

Epigenética en Leucemia Mieloide Aguda

Béguelin Kehoe P., Freitas J., Oliveira N.

E-mail mjosefinafreitas@hotmail.com

Hospital Nacional Prof. Dr. Alejandro Posadas.
Pte Illia s/n y Marconi. El Palomar (1684)



ARTÍCULO
DE REVISIÓN

Fecha de recepción: 21/05/2012
Fecha de aprobación: 02/06/2012

HEMATOLOGIA, Vol. 16 N° 3: 176-184
Septiembre-Diciembre, 2012

RESUMEN

La leucemia mieloide aguda (LMA) es una enfermedad heterogénea caracterizada por una proliferación clonal de células precursoras hematopoyéticas. Esto resulta en la alteración de la hematopoyesis normal y el fracaso medular. Los factores pronósticos más importantes incluyen los marcadores citogenéticos, moleculares y la edad de los pacientes. No obstante, la mayoría de los pacientes presenta un cariotipo normal al diagnóstico lo que dificulta predecir su evolución a largo plazo.

La genética por sí sola no permite explicar la diversidad de fenotipos dentro de una población, así como tampoco las diferentes susceptibilidades de sus integrantes a determinadas enfermedades. La epigenética surge como un puente entre las interacciones genéticas y el medio ambiente. Involucra cambios terapéuticamente reversibles a nivel de la expresión génica sin modificaciones en la secuencia del ADN (ácido desoxirribonucleico).

El tratamiento quimioterápico actual induce la remisión completa entre el 70 y el 80% de los pacientes pero la mayoría recae y muere.

Las modificaciones epigenéticas podrían ser potencialmente útiles en el diagnóstico temprano como factores pronósticos, predictores de respuesta al tratamiento farmacológico, de la evolución de la enfermedad así como también blancos terapéuticos.

Palabras claves: epigenética, leucemia mieloide aguda, metilación, acetilación, microARN.

ABSTRACT

Acute myeloid leukemia (AML) is a heterogeneous disease characterized by clonal proliferation of hema-

topoietic precursor cells. This results in the disruption of normal hematopoiesis and bone marrow failure. The most important prognostic factors include cytogenetic and molecular markers, and patient age. However, most patients have a normal karyotype at diagnosis making it difficult to predict long-term evolution.

Genetics alone cannot explain the diversity of phenotypes within a population, nor the different susceptibilities of its members to certain diseases. Epigenetics emerges as a bridge between genetic interactions and the environment. It involves therapeutically reversible changes at the level of gene expression without changes in the sequence of DNA (deoxyribonucleic acid).

Current chemotherapy treatments induce complete remission in 70 to 80% of patients but most of them relapse and die.

Epigenetic modifications could potentially be used as prognostic factors in early diagnosis, predictors of both response to drug treatment and disease progression, and may be used as therapeutic targets.

Key words: epigenomics, leukemia myeloid acute, methylation, acetylation, microRNA.

INTRODUCCIÓN

La leucemia mieloide aguda (LMA) es una enfermedad heterogénea caracterizada por una proliferación clonal, de células precursoras hematopoyéticas. Esto resulta en la alteración de la hematopoyesis normal y el fracaso medular. Es el tipo más común de leucemia aguda en la población adulta; entre el 80-90% de los casos se presenta en adultos mayores. La mortalidad es elevada y se asocia directamente con

la enfermedad o con las complicaciones relacionadas con el tratamiento. En la mayoría de los casos no es posible identificar su etiología.

Actualmente, los factores pronósticos más importantes en la evolución de la LMA incluyen los marcadores citogenéticos, moleculares y la edad de los pacientes. No obstante, la mayoría de los pacientes presenta un cariotipo normal al diagnóstico lo que dificulta predecir su evolución a largo plazo.

