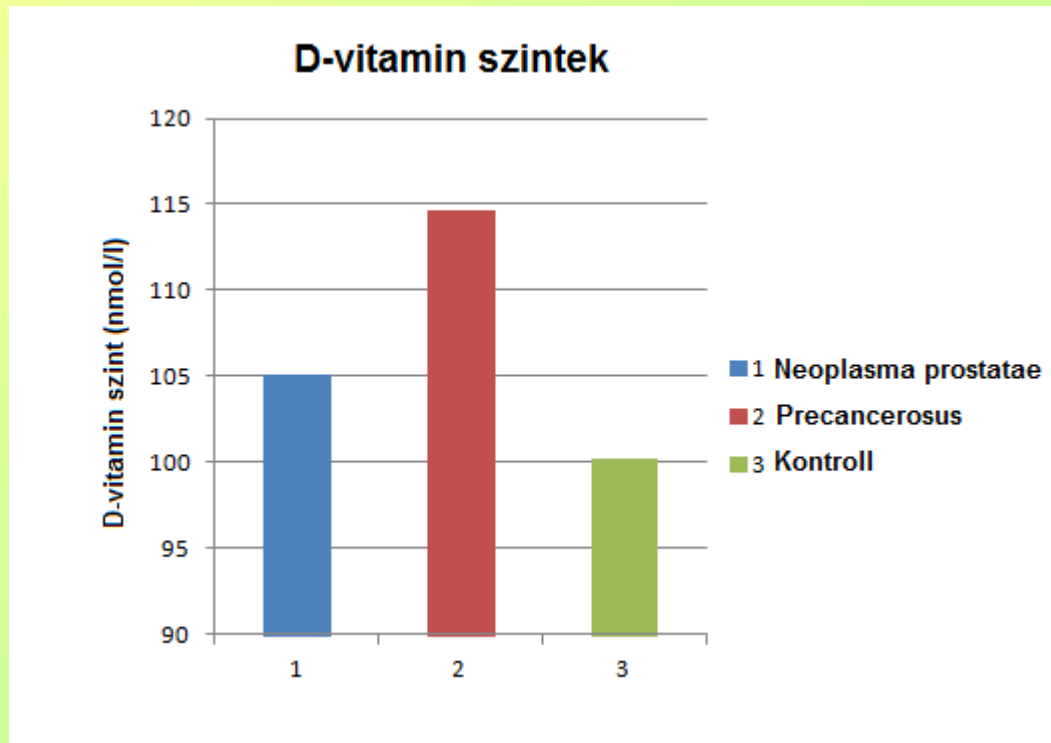
Eredmények

A betegek diagnózisának felállítása PSA értékek szerint

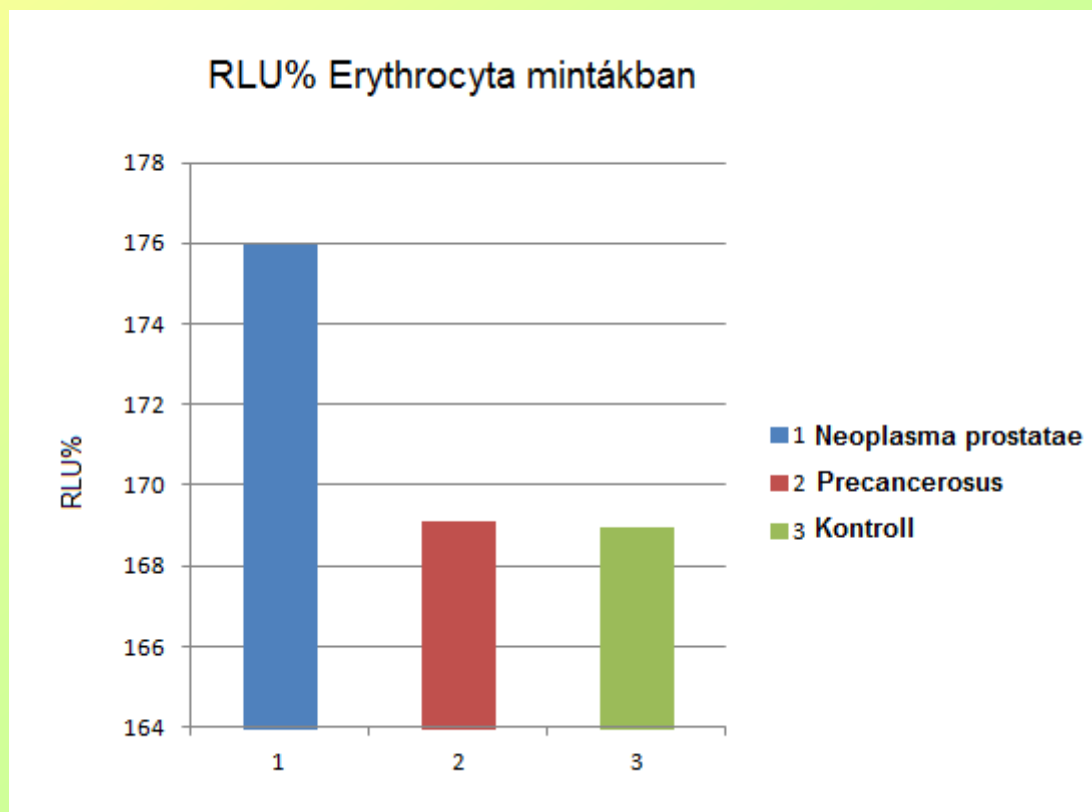


A precancerosus csoport a feltételezett PSA-szintet mutatja.

Bár szövettanilag még nem igazoltak az esetek de a kezelőorvos feltételezése alapján D-vitamin kezelést kapnak.

