

Epigenética: una nueva herramienta para el estudio de la leucemia mieloide crónica

Epigenetics: a new tool for the study of chronic myeloid leukemia

Juliana Pérez Mejía¹, Paola Acevedo Toro MSc²

Resumen: la epigenética se refiere a la aparición de cambios heredables en la expresión de genes sin alteración en la secuencia de ADN (ácido desoxirribonucleico). Mecanismos como la acetilación y deacetilación de histonas, la hipometilación global del genoma y en especial la hipermetilación del ADN, están implicados en la regulación transcripcional de genes supresores de tumores y de genes relacionados con el control de ciclo celular y la apoptosis en diferentes tipos de neoplasias hematológicas. La alteración de estos mecanismos se relaciona con la progresión entre fases clínicas y la resistencia al tratamiento en pacientes con leucemia mieloide crónica, por lo que la detección de alteraciones epigenéticas es una herramienta novedosa para el seguimiento de la neoplasia. Además, el uso de agentes desmetilantes como terapia epigenética es una alternativa complementaria de tratamiento, ya que aumenta la respuesta en pacientes resistentes a inhibidores de tirosina quinasa.

Palabras clave: epigenómica; metilación de ADN; leucemia mielogenous crónica, BCR-ABL positiva; proteínas tirosina quinasa.

Abstract: Epigenetics refers to the appearance of heritable changes in gene expression without any alteration in DNA sequence. Mechanisms such as acetylation and deacetylation of histones, global genome hypomethylation and DNA hypermethylation are involved in transcriptional regulation of tumor suppressor genes and genes involved in apoptosis and cell cycle control in various types of hematological malignancies. The appearance of this type of mechanism is related with disease progression and treatment resistance in patients with chronic myeloid leukemia; therefore, the detection of epigenetic alterations has become an innovative tool for monitoring these neoplasms. In addition, the use of demethylating agents as epigenetic therapy is an alternative and complementary therapy that may enhance clinical response to treatment in patients with resistance to tyrosine kinase inhibitors.

Key words: Epigenomics; DNA methylation; leukemia, myelogenous, chronic, BCR-ABL positive; protein-tyrosine kinases.

Pérez Mejía J, Acevedo Toro PA. Epigenética: una nueva herramienta para el estudio de la leucemia mieloide crónica. *Medicina & Laboratorio* 2013; 19: 243-255

¹ Bacterióloga y laboratorista clínica. Estudiante de Maestría en Microbiología y Bioanálisis, énfasis en Hematología. Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

² Microbióloga y Bioanalista. MSc en Ciencias Básicas Biomédicas. Docente Escuela de Microbiología. Grupo de investigación Hematopatología Molecular (HEMO). Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Correspondencia: Calle 67 Número 53 – 108, Bloque 5, oficina 435. Correo electrónico: micropao@gmail.com.

Conflicto de intereses: las autoras declaran que no tienen conflicto de intereses.

Medicina & Laboratorio 2013; 19: 243-255

Módulo 4 (Hematología), número 11. Editora Médica Colombiana S.A. 2013®

Recibido el 29 de noviembre de 2012; aceptado el 16 de junio de 2013

La epigenética se refiere a la aparición de cambios heredables en la expresión de genes sin alteración en la secuencia de ADN (ácido desoxirribonucleico) [1]. Existe una creciente evidencia de que, adicional a las alteraciones genéticas, los fenómenos epigenéticos son críticos en la patogénesis del cáncer humano [2]. Los cambios epigenéticos relacionados con el desarrollo de neoplasias hematológicas incluyen la modificación de histonas (acetilación) y la metilación de genes supresores de tumores, genes relacionados con apoptosis y genes reguladores del ciclo celular [3]; estos mecanismos influyen en la estructura de la cromatina y alteran la expresión de genes, lo que favorece el proceso oncogénico.

Específicamente, la leucemia mieloide crónica es una de las neoplasias en las que más se han estudiado los cambios epigenéticos, su impacto en la evolución de la enfermedad y en la respuesta al tratamiento. Si bien existen fármacos con acción sobre la proteína tirosina quinasa BCR-ABL1, algunos pacientes son resistentes al tratamiento y ello, en algunos casos, se debe a la hipermetilación de genes específicos [4, 5]. Por lo anterior, en este módulo se describirá la relación entre los mecanismos epigenéticos y el desarrollo, la evolución y el tratamiento de la leucemia mieloide crónica; para ello, se realizará una descripción general de la leucemia mieloide crónica y una breve revisión de epigenética, los mecanismos epigenéticos para la regulación de la expresión génica y finalmente, su relación con la leucemia mieloide crónica.

Generalidades de la leucemia mieloide crónica

La leucemia mieloide crónica es una neoplasia mieloproliferativa que afecta entre 1 y 2 personas por cada 100.000 habitantes [6]. Por lo general, se presenta en adultos mayores, con una edad promedio de 65 años, y es más frecuente en hombres. Una de sus principales características es la proliferación del linaje granulocítico con predominio de formas maduras e intermedias, con poca cantidad de blastos en circulación (usualmente menos del 2%); frecuentemente cursa con leucocitosis, trombocitosis, anemia y basofilia al diagnóstico, pero los hallazgos hematológicos dependerán de la fase de la enfermedad. Clínicamente, los pacientes presentan fatiga, pérdida de peso, fiebre, sensación de saciedad y esplenomegalia, aunque entre el 30% y el 50% pueden estar asintomáticos y en este caso el diagnóstico es incidental [6, 7].

Es común que los pacientes con leucemia mieloide crónica presenten una progresión típica, en la cual se observa una fase inicial o crónica, que evoluciona a una fase acelerada y, finalmente, a una fase terminal o crisis blástica, aunque no todos los pacientes desarrollan las tres fases de la enfermedad. En la [tabla 1](#) se resumen los principales hallazgos en cada fase [6, 7].