A pesar de los recientes progresos, la LMA continúa siendo una enfermedad fatal. La quimioterapia induce la remisión completa entre el 70 y el 80% de los pacientes pero la mayoría recae y muere. Los tratamientos de consolidación más intensivos podrían prevenir la recaída pero se asocian a una alta mortalidad relacionada al procedimiento. Por lo tanto es crucial identificar a los pacientes que se beneficiarán con una terapia más agresiva y, a su vez, evitar tratamientos intensivos en pacientes con buen pronóstico.

En las últimas décadas, grandes avances han contribuido a un mayor entendimiento del proceso biológico de las células neoplásicas, que subyace al inicio y progresión de la enfermedad. Varios estudios evidencian cambios terapéuticamente reversibles en el nivel de expresión génica sin modificaciones en la secuencia del ADN (ácido desoxirribonucleico). Surge así el concepto de epigenética. Las modificaciones epigenéticas podrían ser potencialmente útiles en el diagnóstico temprano de enfermedades, como factores pronósticos, predictores de respuesta al tratamiento farmacológico, de la evolución de la enfermedad, así como también blancos terapéuticos.

Introducción a la epigenética

El origen del concepto data de la época de Aristóteles quien sostenía la creencia en la epigénesis como un proceso de "sintonización" final mediante el cual cada individuo se adapta en forma eficiente a su entorno a partir de las capacidades contenidas en su código genético. Ya en el siglo XXI, el concepto ha evolucionado y se define a la misma como la ciencia encargada de estudiar las alteraciones en la expresión de genes que surgen durante el desarrollo y la proliferación celular, a través de procesos que no modifican la información contenida en el material genético, pero que modulan la expresión génica a través de modificaciones específicas¹. Los procesos epigenéticos son componentes esenciales en el desarrollo y funcionamiento normal de las células y comprenden: la metilación del ADN, las modificaciones en las histonas y la expresión de microARN.

Componentes de la maquinaria epigenética

En la regulación epigenética participan distintas enzimas, como las DNA metil transferasas (DNMTs), MBDPs (del inglés "methyl binding protein"), histona deacetilasas (HDACs), histona acetil transferasas (HATs), histona metil transferasas (HMTs) y PcG (del inglés "polycomb group proteins"), las cuales están implicadas en la remodelación de la cromatina.

La metilación del ADN es el marcador epigenético mejor estudiado. Conduce a la represión de la transcripción o silenciamiento genómico, ya sea bloqueando la unión de los factores de transcripción al ADN o por reclutamiento de complejos co-represores. Este proceso ocurre en el carbono 5' de las citosinas que preceden a guaninas (CpG). Los sitios CpG se encuentran distribuidos en regiones ricas en estos dinucleótidos conocidas como islas CpG, que se encuentran en el extremo 5' de la región promotora de muchos genes.

Las islas CpG están normalmente hipometiladas, mientras que los dinucleótidos que se encuentran fuera de las mismas están metilados².

La hipermetilación de las islas CpG evita la reactivación de elementos transponibles protegiendo la integridad cromosómica, previniendo su inestabilidad como las traslocaciones y la interrupción génica³.

Otros procesos epigenéticos que utilizan las células para regular la expresión génica, son las modificaciones químicas de las histonas.

Las histonas son estructuras moleculares que almacenan información epigenética a través de modificaciones postraduccionales: acetilación, metilación y fosforilación. La principal modificación postraduccional es la acetilación⁴.

La acetilación de las histonas mediada por las HATs se asocia a un estado transcripcionalmente activo de la cromatina, mientras que la remoción del grupo acetilo llevada a cabo por las HDACs resulta en la represión transcripcional.

Las consecuencias funcionales de la metilación dependen del tipo de residuo de las histonas y del sitio específico modificado.

Las células normales requieren un preciso equilibrio para mantener al ADN nucleosomal, ya sea en una forma activa o en otra inactiva. De esta manera surge el concepto de un modelo flexible pero a la vez preciso de metilación del ADN y modificaciones de histonas, esencial para las actividades fisiológicas de células y tejidos. (Figura 1).