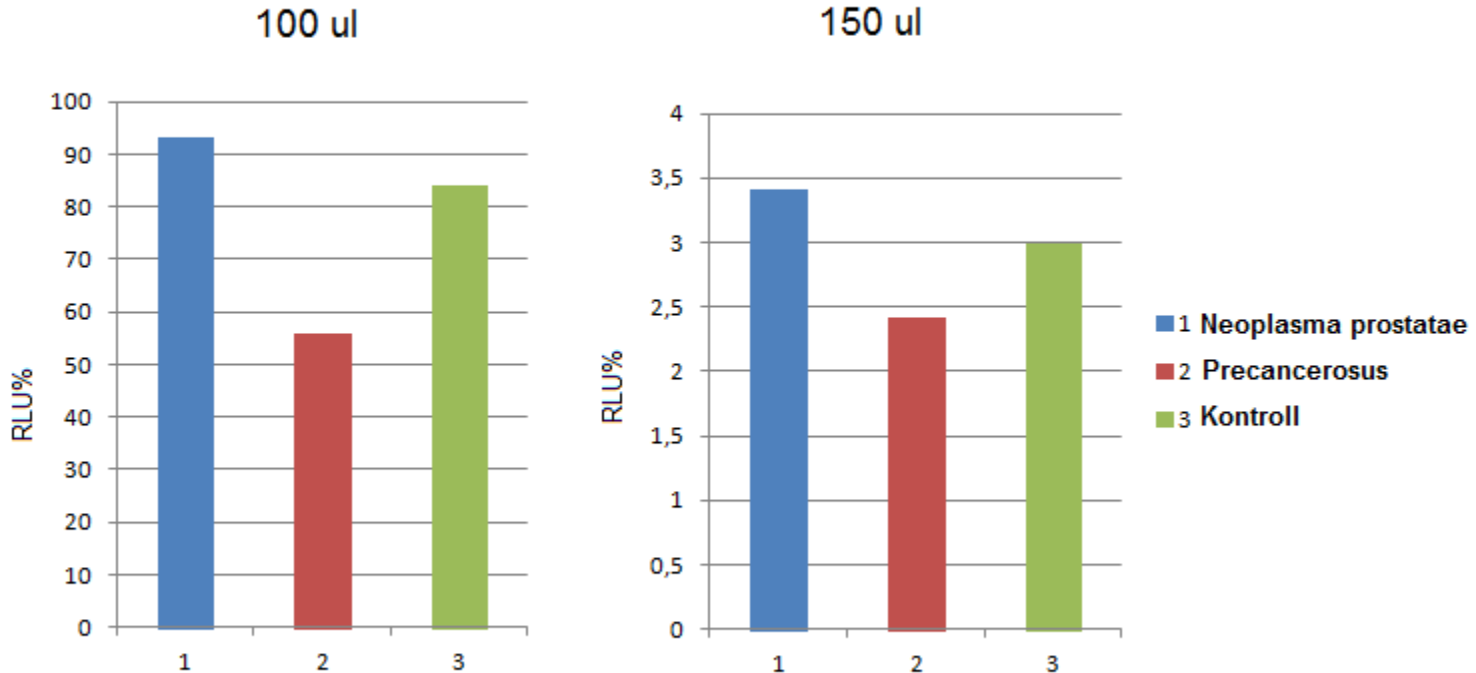


A prosztatatarákos betegcsoport annak ellenére, hogy ugyanazt a D-vitamin kezelést kapja a precancerosus csoporténál alacsonyabb szérumszintet produkált.

