

Convegno Nazionale GISCI Riccione 30-31 Maggio 2019

Sezione Poster - Area di pertinenza: Ricerca e innovazione tecnologica

Metilazione genica come biomarcatore di aggressività: efficacia della combinazione di geni umani e virali nella identificazione di lesioni cervicali di alto grado

Morena Trevisan¹, Chiara Grasso¹, Laura Gaetano¹, Valentina Fiano¹, Carlotta Sacerdote²,
Anna Gillio Tos³ e Laura De Marco^{1,2,3}

laboratorio.epidemiologia@cpo.it

tel. 011 633 6863

¹ *Laboratorio Epidemiologia Molecolare, CeRMS- Università di Torino e CPO Piemonte*

² *Epidemiologia dei Tumori, AOU Città della Salute e della Scienza e CPO Piemonte, Torino*

³ *Centro Unico Cervico-Vaginale, AOU Città della Salute e della Scienza, Torino*

METILAZIONE GENICA COME BIOMARCATORE DI AGGRESSIVITÀ: EFFICACIA DELLA COMBINAZIONE DI GENI UMANI E VIRALI NELLA IDENTIFICAZIONE DI LESIONI CERVICALI DI ALTO GRADO

TREVISAN M. ET AL., TORINO

BACKGROUND

Il test HPV-DNA, utilizzato come test primario nello screening per la prevenzione del cervicocarcinoma è sensibile ma poco specifico per individuare lesioni pre-neoplastiche di alto grado (hgCIN), e necessita di test di triage per limitare sovra-diagnosi e sovra-trattamento.

La metilazione genica è uno dei nuovi biomarcatori in studio con questo obiettivo.

OBIETTIVI

Questo studio intende valutare, in una popolazione non sottoposta a screening, se la combinazione della metilazione in geni selezionati può aumentare l'efficacia di identificazione di hgCIN.

Obiettivi specifici sono :

- i) valutare l'associazione tra la metilazione dei geni **FAM19A4** (FAM) e **hsa-mir124-2** (MIR) e il rischio di **hgCIN**;
- ii) valutare l'efficacia di combinare la metilazione di uno dei due geni precedenti con la metilazione del gene **HPV L1**.

METILAZIONE GENICA COME BIOMARCATORE DI AGGRESSIVITÀ: EFFICACIA DELLA COMBINAZIONE DI GENI UMANI E VIRALI NELLA IDENTIFICAZIONE DI LESIONI CERVICALI DI ALTO GRADO

TREVISAN M. ET AL., TORINO

METODI

Popolazione dello studio

Le analisi di metilazione sono state condotte su DNA estratto da campioni cervicali di **376 donne** (età 15-47) non sottoposte a screening e reclutate a Curitiba (Brasile): **204 controlli** senza lesioni cervicali (51 HPV+, 153 HPV-), **172 hgCIN** (103 CIN2, 69 CIN3).

La metilazione del promotore dei geni **FAM19A4** (FAM) e **hsa-mir124-2** (MIR) è stata valutata con QIASure Methylation test (Qiagen); la metilazione sul gene **HPV L1 (CpGs 5601-5616)** delle donne positive, con infezione singola, ai ceppi HPV16,18,31,45 (N=93) con home made PCR e pyrosequencing (Fiano, PONE 2018).

Analisi statistica

La performance dei test è stata valutata considerando sensibilità e specificità per lesioni CIN2/3; l'associazione dello stato di metilazione con hgCIN è stimata da Odds Ratio [OR (intervallo di confidenza al 95%)] aggiustati per età, fumo, etnia e numero di partners.

RISULTATI

FAM19A4 (FAM) e **hsa-mir 124-2** (MIR) - QIAzure Methylation test (Qiagen)

Metilazione in almeno in un gene

- 60/204 (**29.41%**) controlli
(14/51 HPV+, 46/153 HPV-)
- 69/103 (**66.9%**) **CIN2**
- 59/69 (**85.5%**) **CIN3**

Sensibilità

67% (57.9-76.0) **CIN2**
86% (77.2-93.8) **CIN3**

Specificità

71% (64.3-76.8) **CIN2/3**

ASSOCIAZIONE METILAZIONE FAM e MIR e RISCHIO di hgCIN

GENI	CO	CIN2/3	adj OR*	CIN2	adj OR*	CIN3	adj OR*
FAM19	204	172	7,13 (4,23-11,99)	103	4,67 (2,61-8,36)	69	7,13 (4,23-11,99)
MiR	204	172	12,88 (6,56-25,29)	103	6,71 (3,12-14,48)	69	12,88 (6,56-25,28)

Stratificando per età il **rischio** è maggiore **sopra i 35 anni**

	GENI	CO	CIN2/3	adj OR*
<35 YEARS	FAM19	133	120	6,46 (3,45-12,08)
	MiR	133	120	7,98 (3,45-18,46)
>35 YEARS	FAM19	71	52	13,58 (4,41-43,87)
	MiR	71	52	29,84 (8,94-99,57)

*OR adj per età, fumo, etnia e n° partners

RISULTATI

HPV L1 (CpGs 5601-5616) (N=93, HPV16,18,31,45) – §pyrosequencing

METILAZIONE MIR e HPV L1_1	CIN2/CIN3	CO TUTTI	adj OR*
almeno uno met	37	11	13,46 (7,28-24,89)
entrambi	41	1	132,26 (17,32- ∞)

METILAZIONE MIR e HPV L1_1	CIN2	CO TUTTI	adj OR*
almeno uno met	27	11	9,73 (4,95-19,15)
entrambi	25	1	49,07 (6,02-399,64)

METILAZIONE MIR e HPV L1_1	CIN3	CO TUTTI	adj OR*
almeno uno met	10	11	27,86 (11,40-68,07)
entrambi	16	1	448,81 (52,90- ∞)

metilazione dei geni **MIR + HPV L1** → **aumenta associazione del rischio hgCIN**

§Fiano, PONE 2018; *OR adj per età, fumo, etnia e n° partners

CONCLUSIONI

“QIASure Methylation test” ha dimostrato un tasso di positività per hgCIN più elevato rispetto a quello dichiarato dal produttore.

La metilazione di hsa-mir124-2 è più predittiva, e la sua combinazione con la metilazione in HPV L1 aumenta fortemente l’associazione con hgCIN.

I risultati **supportano** il ruolo della **metilazione come marker di aggressività** suggerendo la possibilità di **utilizzo combinato di geni selezionati umani e virali** per affinare la determinazione del **rischio di hgCIN**.