Los microARN (miARN) también forman parte de la maquinaria epigenética. Son secuencias de ARN monocatenario no codificante compuestos por 22 nucleótidos. Los microARNs maduros se unen a una

ribonucleoproteína conformando un complejo llamado RISC (del inglés RNA induced silencing complex). El complejo RISC-miARN se une a la región 3' del ARN mensajero (ARNm) blanco, donde se encuentran secuencias de regulación para la transcripción y tra-

ducción. De esta manera se produce el silenciamiento de determinados genes con la resultante inhibición de la traducción proteica. (Figura 2). Cada miARN puede tener distintos ARNm blanco⁵. Cuando un miARN está regulado en menos y su blanco es un

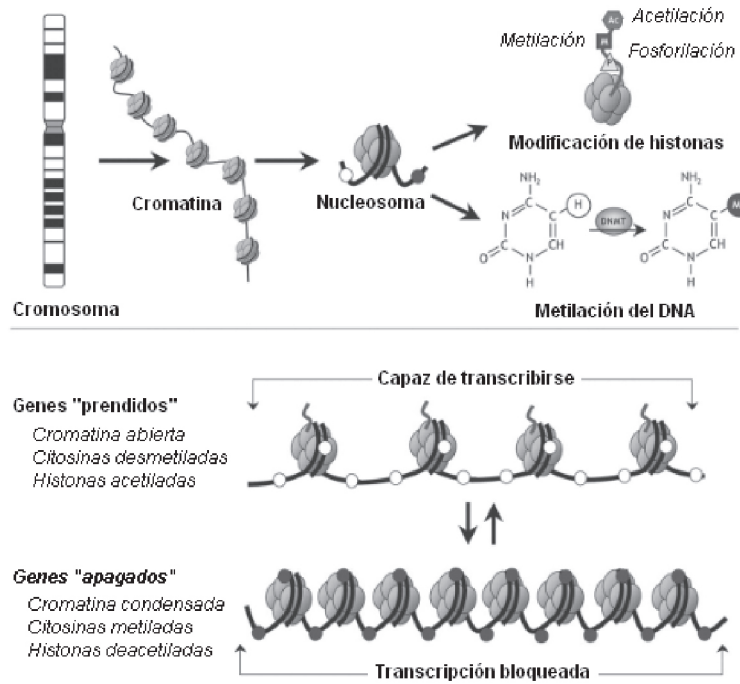


Fig. 1.– Esquema de modificaciones epigenéticas. Modificado de Rodenhiser D et al. *Epigenetics and human disease*. CMAJ 2006,31; 174(3):341-8

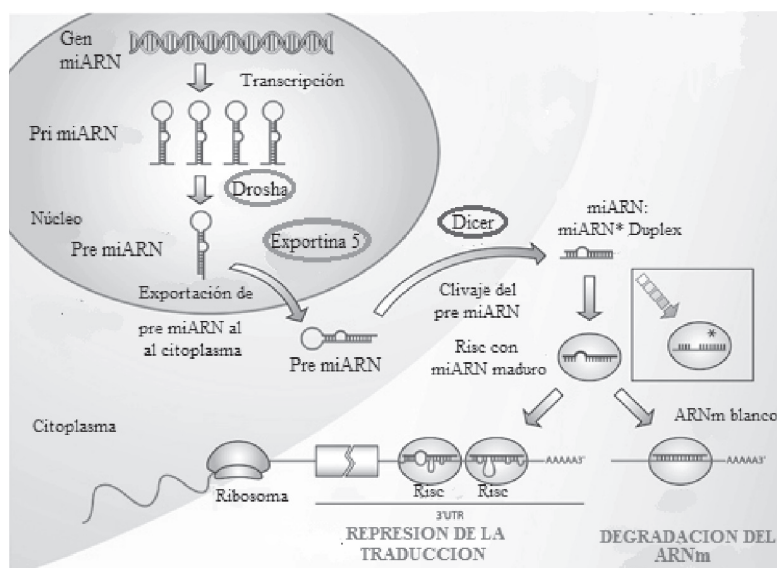


Fig. 2.– Síntesis de microARN. Modificado de Liu Hu *Nat Rev Genetics* 2004

oncogén favorecería el desarrollo neoplásico, mientras que cuando está sobreexpresado actúa como un supresor tumoral⁶.