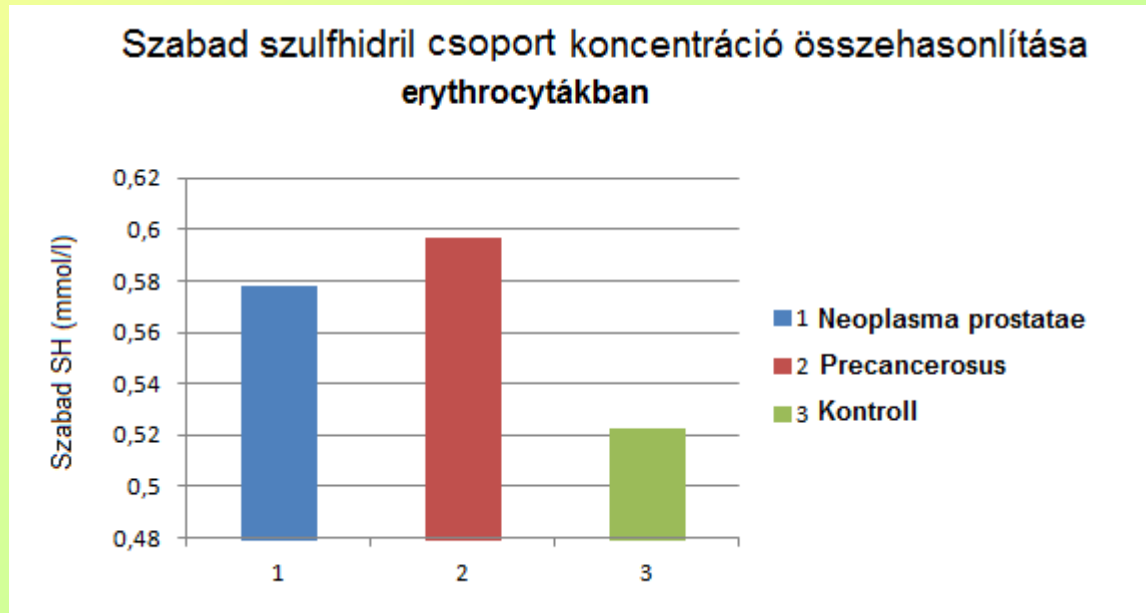


A precancerosus csoport indukálható szabadgyök-szintje a kontrollcsoportéhoz hasonló. Ezen felül jelentősen jobb értéket mutat a diagnosztizált rákos betegekéhez képest.