Esta neoplasia se origina en las células madre hematopoyéticas, en las cuales se presenta la translocación t(9;22)(q34;q11.2), que da origen al cromosoma Philadelphia. Como resultado de la traslocación y de la formación del cromosoma Philadelphia, se fusionan los genes BCR y ABL1, que codifican para la proteína quimérica BCR-ABL1, con actividad tirosina quinasa y con capacidad de inhibir la apoptosis y favorecer la proliferación en células neoplásicas [6, 8]. En la actualidad, el tratamiento de la neoplasia se basa en inhibidores de tirosina quinasa de primera (imatinib) o segunda generación (dasatinib y nilotinib) con acción específica sobre la proteína BCR-ABL1, ya que su uso mejora notablemente el pronóstico de los pacientes afectados [9]; no obstante, en algunos pacientes se puede generar resistencia a la acción de los inhibidores de tirosina quinasa, incluso a los de segunda generación cuando hay mutaciones puntuales en el dominio quinasa de la proteína BCR-ABL1, duplicación de la secuencia Bcr-Abl1, eflujo del medicamento, secuestro del medicamento o alteraciones en la regulación epigenética, entre otros mecanismos de resistencia [10].

Tabla 1. Principales características de la leucemia mieloide crónica en cada fase de la enfermedad

Característica	Fase crónica	Fase acelerada	Fase blástica
Manifestaciones clínicas	<ul style="list-style-type: none"> Fatiga, pérdida de peso, malestar general, sensación de llenura, esplenomegalia 	<ul style="list-style-type: none"> Empeoramiento de la anemia, la esplenomegalia e infiltración de órganos Su inicio puede ser insidioso 	<ul style="list-style-type: none"> Empeoramiento de los síntomas constitucionales, hemorragia, fiebre e infecciones
Hemograma	<ul style="list-style-type: none"> Anemia, por lo general leve Leucocitosis Trombocitosis o recuento de plaquetas normal 	<ul style="list-style-type: none"> Empeoramiento de la anemia Aumento persistente del recuento de leucocitos Trombocitosis o trombocitopenia que no se relaciona con la terapia 	<ul style="list-style-type: none"> Anemia Trombocitopenia
Extendido de sangre periférica	<ul style="list-style-type: none"> Presencia de todos los estados granulocíticos, en especial mielocitos y polimorfonucleares neutrófilos Basofilia (<20%) Eosinofilia Monocitos <3% Recuento de blastos generalmente < 2% Micromegacariocitos o plaquetas anormales 	<ul style="list-style-type: none"> >20% de basófilos 10% a 19% de mieloblastos Posible displasia granulocítica 	<ul style="list-style-type: none"> Más del 20% de blastos, pueden ser linfoides o mieloides
Aspirado de médula ósea	<ul style="list-style-type: none"> Hiper celular con aumento de serie granulocítica (predominio de mielocitos y polimorfonucleares neutrófilos) y disminución de precursores eritroides Recuento de blastos generalmente menor al 5%, pero pueden ser hasta un 9% Morfología de línea eritroide y granulocítica normal Número variable de megacariocitos, algunos con tamaño reducido y núcleo hipolobulado 	<ul style="list-style-type: none"> Hiper celular 10% a 19% de mieloblastos Mielodisplasia 	<ul style="list-style-type: none"> >20% blastos en el recuento de células nucleadas Se pueden observar cúmulos de blastos

Generalidades de epigenética

Conrad Wadington, en 1939, utilizó por primera vez el término epigenética para describir las interacciones causales entre los genes y sus productos, que dan lugar al fenotipo del individuo. Posteriormente, Arthur Riggs y colaboradores definieron la epigenética como los cambios heredables en la función de los genes y que no se pueden explicar por cambios en la secuencia del ADN [11]. Actualmente, la epigenética se define como como cambios heredables en la expresión de los genes sin alteración de la secuencia de ADN.

Entre los mecanismos epigenéticos se encuentran la acetilación de histonas y la metilación del ADN, siendo este último el más común y por ende, el más investigado. La modulación de la expresión génica mediante la modificación de la estructura de la cromatina está regulada principalmente por la acción de las deacetilasas de histonas (HDAC), las cuales remueven los grupos acetilo de las histonas y el gen se silencia por compactamiento de la cromatina, mientras que las acetilasas de histonas (HAT) adicionan grupos acetilo, lo cual genera una estructura más abierta de la cromatina y promueve la expresión génica (ver figura 1-A). La metilación del ADN (ver figura 1-B) corresponde a la adición, por acción de la enzimas ADN metiltransferasas (DNMTs), de un grupo metilo al carbono 5 del anillo de pirimidina de la ci-

