

Detekce metylace a delece promotoru MGMT genu metodou MS-MLPA u nemocných s glioblastomem

Halka Lhotská¹, Tatiana Aghová¹, Hana Čechová², Libuše Lizcová¹, Denisa Vidláková¹, Karla Svobodová¹, Kateřina Vítovská¹, Veronika Ticháčková¹, Eva Pánková¹, Dora Konečná³, David Netuka³, Petr Hrabal⁴, Zuzana Zemanová¹

¹Centrum nádorové cytogenomiky, ÚLBLD, VFN a 1.LF UK, Praha; ²Oddělení HLA, ÚHKT, Praha; ³Neurochirurgická a neuroonkologická klinika, 1. LF UK a ÚVN, Praha; ⁴Oddělení patologie, 1. LF UK a ÚVN, Praha

Úvod: Glioblastom (GBM) je nejčastějším maligním onemocněním mozku s velmi špatnou prognózou a komplikovanou léčebnou strategií. Snížená exprese MGMT genu (10q26.3), která může být ovlivněna metylací či delecí jeho promotoru, je spojována s dobrou odpovědí nemocných na léčbu alkylačními činidly. Vhodné metody detekce metylace promotoru MGMT genu a nastavení odpovídajících hodnot cut-off stále zůstávají předmětem diskuse. Jednou z možných metod je metylačně specifická MLPA (MS-MLPA).

Cíle: Cílem studie bylo metodou MS-MLPA zhodnotit frekvenci metylace a delece promotoru MGMT genu v souboru nemocných s GBM. Ověřit specifitu a senzitivitu prób vybraného MS-MLPA kitu a zmapovat rozložení metylace po celém promotoru MGMT genu.

Metodika: Metodou MS-MLPA (MRC Holland) jsme vyšetřili párové vzorky nádorové tkáně a periferní krve získané od 120 nemocných s GBM (IDH-wildtype, WHO grade 4). Zhodnotili jsme specifitu a senzitivitu použitých prób MS-MLPA kitu prostřednictvím analýzy ROC křivek. Metylací promotoru MGMT genu jsme vizualizovali pomocí heatmap funkce v R software. Deleci MGMT genu či monosomii chromozomu 10 jsme ověřili metodou I-FISH (Empire Genomics, Abbott Vysis) či CGH/SNP array (Agilent, Illumina).

Výsledky: Metylací promotoru MGMT genu jsme potvrdili u 38 % nemocných z toho u 80 % pacientů jsme souběžně pozorovali i delecí oblasti 10q26.3. U 19 % nemocných jsme našli pouze delecí 10q26.3. Největší specifitu měla próba MGMT_124 lokalizovaná -263 nt od počátku transkripce. Nejčastěji a také nejintenzivněji byl metylovaný 5' konec promotorové oblasti MGMT genu.

Závěr: Výsledky naší studie ukazují, že metoda MS-MLPA umožňuje detekci jak metylace, tak i delece MGMT genu. V souladu s literaturou jsme potvrdili, že metylace promotoru MGMT není po celé jeho délce rovnoměrná. Detailní analýza promotoru MGMT genu může vést k preciznější a personalizované léčbě nemocných s glioblastomem.

Podpořeno výzkumnými projekty RVO-VFN64165, NU21-04-00100, GIP-22-NL-02-846.