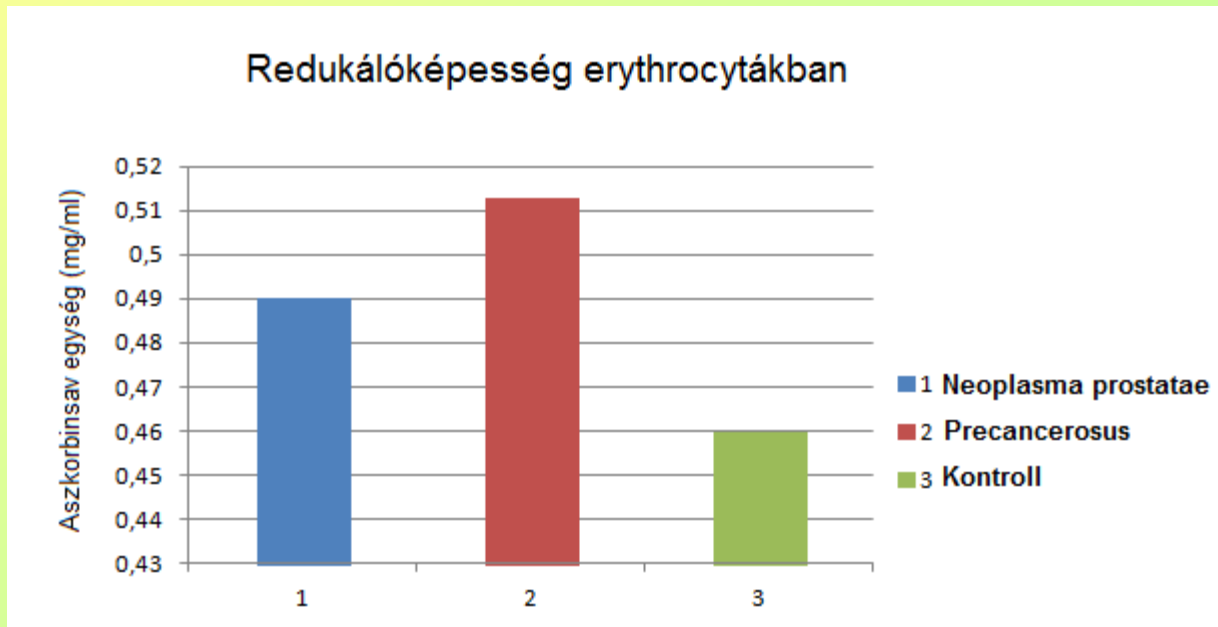
RLU% plazmában



A plazmában mért kemilumineszcencia értékek alapján a kezelés alatt álló precancerosus csoport jobban érvényesül a védő hatás, mint a kontrollcsoportnál. A rákbeteg csoportban a össz-scavenger kapacitása egyértelműen rosszabb.

