



Detekce metylace promotoru MGMT genu

Do nedávné doby byla standardní léčbou glioblastomu multiforme kombinace maximálně možné resekce a radioterapie. V poslední době v souladu s pokroky v poznání kancerogeneze se užívá kombinace resekce, radioterapie a chemoterapie alkylačními činidly (temozolomid, TMZ). Temozolomid je alkylační činidlo, které ve fyziologickém prostředí spontánně konvertuje na aktivní metabolit a tento indukuje alkylaci DNA na pozici O⁶guaninu.

Temozolomid se dobře vstřebává a poměrně snadno prochází blood-brain bariérou. Temozolomid tvoří adukty v DNA, které jsou následně rozpoznávány a opravovány reparačním enzymem O⁶-methylguanin- DNA methyltransferázou (MGMT). O⁶-methylguanin- DNA methyltransferáza (MGMT, OMIM 156569) je reparační enzym, který odstraňuje poškození DNA způsobené alkylačními činidly. Gen kódující tento enzym je lokalizován na chromosomu 10q26.

Tento enzym přenáší metylovou skupinu z O⁶ guaninu na reziduum cysteinu v akceptorové doméně enzymu. Takto dochází k ireverzibilní inaktivaci enzymu a k indukci nové syntézy MGMT. Metylaci promotoru MGMT genu dochází k trvalému „umlčení“ MGMT genu, tedy po vystavení DNA alkylačním činidlům není poškozená DNA opravována a dochází ke spuštění preventivních ochranných mechanismů buněčného cyklu, které vedou k apoptóze.

Metylace promotoru MGMT genu souvisí s vyšší efektivitou chemoterapeutické léčby TMZ.

Metylace DNA patří mezi epigenetické procesy a zasahuje hlavně oblasti DNA s vysokým obsahem CpG ostrůvků. Tyto jsou rozmístěny nenáhodně v genomu a nejčastěji se nacházejí v regulačních oblastech genů – v promotorech. Metylace promotorů obvykle znamená transkripční inaktivaci genu díky deacetylaci histonů, čímž se indukuje formování inaktivního chromatinu. Metylace promotorů patří mezi klíčové epigenetické procesy tumorigeneze a zasahuje tumorsupresorové geny, DNA reparační geny, proapoptotické geny a geny kontrolující buněčný cyklus. Alterace metylačního vzorce může být prvotní událostí a vést k tumorigenezi.

Indikace vyšetření:

- u pacienta s glioblastomem multiforme

Stručně klinický význam:

- zjištění metylačního statutu promotoru genu MGMT, kdy v případě metylace promotoru genu lze očekávat lepší odpověď na léčbu temozolomidem



Materiál pro vyšetření:

- 2-3 vzorky nádorové tkáně o velikosti asi 3x3x3mm do roztoku RNA lateru, vzorky musí být v RNA lateru ponořené, odběrová zkumavka musí být označena štítkem se jménem a datem narození a zároveň 5 ml čerstvě odebrané venózní krve do EDTA (krev s heparinem nelze použít!), označené štítkem se jménem a datem narození
- příložená žádanka specifikující druh požadovaného vyšetření a obsahující nezbytné údaje o pacientovi.

Detekce metylace MGMT promotoru

- k detekci metylace MGMT promotoru provádíme konverzi nemetylovaného cytosinu na uracil (Methylamp™ One-Step DNA modification Kit) a dále provádíme metylsensitivní PCR se specifickými primery k detekci metylovaného a nemetylovaného promotoru, případně real-time PCR

Transport vzorků do laboratoře

Zajištěn svozem CGB laboratoře a.s. ihned po odběru periferní krve (kontakt na telefonním čísle 724 813 359, 725 880 733). [Více info zde...](#)

Délka trvání vyšetření a způsob vydání závěrečné zprávy:

- požadované vyšetření a vydání závěrečné zprávy je realizováno do 7 – 10 pracovních dnů po převzetí vzorku
- v případě vzorku s označením STATIM je vyšetření a vydání závěrečné zprávy provedeno do 2-3 pracovních dnů po převzetí vzorku
- závěrečné zprávy o výsledku jsou z laboratoře zasílány písemně pouze zadavateli vyšetření – lékaři, oprávněnému indikovat molekulární genetické vyšetření.