La información epigenética determina patrones en todo el genoma, que son específicos de cada tejido. Durante la enfermedad, estos patrones se encuentran alterados.

A diferencia de los cambios genéticos, los cambios epigenéticos son reversibles y otorgan plasticidad fenotípica. La mayoría de los genes afectados son genes supresores de tumores que están implicados en la regulación del ciclo celular, la reparación del ADN, la apoptosis, la angiogénesis, la invasión y adhesión celular⁷. Junto con los cambios fenotípicos celulares y la acumulación de alteraciones genéticas implicados en el desarrollo de la enfermedad existe una progresiva hipometilación global del ADN, una mayor frecuencia de islas CpG hipermetiladas y un mayor desequilibrio en las modificaciones de las histonas.

Epigenética y LMA

Diversos estudios se realizaron con el objetivo de descubrir un fenotipo metilador característico de la LMA. En la década del 90 se constató que la hipermetilación comprometía a dos o más genes simultáneamente, y que existía una desregulación general en la metilación de las islas CpG⁸. Más tarde se estudiaron grupos mayores de genes y se observó que el fenotipo metilador afectaba tanto la cantidad de genes metilados como la densidad de metilación en cada uno de ellos, siendo esta última una característica crítica en el grado de silenciamiento génico⁹.

En el contexto de una transformación maligna se produce un cambio en el perfil de la metilación: se observa una hipometilación global del genoma asociada a una hipermetilación del promotor de determinados genes¹⁰.

Los mecanismos que protegen a las islas CpG de la metilación son desconocidos, al igual que el estímulo que gatilla la hipermetilación en el cáncer. Uno de los mecanismos propuestos es el reclutamiento de DNMTs en regiones promotoras blanco, mediante la acción de proteínas de fusión. Las proteínas de fusión PML-RAR α y AML1-ETO actúan por este mecanismo¹¹. Ambas proteínas, además, reclutan HDACs a la región promotora como parte del proceso epigenético de silenciamiento¹².

Metilación del ADN en LMA

Griffiths y colaboradores estudiaron 169 pacientes con LMA, de los cuales 106 presentaban un cariotipo normal con el objetivo de conocer la metilación de

genes ya conocidos¹³. Los genes SOCS1 y p15 fueron los más frecuentemente metilados, seguidos de p73 y CDH1. No se encontraron diferencias significativas entre los distintos grupos de riesgo citogenético. La metilación de genes supresores de tumores fue más frecuente en los pacientes con cariotipo normal, a excepción del p73. Esto sugiere que los pacientes con cariotipo normal podrían tener un mayor grado de alteraciones epigenéticas. A su vez, la cantidad de genes metilados fue una variable independiente de la presencia de FLT3-ITD o mutaciones de NPM1.

Subtipos de LMA según el patrón de metilación del ADN

Figueroa y colaboradores estudiaron el silenciamiento de CEBPA¹⁴. Este gen se encuentra mutado en un 5 al 15% de las LMA¹⁵ y también puede ser reprimido por oncogenes como AML1-ETO o modificado a nivel postraduccional por medio de FLT3¹⁶. Las LMAs con mutación de CEBPA presentan un comportamiento diferente de otros subtipos de las LMAs. Sin embargo existe un pequeño grupo de LMAs sin mutación de CEBPA, con muy mal pronóstico, que tiene un patrón de expresión de genes similar a las mutadas. Una característica de este pequeño grupo es la hipermetilación de las islas CpG del promotor de CEBPA, lo cual provoca el silenciamiento de la expresión de este gen (CEBPA-sil)¹⁷. Estos datos llevaron al equipo de Figueroa a cuestionarse si el silenciamiento de CEBPA era un evento aislado o si formaba parte de un conjunto más grande de modificaciones epigenéticas. Observaron que en el grupo de LMAs con CEBPA-sil existía hipermetilación aberrante de muchos otros genes al compararla con el grupo de LMAs con CEBPA mutado y con células CD34+ normales. Tras describir un perfil de metilación global en las LMAs con CEBPA-sil, las cuales presentaban características biológicas distintivas de las demás LMAs, el grupo de Figueroa estudió en 344 pacientes con LMA de novo, la metilación de más de 50.000 dinucleótidos CpG. Se observó que la manera en que se metilaban los genes no era una característica propia y aislada de cada paciente sino un patrón que se repetía en las distintas muestras. Al agrupar a los pacientes según el patrón de metilación que presentaban obtuvieron 16 grupos de pacientes. Así describieron 16 patrones diferentes de metilación del ADN en la LMA. Cada patrón está conformado por un grupo de pacientes con características diferenciales. Tres grupos corresponden a los subtipos de buen pronóstico de LMA definidos por la clasificación de la OMS de 2008. El grupo 1 presenta inv (16), t (16; 16) o el gen de