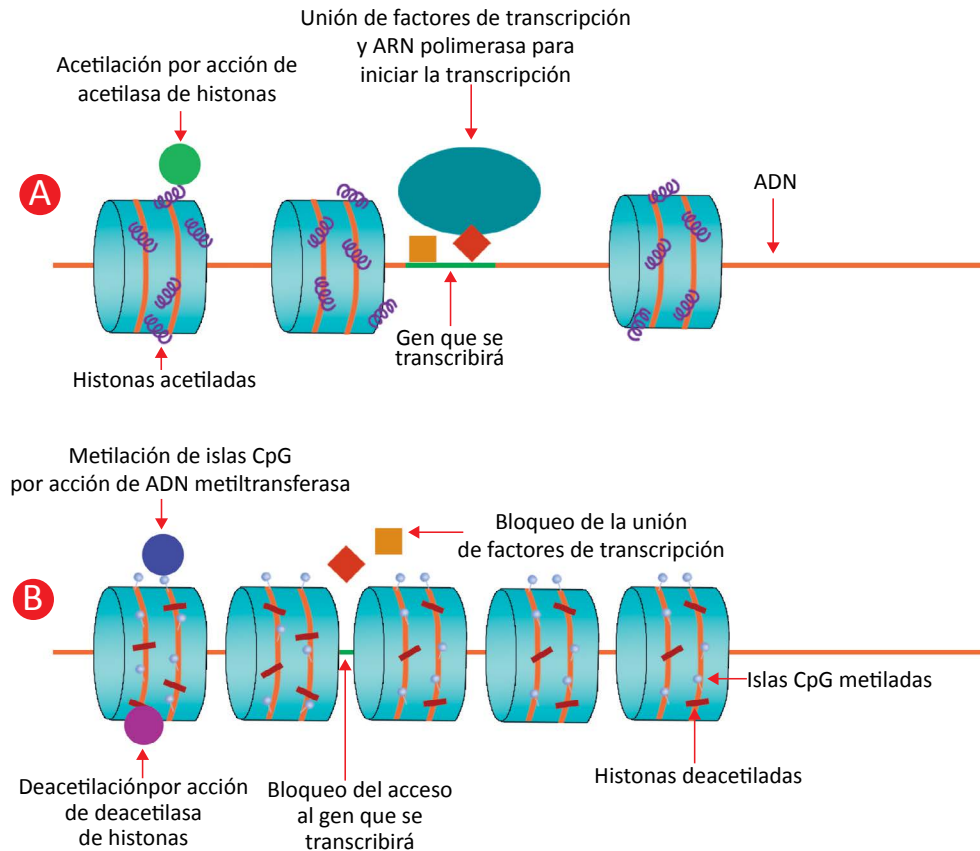


Figura 1. Acetilación y metilación. **A.** Estructura de histonas acetiladas, lo cual favorece la unión de factores de transcripción y de ARN polimerasa para dar inicio a la transcripción. **B.** Estructura del ADN metilado e histonas deacetiladas, lo cual conduce al silenciamiento de genes.

tosina que hace parte de dinucleótidos CpG (citosina fosfato guanina) ubicados generalmente en islas CpG (denominadas así porque están compuestas por mínimo 55% de citosina y guanina), las cuales se encuentran cerca de las secuencias promotoras de aproximadamente el 60% de todos los genes [12].

En condiciones normales, las islas CpG cercanas a promotores están sin metilar, aunque algunos sufren metilación el tejido, mientras que los dinucleótidos guanina-citosina de regiones intergénicas (no codificantes) están metiladas. Cuando hay metilación de las islas CpG, el gen correspondiente se silencia y no se transcribe, debido a la falta de reconocimiento de la secuencia promotora por parte del factor de transcripción [12, 13] (ver figura 2). La metilación es un proceso fisiológico para silenciar algunos genes; de hecho, es uno de los mecanismos normales de inactivación de un cromosoma X en las mujeres [14]. De esta forma, mediante la metilación y la desmetilación se garantiza la estabilidad del genoma y la adecuada producción proteica.

Los fenómenos epigenéticos están implicados en la aparición de muchas enfermedades, incluyendo el cáncer [15]. Existen genes marcadores de hipermetilación que están en estudio y se han propuesto como herramientas complementarias en cuanto al diagnóstico, el pronóstico y la predicción de respuesta al tratamiento en pacientes con ciertas neoplasias. El estudio de este tipo de marcadores se puede realizar en numerosos fluidos corporales e

incluso en biopsias [16]. Algunas de las técnicas utilizadas para la detección de secuencias hipermetiladas de genes son la reacción en cadena de la polimerasa específica de metilación (MS-PCR, por su significado en inglés *methylation-specific polymerase chain reaction*), la secuenciación directa por bisulfito y la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (Q-PCR, por su significado en inglés *quantitative polymerase chain reaction*) [17].

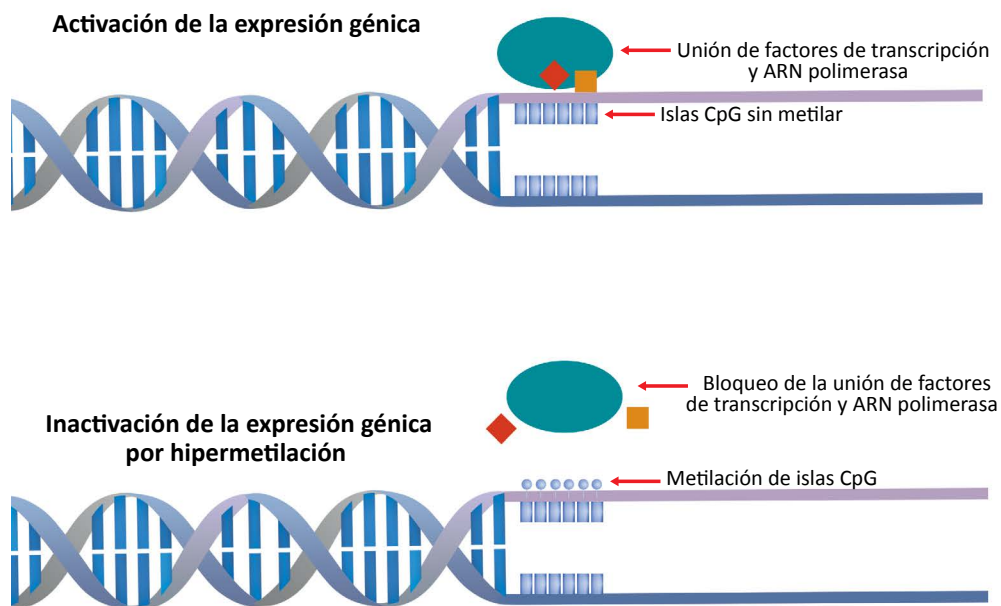


Figura 2. Silenciamiento de genes específicos por hipermetilación de sus secuencias promotoras.

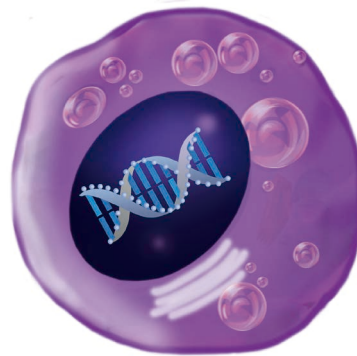
Epigenética y leucemia mieloide crónica

La detección de mecanismos epigenéticos se postula como una herramienta novedosa para dilucidar el proceso de aparición y progresión de la leucemia mieloide crónica. El estudio de estos fenómenos cobra cada día más importancia, debido a que explican parcialmente la variación en el curso de la enfermedad; además, a partir de los resultados obtenidos se generan conocimientos sobre la implementación de medicamentos que contrarresten el efecto de alteraciones epigenéticas relacionadas con el desarrollo de la enfermedad; lo anterior, genera nuevos conceptos en el ámbito de la hemato-oncología y aporta estrategias terapéuticas más acertadas para el tratamiento de pacientes con leucemia mieloide crónica.

