



Význam epigenetických změn u urologických malignit

Petr Hušek(1), Jaroslav Pacovský(1), Marcela Chmelařová(2), Miroslav Podhola(3)

1. Urologická klinika FN a LFUK Hradec Králové

2. Ústav klinické biochemie a diagnostik

3. Finglandův ústav patologie FNHK

Výzkum je podpořen: INTERNÍ SOUTĚŽ FN HK 2014

Cíle

Cílem práce je nalezením typických hypermetilací vyskytujících u této skupiny pacientů, kde došlo k selhání BCG terapie. Retrospektivní zhodnocení efektu léčby u pacientů s povrchovým high grade karcinomem močového měchýře či CIS, kteří prodělali BCG instilační terapii

Soubor a metoda

MS-MLPA (Methylation Specific Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) představuje semikvantitativní metodu pro sledování metylačních změn DNA. MS-MLPA je velmi podobná klasické MLPA, kdy ligace probe je kombinována se štěpením komplexu DNA-proba metylačně specifickou endonukleázou. Nejčastěji využívaným restričním enzymem je Hha1, tento enzym rozpoznává a specificky štěpí pouze nemetylovanou DNA sekvenci GCGC. MS-MLPA je metoda, která je velmi citlivá a může být využita již při malých koncentracích izolované DNA. Nespornou výhodou je i její použití u analýzy DNA izolované z parafínových bločků, která často bývá málo kvalitní. Další výhodou je analýza několika sekvencí v jedné reakci. Toto metodou je v plánu bylo analyzováno celkově 50 archivovaných vzorků uroteliální tkáně.

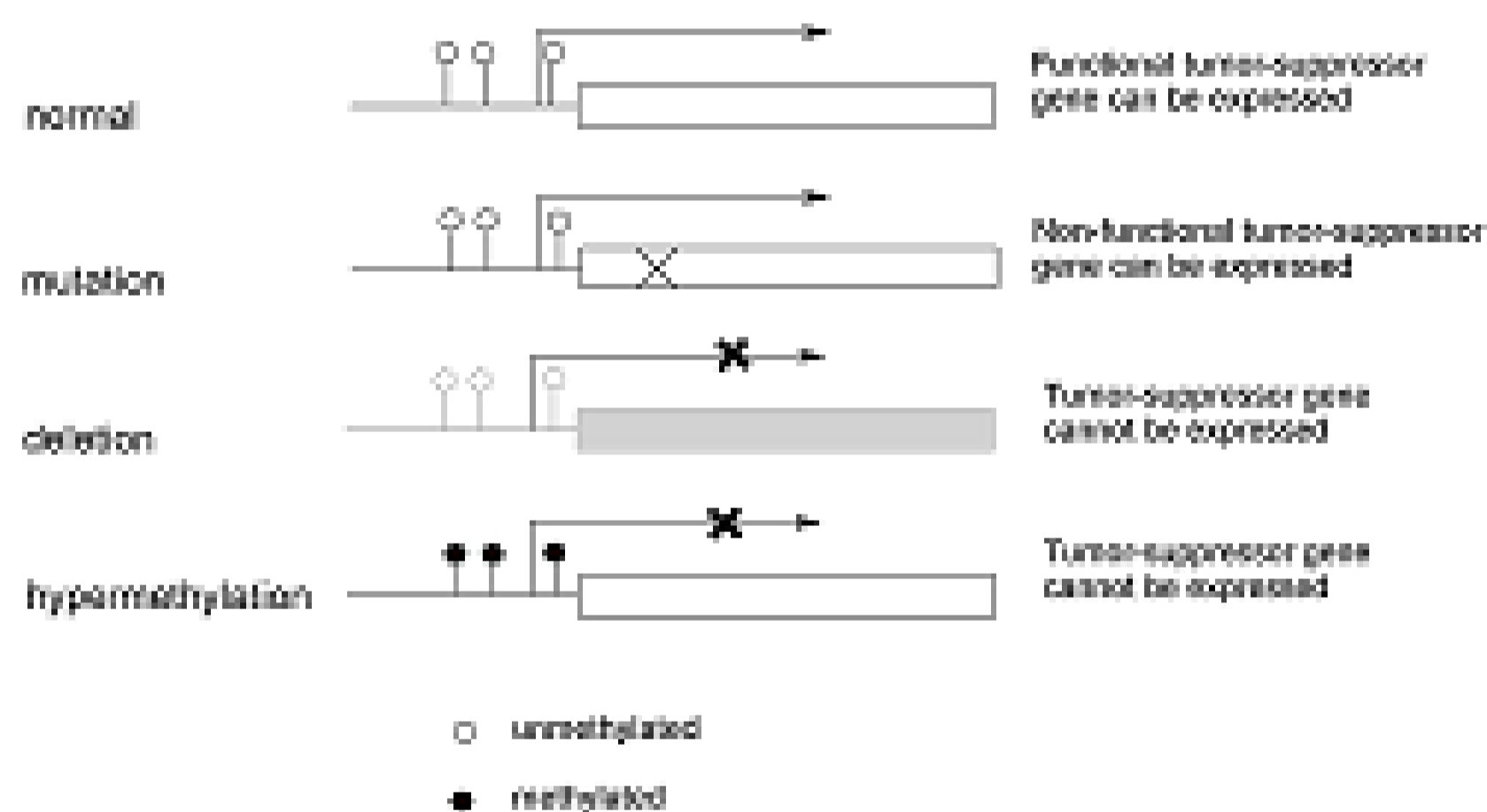
Výsledky

Zhodnoceno 66 pacientů po BCG terapii. Neúspěch BCG terapie (recurrence či progrese onemocnění) u 21 (32%) pacientů. Z toho recurrence high grade či CIS u 15 (23%) pacientů. Progrese u 6 (9%) pacientů. 3 (5%) pacienti na karcinom močového měchýře zemřeli. Průměrný čas do progrese byl 8M, průběrný čas do recurrence 12,4M. Minimální sledované období bylo 3R po BCG.

Methylační analýza byla aktuálně provedena u 40 nádorových vzorků vybraných pacientů a 10 kontrol. K analýze bylo vybráno 65 methylačních genů vyskytujících se u nádorových onemocnění.

Vyskytující se methylace u high grade karcinomu byly: WIF1, GATA4, TERT, SFRP1, BCL2, CDH13, RASSF1, TP73, APC. Zcela nově byly identifikovány methylace NTRK1, MUS81a.

Stran predikce rizika neúspěchu BCG léčby je nadějná absence methylace CDKN2b.



Mechanisms of inactivation of tumor-suppressor genes.

Závěr

Očekávaným přínosem je pomocí této laboratorní metody určit pacienty s high grade povrchovým uroteliálním karcinomem a CIS vhodných ke konzervativní terapii (BCG vakcína) či radikální onkologické léčbě (radikální cystektomie).

Tyto zkoumané laboratorní metody by v budoucnu mohly hrát v klinické praxi významnou roli a usnadnit tato složitá rozhodnutí, která mají zásadní dopad na kvalitu života a onkologickou prognózu pacientů.