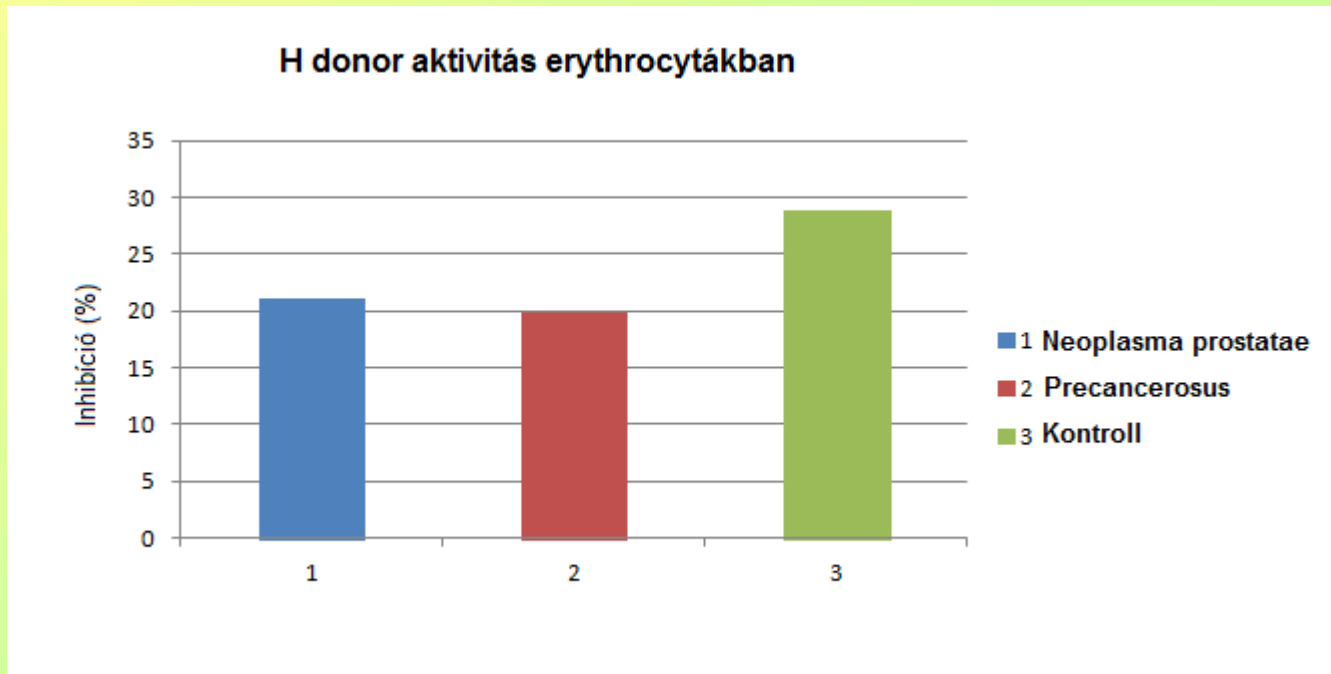


A kontrollhoz viszonyítva mindkét csoportban szabad SH-csoport koncentráció növekedés figyelhető meg, kivédendő az erythrocytán belül keletkező szabadgyök-terhelést. Ez a jelenség arra enged következtetni, hogy a diagnosztizált rákos és a precancerosus állapotban a redox-homeosztázis a szabad SH termelődés irányába tolódik el.



A vörösvértestekben mérhető redukálóképesség a vártnak megfelelően a rákos és a feltételezett csoport esetében meghaladta a kontrollok értékét.

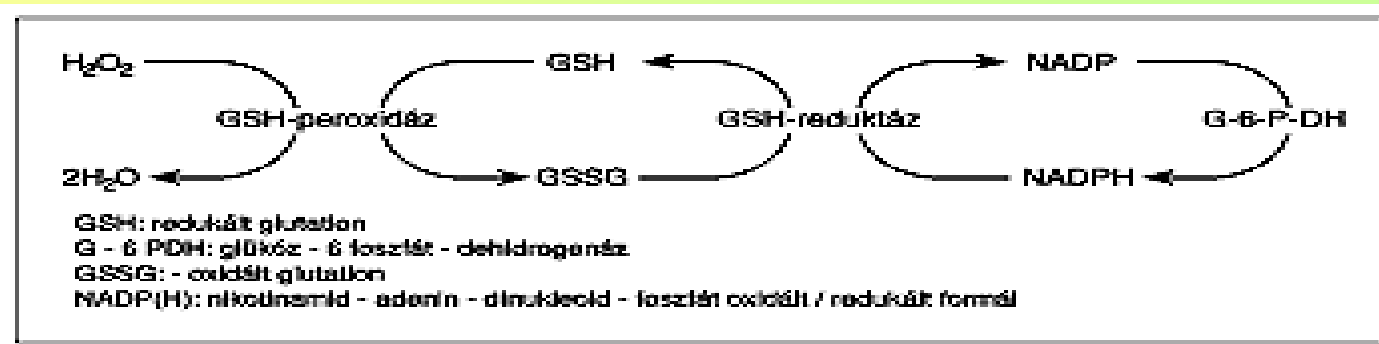
A legmagasabb érték a precancerosus csoportban volt mérhető.