Entre los mecanismos epigenéticos involucrados en el desarrollo de neoplasias hematológicas se encuentran la acetilación de histonas, la hipometilación del genoma y la hipermetilación de promotores. En el caso de la acetilación de histonas, su desequilibrio puede conducir a la desregulación transcripcional de genes implicados en la progresión del ciclo celular y la apoptosis [18]. La hipometilación global del genoma es un mecanismo epigenético que puede llevar a la sobreexpresión de genes y a la activación de elementos transponibles [19] mientras que la hipermetilación de las regiones promotoras de genes supresores de tumores participa en el silenciamiento de genes, por lo que se relaciona con el desarrollo, la progresión y la recurrencia de algunas neoplasias hematológicas [2]. En la figura 3 se esquematizan las diferencias en el perfil de metilación entre una célula normal y neoplásica [20].

Célula normal

Metilación de aproximadamente el 70% de los dinucleótidos CpG, en una localización precisa y patrón definido.

**Transformación oncogénica****Célula neoplásica**

Aumento de la metilación en islas CpG, lo que se relaciona con silenciamiento de genes. Hipometilación global del genoma, lo que conduce a inestabilidad genómica y activación de oncogenes.



Figura 3. Diferencias en el perfil de metilación entre una célula normal y una célula neoplásica. Modificado de Melki y colaboradores [20].

Hipermetilación y leucemia mieloide crónica

La metilación en los dinucleótidos CpG no siempre se relaciona con enfermedades o procesos neoplásicos, ya que es un mecanismo importante de regulación de la expresión de factores de crecimiento y sus receptores, citocinas y otras moléculas que participan en el desarrollo celular normal [21]. No obstante, en enfermedades como la leucemia mieloide crónica, mediante hipermetilación de secuencias promotoras de genes, se produce un silenciamiento anormal de genes supresores de tumores y de genes que codifican para moléculas de adhesión, que están involucradas en el control del ciclo celular o en la apoptosis. Se estima que la frecuencia de alteraciones en la hipermetilación es similar a la frecuencia de mutaciones durante el desarrollo y la progresión de dicha neoplasia [22]. En este sentido, en la leucemia mieloide crónica es frecuente la hipermetilación de algunos genes (por ejemplo, ABL1 y SOCS1), lo cual se relaciona con el desarrollo y la progresión de la enfermedad [4, 5, 23].

En varios estudios se ha analizado la hipermetilación de genes en cada etapa de la leucemia mieloide crónica para comprender los mecanismos epigenéticos que inducen la progresión y evaluar una posible asociación con la falla terapéutica en pacientes tratados con Inhibidores de tirosina quinasa. Por ejemplo, con frecuencia se analiza el estado de metilación del gen ABL1, debido a su asociación directa con la t(9;22)(q34;q11.2); Jelinek y colaboradores describen que ABL1 es uno de los genes más alterados, se encuentra hipermetilado en más del 70% de los pacientes [4] y se relaciona con progresión en la enfermedad [21, 24, 25].

Hay otros genes hipermetilados que también influyen en el desarrollo y la progresión de la leucemia mieloide crónica, tales como CALCA (calcitonina), HIC1 (hipermetilado en cáncer), ER (receptor de estrógeno), SOCS1 (supresor de señalización de citocinas), p16 y PDLIM4 (PDZ y dominio LIM4) [4, 21, 23-27], entre otros. HIC1 es un gen supresor de tumores que se silencia mediante mecanismos epigenéticos en leucemias; de hecho, no está metilado en células normales de sangre periférica ni en células CD34 positivas en médula ósea, mientras que está metilado en diferentes fases de la leucemia mieloide crónica [28]. Otro gen frecuentemente estudiado e hipermetilado en esta neoplasia es ER [27], el cual codifica para el receptor del estrógeno y entre sus funciones más importantes se encuentra la activación de la transcripción [29]. Por su parte, SOCS1 es un gen que regula vías de señalización y se encuentra hipermetilado en aproximadamente el 52% al 75% de los pacientes con leucemia mieloide crónica [23, 30]; la proteína codificada por este gen inhibe las vías de señalización de varias moléculas, entre ellas el Factor inhibidor de leucemias (LIF, por su significado en inglés *Leukemia Inhibitory Factor*), por lo que la pérdida de su función es crítica para el inicio y la progresión de la enfermedad, ya que se afecta el control de la proliferación celular. En cuanto a la hipermetilación de genes reguladores de ciclo celular, en algunos pacientes se ha observado la hipermetilación en el promotor del gen CDKN2A (inhibidor de ciclina dependiente de quinasa 2A, también llamado p16) [31]. Para finalizar, PDLIM4 posee propiedades proapoptóticas y se considera un gen supresor de tumores; se ha descrito como un blanco de metilación en diferentes tipos de tejidos, con especial afinidad en líneas celulares de leucemias, y su hipermetilación se relaciona con una disminución en la supervivencia de los pacientes, independiente de la etapa de la neoplasia [4].

■ Hipermetilación y fases clínicas de la leucemia mieloide crónica

La hipermetilación de genes es una alteración epigenética observada y analizada en todas las fases de la leucemia mieloide crónica. Así mismo, se ha demostrado el aumento en la hipermetilación de algunos genes a medida que avanza la fase clínica de la neoplasia y este fenómeno podría tener una relación con la aceleración en el paso de una fase a otra y, por ende, con el pronóstico de la enfermedad.

Algunos estudios en los que se analizan los perfiles de metilación en pacientes con leucemia mieloide crónica validan la asociación entre aumento en la hipermetilación de genes y la evolución de la enfermedad. Jelinek y colaboradores muestran que hay un aumento significativo en la hipermetilación de los genes CDKN2B (inhibidor de ciclina dependiente de quinasa 2B, también llamado p15) y OSCP1, entre otros durante la transición de fase acelerada a crisis blástica [4]. Por su parte, HIC1 presenta un aumento en su perfil de metilación entre la fase crónica y la crisis blástica, en las cuales se presenta un porcentaje de metilación del 10% y del 15%, respectivamente [28]. Liu y colaboradores describen que alrededor del 46% de los pacientes presentan hipermetilación del gen SOCS1 en fase crónica, mientras que el 67% la presentan en la crisis blástica [23]. Adicionalmente, se ha observado que el silenciamiento del gen regulador del ciclo celular CDKN2A está involucrado en el paso de fase crónica a fase acelerada, y el grado de hipermetilación es mayor en esta última fase [31], similar a lo que sucede con CDKN2B [24].

