

*Rilevazione della presenza di metilazione nel promotore del gene p16<sup>INK4A</sup> nel plasma*

In questo studio abbiamo messo a punto un saggio MSP (methylation specific PCR) con una rilevazione in fluorescenza (F-MSP) allo scopo di migliorare la sensibilità del test per identificare la presenza di metilazione genica in fluidi biologici.

Sono stati esaminati campioni, tissutali e plasmatici, derivati da 35 pazienti con carcinoma polmonare non a piccole cellule già studiati per la quantificazione del DNA circolante (Sozzi G. Can. Res. 2001) Usando F-MSP la rilevazione dei campioni di plasma metilati è aumentata di 6 volte (da 2 a 12 casi) rispetto a MSP standard, e la metilazione di p16<sup>INK4A</sup> si è dimostrata rilevabile nel 54% dei ventidue campioni di plasma ottenuti da pazienti con tumori metilati. L'associazione dello stato di metilazione di p16<sup>INK4A</sup> nei tumori al polmone e nei plasmi corrispondenti è statisticamente significativa ( $p < 0.004$ ).

Nei campioni di plasma dei 32 pazienti i cui tumori esibiscono almeno un marcatore alterato, l'ipermetilazione di p16<sup>INK4A</sup> e le alterazioni dei microsatelliti sono presenti singolarmente in 12 e 10 casi rispettivamente, mentre in associazione possono essere rinvenute in diciotto casi (56%). L'ipermetilazione di p16<sup>INK4A</sup> oppure l'instabilità dei microsatelliti ritrovati nel plasma corrispondono in diciotto casi allo stesso profilo molecolare alterato esibito da ventinove tumori (62%). Inoltre in ventidue dei trentacinque plasmi (67%) sono presenti livelli di DNA circolante più elevati di 125 ng/ml, corrispondenti al 100% di specificità nel discriminare i tumori dai donatori sani, come calcolato in base alla curva ROC utilizzata per valutare simultaneamente sensibilità e specificità del test (Sozzi 2001). Una tale percentuale di identificazione sale all'80% se viene considerata anche la metilazione di p16<sup>INK4A</sup>.