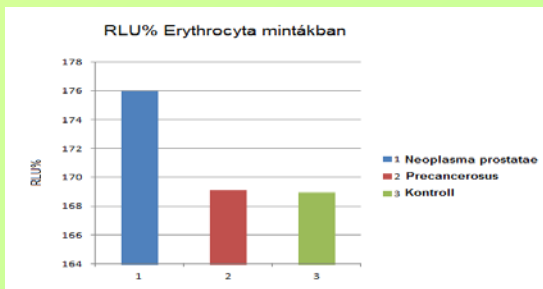
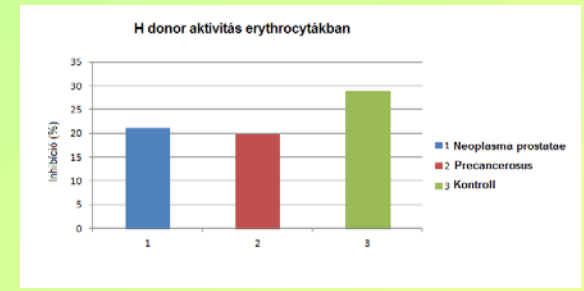
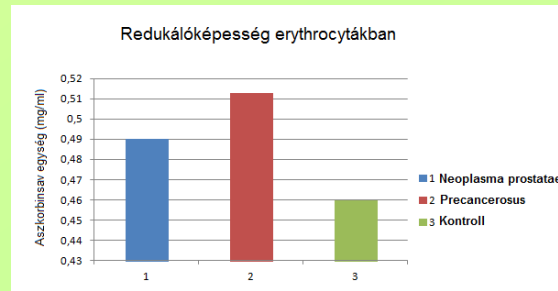
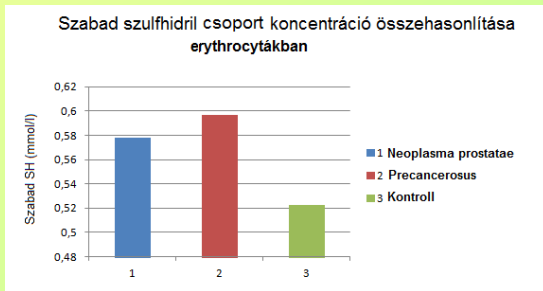
H donor aktivitás rosszabb a rákos és a precancerosus csoportokban a kontrollcsoporttal szemben. A mérések alapján az enzimatiskus védekezés (szabad SH-csoport) erősödik. - Kimerül a direkt scavenger kapacitás? -

Összefoglalás

A redox-homeosztázis fenntartása érdekében történő eltolódások magyarázata



3-26. ábra. A glutation-peroxidáz rendszer működése: I.



A szabad szulfidril-képződés felé tolódik el a szöveti antioxidáns védekezés, a GSH-reduktáz kapcsoltságon keresztül a kimerül a direkt scavenger aktivitás elégtelensége következtében.

A rákos betegek erythrocyta és a plazma mintáiban egyaránt a legrosszabb össz-scavenger kapacitás értékeket kaptuk.

Úgy tűnik, hogy a precancerosus csoport plazmamintáiban hasznosul legkedvezőbben a D-vitamin antioxidáns rendszerre kifejtett hatása.

A rákos és precancerosus betegek erythrocytája egyaránt magasabb szabad szulfhidril-csoport értékeket mutat, mint a kontrollok.

- Megjegyzendő, hogy a legmagasabb érték a precancerosus csoportban volt mérhető. -

A H donor aktivitás hamarabb kimerül mindkét betegcsoportban a kontrollcsoportéhoz képest.

Úgy tűnik, hogy az erythrocytákban mért redukálóképesség arányos mértékben növekszik a D₃- vitamin biohasznosulásával

Ki kell hangsúlyoznunk, hogy az általunk vizsgált 22 vizsgálati személyből a legnagyobb D-vitamin szint a precancerosus csoportban volt mérhető, annak ellenére hogy egyforma kezelésben részesültek.

Eredményeink alapján egyértelmű, hogy a D-vitamin össz-scavanger kapacitásra jótékony hatást gyakorol a prosztatatarák esetében.

E kérdéskör további vizsgálatának szükségessége indokolt.



Köszönetnyilvánítás

Semmelweis Egyetem Ph.D. Iskola és

Synlab Hungary Kft.

Köszönöm megtisztelő figyelmüket!