■ Hipermetilación y resistencia al imatinib

El interferón α fue el primer tratamiento farmacológico que afectó significativamente el curso natural de la leucemia mieloide crónica, ya que indujo la remisión citogenética en un 26%

de pacientes en fase crónica. En la actualidad, el enfoque terapéutico se basa en el uso de inhibidores de tirosina quinasa; el imatinib fue el primer inhibidor introducido en el medio y su uso proporcionó una alta tasa de remisión hematológica y de remisión citogenética, 95% y 94%, respectivamente [32], por lo que se convirtió en la mejor opción de tratamiento para pacientes con leucemia mieloide crónica.

Aunque el uso de inhibidores de tirosina quinasa ha representado un éxito en el tratamiento de la enfermedad, se han desarrollado fallas en la respuesta al imatinib y un tercio de los pacientes requieren terapias alternativas. Si bien una de las razones más conocidas es la presencia de mutaciones en el gen BCR-ABL1 que afectan directamente la unión y acción de los inhibidores de tirosina quinasa [33], dichas mutaciones solo pueden explicar el 30% de los casos de falla terapéutica. Una de las causas de falla terapéutica que ha ganado peso en los últimos años es la alteración epigenética, como la hipometilación global del genoma, el desequilibrio entre acetilasas y deacetilasas de histonas y la hipermetilación de genes [34] (ver [tabla 2](#)).

En diversos estudios se ha observado relación entre la hipermetilación y la resistencia al tratamiento. Entre los genes implicados se encuentran OSCP1 (proteína transportadora de solutos orgánicos), NPM2 (nucleofosmina), sFRP1 (proteína 1 relacionada con la familia Frizzled) y ATG16L2 (relacionado con Autofagia 16 tipo 2). OSCP1 codifica para una proteína transportadora de solutos orgánicos con amplia especificidad de sustrato [39], dicha proteína podría estar involucrada en el transporte del imatinib hacia las células neoplásicas; por lo tanto, el silenciamiento del gen podría afectar de manera directa el mecanismo de acción del medicamento, produciendo fallas terapéuticas en pacientes tratados con este; su hipermetilación es exclusiva de pacientes resistentes o intolerantes al imatinib [4]. Por otra parte, NPM2 se encuentra hipermetilado en la línea celular K562 (línea celular de leucemia mieloide crónica) y en pacientes resistentes al imatinib se ha encontrado un estado de hipermetilación significativamente mayor [4]. Otro gen analizado es sFRP1; la hipermetilación en su secuencia promotora se correlaciona con la resistencia al tratamiento con imatinib [36]. Adicionalmente, los pacientes con hipermetilación del gen ATG16L2 desarrollan tasas de remisión molecular menores en comparación con aquellos pacientes sin hipermetilación del gen [37].

En líneas celulares leucémicas (K562 y K562R) se ha observado que el aumento de metilación de los genes MLH1 (homólogo en humanos de Mut1), RPRM (candidato a regulador de detención del ciclo celular en G2 mediado por p53), FEM1B (homólogo B de FEM1) y THAP2 (proteína asociada con apoptosis 2) participa en la resistencia al imatinib [5]. Por otra parte, Eneriz y colaboradores describen que la disminución en la expresión del gen BIM (facilitador de apoptosis tipo 11) está directamente relacionada con una disminución en la efectividad del tratamiento con imatinib [38]. Tratamientos posteriores con agentes hipometilantes apoyan la conclusión de estos dos últimos estudios.

Terapia epigenética en leucemia mieloide crónica

A pesar del carácter heredable de las alteraciones epigenéticas, estas presentan cierta dinámica que permite borrar o escribir información en genes específicos durante el desarrollo embrionario; ello ha permitido suponer que la información epigenética se puede modificar una vez se sepa cómo hacerlo [40]. La terapia epigenética se presenta como una herramienta novedosa, segura y efectiva para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer. Con el uso

Tabla 2. Genes relacionados con la progresión y resistencia al tratamiento de la leucemia mieloide crónica

Gen	Función	Referencia
ABL1 (c-abl oncogen 1)	Protooncogen relacionado con diferenciación celular, división celular y adhesión	Jelinek y colaboradores, 2011 [4]
CDKN2B (o p15, inhibidor de ciclina dependiente de quinasas 2B)	Gen supresor de tumores	Jelinek y colaboradores, 2011 [4]
CDKN2A (o p16, inhibidor de ciclina dependiente de quinasas 2A)	Gen supresor de tumores	Nagy y colaboradores, 2003 [31]
NPM2 (nucleofosmina)	Ensamblaje o transporte al ribosoma	Jelinek y colaboradores, 2011; Kroeger y colaboradores, 2008 [4, 35]
PDLIM4 (PDZ y dominio LIM 4)	Gen supresor de tumores	Jelinek y colaboradores, 2011; You y colaboradores, 2012 [4, 5]
OSCP1 (proteína transportadora de solutos orgánicos 1)	Transporte del imatinib	Jelinek y colaboradores, 2011; Kroeger y colaboradores, 2008; You y colaboradores, 2012 [4, 5, 35]
SOCS1 (supresor de señalización de citoquinas 1)	Regulación negativa de vías de señalización de varias citoquinas	Liu y colaboradores, 2003; Griffiths y colaboradores, 2010 [23, 30]
HIC1 (hipermetilado en cáncer 1)	Regulación del crecimiento, gen supresor de tumores	Uehara y colaboradores, 2012; Bumber y colaboradores, 2007; Fleuriel y colaboradores, 2009 [24, 25, 28]
ER (receptor de estrógeno 1)	Unión al ADN e inicio de la transcripción	Uehara y colaboradores, 2012; Bumber y colaboradores, 2007; Aggerholm y colaboradores, 2006 [24, 25, 27]
CDH1 (cadherina 1)	Adhesión celular	Uehara y colaboradores, 2012; Bumber y colaboradores, 2007 [24, 25]
sFRP1 (proteína 1 relacionada con la familia Frizzled)	Diferenciación y proliferación por modulación de la vía de señalización Wnt.	Pehlivan y colaboradores, 2005 [36]
ATG16L2 (relacionado con autofagia 16 tipo 2)	Apoptosis	Min y colaboradores, 2011 [37]
MLH1 (homólogo en humanos de mutL 1)	Reclutamiento de proteínas para reparación del ADN	You y colaboradores, 2012 [5]
RPRM (candidato a regulador de detención del ciclo celular en G2 mediado por p53)	Control ciclo celular	You y colaboradores, 2012 [5]
FEM1B (homólogo B de FEM 1)	Apoptosis	You y colaboradores, 2012 [5]
THAP2 (proteína asociada con apoptosis 2)	Inducción de apoptosis	You y colaboradores, 2012 [5]
BIM (BCL2L11, facilitador de apoptosis tipo 11)	Inducción de apoptosis	San Jose-Eneriz y colaboradores, 2009 [38]

de esta terapia, se pretende inhibir el efecto de las enzimas ADN metiltransferasas implicadas en el desarrollo y la progresión de la enfermedad.

