

Abstrakt

Cílem této diplomové práce je komparace imunohistochemických a molekulárně biologických metod pro detekci lidských papilomavirů (HPV) v nádorové tkáni s jejich následným využitím při studiu HPV v etiopatogenezi zhoubných nádorů sinonasální krajiny.

Z množství metod používaných k detekci lidských papilomavirů byla vybrána in situ hybridizace, imunohistochemická detekce exprese proteinu p16^{INK4a}, klasická polymerázová řetězová reakce v kombinaci se dvěma detekčními metodami a to enzymoimunoanalýzou a reverzní hybridizací, dále pak polymerázová řetězová reakce v reálném čase a reverzní transkripce.

V porovnání všech metod užitých k detekci HPV byla zjištěna velice dobrá shoda, kde všechny prováděné metody vykazovali vzájemnou korelaci $p < 0,0001$ (p16, DNA in situ hybridizace, RNA in situ hybridizace, kvantitativní polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí (RT-qPCR) mRNA) až na metodu detekce p16 vs. DNA polymerázovou řetězovou reakcí (PCR), jejichž korelační koeficient dosáhl $p = 0,004$ v celém souboru, respektive $p = 0,002$ v souboru dlaždicobuněčného karcinomu.

Lze tedy k detekci HPV s výhodou využít detekci p16 imunohistochemicky v kombinaci s detekcí mRNA pomocí RT-qPCR, jež poskytne informaci jak o vlivu HPV na buněčný cyklus, tak i o jeho transkripční aktivitě a typu.

Výše zmíněnými metodami bylo dokázáno, že 42,6% (32/75) karcinomů sinonasální krajiny vykazuje HPV pozitivitu bez ohledu na diagnostickou jednotku. Ve skupině dlaždicobuněčných karcinomů je to 40,8% (20/49).

Dle klinických studií mají pacienti s prokázanou p16 overexpresí medián přežití 73 měsíců oproti p16 negativním pacientům s 27 měsíci. U HPV statusu je tento rozdíl paradoxně obrácený 30 měsíců u HPV pozitivních ku 33 měsícům u HPV negativních pacientů, jež je způsoben nedostatečnými klinickými informacemi o době přežití jednotlivých pacientů.