Hasta el momento, varias clases de terapia epigenética, incluyendo los inhibidores de ADN metiltransferasas y de deacetilasas de histonas, son reconocidas por modificar la información epigenética no específica de genes. Al mismo tiempo, están bajo desarrollo métodos concretos, tales como factores de transcripción sintéticos, oligonucleótidos complementarios metilados dirigidos a genes tumorales y ARN de interferencia, para silenciar genes específicos que están implicados en el proceso tumoral [40]. Las alteraciones epigenéticas, incluyendo la hipermetilación del ADN, parecen desempeñar una función importante en

el silenciamiento transcripcional de genes involucrados con el mecanismo de acción de los medicamentos utilizados para tratar la enfermedad [41]. Debido a esto, en los últimos años ha avanzado el desarrollo de estudios sobre agentes hipometilantes dirigidos a inhibir la acción de las enzimas que participan en el proceso de metilación y de silenciamiento de genes [42, 43]; el uso de agentes desmetilantes ha mostrado disminuir o revertir la hipermetilación en pacientes con leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica y síndromes mielodisplásicos [43].

■ Agentes desmetilantes

En la mayoría de neoplasias hematológicas se ha descrito alta eficacia de ciertos agentes desmetilantes, cuyos protocolos se caracterizan por respuesta a bajas dosis durante largo tiempo de exposición y la consecuente obtención de buenos resultados [40].

Los dos inhibidores de metiltransferasas más estudiados son Azacitidina (5-Azacitidine; 5-Aza-CR) y Decitabina (5-Aza-2'-deoxycytidina; 5-Aza-CdR), ambos análogos de pirimidinas, los cuales al principio fueron sintetizados como agentes citotóxicos y posteriormente se validaron como alternativas terapéuticas en diferentes tipos de cáncer. En la actualidad, la FDA (*Food and Drug Administration*), en Estados Unidos, aprueba su uso para el tratamiento de neoplasias mieloides. A principios de la década de 1980, estos medicamentos potenciales fueron descritos como agentes desmetilantes después de su incorporación en células tumorales en replicación activa. Su actividad anticancerígena se debe principalmente a dos mecanismos: citotoxicidad por incorporación en el ADN genómico (Decitabina) o el ARN (Azacitidina) de la célula blanco, diferenciación por desmetilación de genes supresores de tumores y restauración del crecimiento normal [44-46] (ver [figura 4](#)).

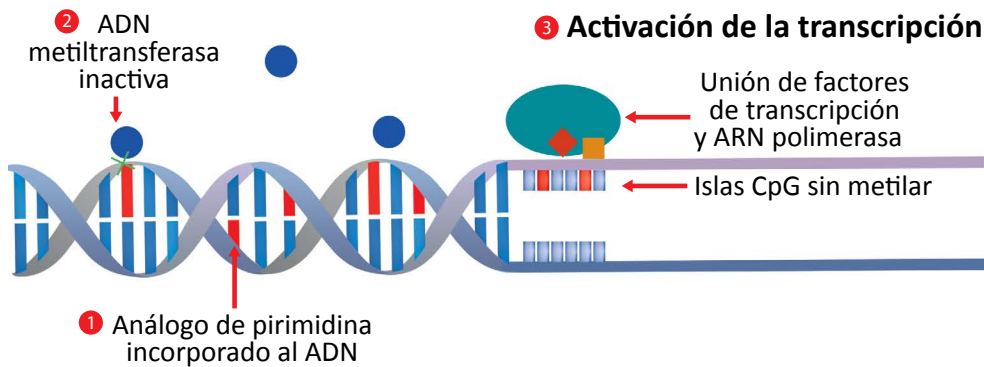


Figura 4. Acción de agentes desmetilantes análogos de pirimidinas. En el caso de la decitabina, (1) ésta se incorpora al ADN y (2) bloquea la unión de las enzimas ADN metiltransferasas, de forma que inhibe su acción y evita el silenciamiento de genes por hipermetilación; como consecuencia, (3) se restaura la transcripción génica y el desarrollo celular normal.

En ocasiones, los agentes desmetilantes Decitabina y Azacitidina hacen parte del esquema de tratamiento en pacientes con leucemia mieloide crónica u otro tipo de neoplasia hematológica [47, 48]. La eficacia del tratamiento con agentes desmetilantes se ha probado en cultivos de células provenientes de pacientes con esta neoplasia en las tres fases clínicas de la enfermedad, con el fin de evaluar la acción del medicamento en diferentes condiciones, y se ha concluido que su uso en dosis controladas produce inhibición de la metilación de

genes en todas las etapas de la neoplasia [43]. Por otro lado, Valdez y colaboradores, confirman que el uso de agentes desmetilantes aumenta la diferenciación celular y lleva a la muerte celular por mecanismos de autofagia y senescencia en líneas celulares de leucemia mieloide crónica, y resaltan cómo estos agentes pueden mejorar la eficacia de la quimioterapia en pacientes con neoplasias hematológicas [41]. En cuanto a su uso en pacientes, se ha descrito la utilidad de la Decitabina como tratamiento de segunda línea en pacientes con resistencia a imatinib, en especial cuando los pacientes se encuentran en fase crónica [49]. De igual forma, Cevera y colaboradores describen que la adición de agentes hipometilantes en la terapia de pacientes con leucemia mieloide crónica resistentes al Imatinib, reduce considerablemente la resistencia al medicamento [42].

Conclusiones

Las modificaciones epigenéticas aberrantes relacionadas con la patogénesis de neoplasias hematológicas abre las puertas al uso de nuevos biomarcadores para la detección temprana de cáncer, el establecimiento del pronóstico y la predicción de respuesta al tratamiento [12]. En este sentido, el análisis de metilación de genes específicos en pacientes con leucemia mieloide crónica se presenta como una herramienta innovadora a la hora de realizar el seguimiento de la enfermedad, de forma que se ofrecen opciones complementarias al esquema terapéutico actual.

Por otra parte, la asociación entre hipermetilación de genes y el desarrollo de resistencia a inhibidores de tirosina quinasa en pacientes con leucemia mieloide crónica, sugiere que el análisis de este tipo de mecanismos epigenéticos podría representar un criterio válido en la selección del tratamiento a implementar cuando se presenta una falla terapéutica y así aumentar la expectativa de vida de los pacientes [35-38]. Por lo anterior, las nuevas opciones terapéuticas basadas en el uso de agentes desmetilantes se perfilan como seguras y eficaces a la hora de tratar pacientes resistentes, ya que se ha comprobado que al implementar estos agentes en conjunto con los tratamientos convencionales aumenta la respuesta al tratamiento [49].

En concordancia con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud [50], en Colombia, el análisis de metilación de genes en pacientes con leucemia mieloide crónica no hace parte de las pruebas de rutina implementadas para el seguimiento de la enfermedad en Colombia y en la actualidad no se encuentran estudios nacionales publicados al respecto. Sin embargo, la detección de los mecanismos epigenéticos en pacientes con esta neoplasia desempeña un papel importante en la comprensión del comportamiento de la enfermedad, de forma que el estudio de fenómenos epigenéticos es una herramienta de apoyo novedosa para el seguimiento de esta neoplasia; así mismo, se pretende que el análisis de metilación complemente la comprensión en la evolución de las fases de la leucemia mieloide crónica, además de brindar datos útiles para mejorar el enfoque terapéutico de los pacientes que desarrollan resistencia al tratamiento de primera línea.

Bibliografía

1. **Tsai HC, Baylin SB.** Cancer epigenetics: linking basic biology to clinical medicine. *Cell Res* 2011; 21: 502-517.
2. **Alvarez S, Suela J, Valencia A, Fernandez A, Wunderlich M, Agirre X, et al.** DNA methylation profiles and their relationship with cytogenetic status in adult acute myeloid leukemia. *PLoS One* 2010; 5: e12197.

3. Wang YL, Qian J, Lin J, Yao DM, Qian Z, Zhu ZH, et al. Methylation status of DDIT3 gene in chronic myeloid leukemia. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 54.
4. Jelinek J, Gharibyan V, Estecio MR, Kondo K, He R, Chung W, et al. Aberrant DNA methylation is associated with disease progression, resistance to imatinib and shortened survival in chronic myelogenous leukemia. *PLoS One* 2011; 6: e22110.
5. You RI, Ho CL, Hung HM, Hsieh YF, Ju JC, Chao TY. Identification of DNA methylation biomarkers in imatinib-resistant chronic myeloid leukemia cells. *Genomic Medicine, Biomarkers, and Health Sciences* 2012; 4: 12-15.
6. Vardiman JW. Myeloproliferative neoplasms. In: Jaffe ES, Harris NL, Vardiman JW, Campo E, Arber D, eds. *Hematopathology*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2011.
7. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2012 update on diagnosis, monitoring, and management. *Am J Hematol* 2012; 87: 1037-1045.
8. Zhang Y, Rowley JD. Chronic myeloid leukemia: current perspectives. *Clin Lab Med* 2011; 31: 687-698, x.
9. Deininger M, O'Brien SG, Guilhot F, Goldman JM, Hochhaus A, Hughes TP, et al. International Randomized Study of Interferon Vs ST1571 (IRIS) 8-Year Follow up: Sustained Survival and Low Risk for Progression or Events in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CML-CP) Treated with Imatinib. *Blood* 2009; 114.
10. Bixby D, Talpaz M. Mechanisms of resistance to tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukemia and recent therapeutic strategies to overcome resistance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009: 461-476.
11. Hirst M, Marra MA. Epigenetics and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 136-146.
12. Florean C, Schnekenburger M, Grandjenette C, Dicato M, Diederich M. Epigenomics of leukemia: from mechanisms to therapeutic applications. *Epigenomics* 2011; 3: 581-609.
13. Gros C, Fahy J, Halby L, Dufau I, Erdmann A, Gregoire JM, et al. DNA methylation inhibitors in cancer: recent and future approaches. *Biochimie* 2012; 94: 2280-2296.
14. Barakat TS, Jonkers I, Monkhorst K, Gribnau J. X-changing information on X inactivation. *Exp Cell Res* 2010; 316: 679-687.
15. Kawasaki H, Abe H. Epigenetics in cancer and inflammation. *Personalized Medicine Universe* 2012; 1: 7-12.
16. Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 1148-1159.
17. Hernández Reyes SC, Universidad de las Américas Puebla. Técnicas de investigación epigenética. Disponible en: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lcf/hernandez_r_sc/ Consultado en mayo de 2013.
18. Advani AS, Gibson SE, Douglas E, Jin T, Zhao X, Kallaycio M, et al. Histone H4 acetylation by immunohistochemistry and prognosis in newly diagnosed adult acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients. *BMC Cancer* 2010; 10: 387.
19. Wilson AS, Power BE, Molloy PL. DNA hypomethylation and human diseases. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1775: 138-162.
20. Melki JR, Clark SJ. DNA methylation changes in leukaemia. *Semin Cancer Biol* 2002; 12: 347-357.
21. Rush LJ, Plass C. Alterations of DNA methylation in hematologic malignancies. *Cancer Lett* 2002; 185: 1-12.
22. Benetatos L, Hatzimichael E, Dasoula A, Dranitsaris G, Tsiara S, Syrou M, et al. CpG methylation analysis of the MEG3 and SNRPN imprinted genes in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2010; 34: 148-153.
23. Liu TC, Lin SF, Chang JG, Yang MY, Hung SY, Chang CS. Epigenetic alteration of the SOCS1 gene in chronic myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2003; 123: 654-661.
24. Uehara E, Takeuchi S, Yang Y, Fukumoto T, Matsuhashi Y, Tamura T, et al. Aberrant methylation in promoter-associated CpG islands of multiple genes in chronic myelogenous leukemia blast crisis. *Oncol Lett* 2012; 3: 190-192.
25. Bumber YA, Kondo Y, Chen X, Shen L, Gharibyan V, Konishi K, et al. RIL, a LIM gene on 5q31, is silenced by methylation in cancer and sensitizes cancer cells to apoptosis. *Cancer Res* 2007; 67: 1997-2005.
26. Olk-Batz C, Poetsch AR, Nollke P, Claus R, Zucknick M, Sandrock I, et al. Aberrant DNA methylation characterizes juvenile myelomonocytic leukemia with poor outcome. *Blood* 2011; 117: 4871-4880.
27. Aggerholm A, Holm MS, Guldborg P, Olesen LH, Hokland P. Promoter hypermethylation of p15INK4B, HIC1, CDH1, and ER is frequent in myelodysplastic syndrome and predicts poor prognosis in early-stage patients. *Eur J Haematol* 2006; 76: 23-32.
28. Fleuriet C, Touka M, Boulay G, Guerardel C, Rood BR, Leprince D. HIC1 (Hypermethylated in Cancer 1) epigenetic silencing in tumors. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 26-33.
29. National Center for Biotechnology information, Gene. ESR1 estrogen receptor 1 [Homo sapiens]. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2099> Consultado el 7 de octubre de 2012.
30. Griffiths EA, Gore SD, Hooker CM, Mohammad HP, McDevitt MA, Smith BD, et al. Epigenetic differences in cytogenetically normal versus abnormal acute myeloid leukemia. *Epigenetics* 2010; 5: 590-600.
31. Nagy E, Beck Z, Kiss A, Csoma E, Telek B, Konya J, et al. Frequent methylation of p16INK4A and p14ARF genes implicated in the evolution of chronic myeloid leukaemia from its chronic to accelerated phase. *Eur J Cancer* 2003; 39: 2298-2305.

32. **Volpe G, Panuzzo C, Ulisciani S, Cilloni D.** Imatinib resistance in CML. *Cancer Lett* 2009; 274: 1-9.
33. **Wongboonma W, Thongnoppakhun W, Auewarakul CU.** A single-tube allele specific-polymerase chain reaction to detect T315I resistant mutation in chronic myeloid leukemia patients. *J Hematol Oncol* 2011; 4: 7.
34. **Wilting RH, Dannenberg JH.** Epigenetic mechanisms in tumorigenesis, tumor cell heterogeneity and drug resistance. *Drug Resist Updat* 2012; 15: 21-38.
35. **Kroeger H, Jelinek J, Estecio MR, He R, Kondo K, Chung W, et al.** Aberrant CpG island methylation in acute myeloid leukemia is accentuated at relapse. *Blood* 2008; 112: 1366-1373.
36. **Pehlivan M, Sercan Z, Sercan HO.** sFRP1 promoter methylation is associated with persistent Philadelphia chromosome in chronic myeloid leukemia. *Leuk Res* 2009; 33: 1062-1067.
37. **Min X, Ying W, Xueqiong W, Ye T, Jianfeng Z, Chunrui L.** 230 A genome-wide screen identifies frequently methylated genes in myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 2011; 35: S90-S91.
38. **San Jose-Eneriz E, Agirre X, Jimenez-Velasco A, Cordeu L, Martin V, Arqueros V, et al.** Epigenetic down-regulation of BIM expression is associated with reduced optimal responses to imatinib treatment in chronic myeloid leukaemia. *Eur J Cancer* 2009; 45: 1877-1889.
39. **Kobayashi Y, Shibusawa A, Saito H, Ohshiro N, Ohbayashi M, Kohyama N, et al.** Isolation and functional characterization of a novel organic solute carrier protein, hOSCP1. *J Biol Chem* 2005; 280: 32332-32339.
40. **Miyamoto K, Ushijima T.** Diagnostic and therapeutic applications of epigenetics. *Jpn J Clin Oncol* 2005; 35: 293-301.
41. **Valdez BC, Li Y, Murray D, Corn P, Champlin RE, Andersson BS.** 5-Aza-2'-deoxycytidine sensitizes busulfan-resistant myeloid leukemia cells by regulating expression of genes involved in cell cycle checkpoint and apoptosis. *Leuk Res* 2010; 34: 364-372.
42. **Cervera E, Candelaria M, Lopez-Navarro O, Labardini J, Gonzalez-Fierro A, Taja-Chayeb L, et al.** Epigenetic therapy with hydralazine and magnesium valproate reverses imatinib resistance in patients with chronic myeloid leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2012; 12: 207-212.
43. **Yang AS, Doshi KD, Choi SW, Mason JB, Mannari RK, Gharybian V, et al.** DNA methylation changes after 5-aza-2'-deoxycytidine therapy in patients with leukemia. *Cancer Res* 2006; 66: 5495-5503.
44. **Ren J, Singh BN, Huang Q, Li Z, Gao Y, Mishra P, et al.** DNA hypermethylation as a chemotherapy target. *Cell Signal* 2011; 23: 1082-1093.
45. **Leone G, Voso MT, Teofili L, Lubbert M.** Inhibitors of DNA methylation in the treatment of hematological malignancies and MDS. *Clin Immunol* 2003; 109: 89-102.
46. **Santini V, Kantarjian HM, Issa JP.** Changes in DNA methylation in neoplasia: pathophysiology and therapeutic implications. *Ann Intern Med* 2001; 134: 573-586.
47. **Altucci L, Clarke N, Nebbioso A, Scognamiglio A, Gronemeyer H.** Acute myeloid leukemia: therapeutic impact of epigenetic drugs. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 1752-1762.
48. **Christman JK.** 5-Azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: mechanistic studies and their implications for cancer therapy. *Oncogene* 2002; 21: 5483-5495.
49. **Issa JP, Gharibyan V, Cortes J, Jelinek J, Morris G, Verstovsek S, et al.** Phase II study of low-dose decitabine in patients with chronic myelogenous leukemia resistant to imatinib mesylate. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3948-3956.
50. **Vardiman JW, Melo JV, Baccarini M, Thiele J.** Chronic myelogenous leukemia, BCR-ABL1 positive. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al., eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues (ed 4th). Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2008.