fusión CBFb-MYH11. La mayoría de los casos del grupo 3 porta la t (8; 21) a excepción de 9 casos que no presentan esta característica citogenética ni el gen de fusión AML1-ETO, pero que comparten similares curvas de supervivencia. El grupo 6 tiene t (15; 17) o el rearrreglo PML-RAR α . Ocho grupos presentan lesiones genéticas o epigenéticas específicas (como por ejemplo la mutación de NPM1, t (v; 11q23), CEBPA-dm o CEBPA-sil). Los cinco grupos restantes no se correlacionan con ninguna característica morfológica, citogenética ni molecular. Lo llamativo de estos grupos es que la metilación aberrante no afecta a genes desvinculados entre sí, sino a conjuntos de genes que se correlacionan con funciones fisiológicas.

Los patrones correspondientes a los grupos 1, 3, 4, 6 y 9 fueron de buen pronóstico, los 5, 7 y 8 marcaron pronóstico intermedio, y los correspondientes a los grupos 2 y 15, mal pronóstico. Cabe destacar que la importancia de estos 16 grupos no reside solamente en la correlación entre los fenómenos epigenéticos y la expresión génica sino también en que la mayoría de los grupos marcan un pronóstico clínico. Refleja además la habilidad de los perfiles de metilación del ADN para identificar subgrupos de pacientes con igual pronóstico más allá de las características citogenéticas y moleculares¹⁸.

Álvarez y colaboradores también intentaron establecer una correlación entre el perfil de metilación del ADN y el pronóstico en pacientes con LMA, utilizando otras técnicas de estudio de metilación del ADN¹⁹. Si bien no lograron correlacionar el perfil de metilación con el pronóstico clínico, encontraron relevante la hipermetilación del promotor de DBC1 como factor predictivo de pronóstico adverso. Lo interesante de esta observación es que podría ser útil como marcador en pacientes con LMA con cariotipo normal.

Genes relevantes en LMA con expresión modificada epigenéticamente

A continuación se describen algunos de los genes más extensamente estudiados a la fecha:

- p15: es un inhibidor de kinasas dependientes de ciclinas. Controla la progresión del ciclo celular en la fase G1 temprana. La metilación es la principal forma de inactivación de p15 en la LMA, observándose en un 80% de los casos²⁰. Dicho evento se ha identificado como un marcador de recaída en pacientes con LMA en remisión²¹.
- STAT: el 50% de las LMA tiene activación constitutiva de STAT3²², y la supervivencia libre de enfermedad es considerablemente inferior en este grupo

de pacientes²³. Su activación constitutiva ocurre cuando sus inhibidores se encuentran subexpresados, utilizando la hipermetilación como mecanismo epigenético^{24,25}.

- E-Cadherina: La hipermetilación aberrante del promotor de e-cadherina lleva a la subexpresión de esta molécula y contribuye con la patogénesis de la LMA. La función de la e-cadherina podría estar relacionada con la migración de las células hematopoyéticas, y la hipermetilación de su promotor podría asociarse a recuentos elevados de células leucémicas en sangre periférica de pacientes con LMA. La frecuencia con que esto ocurre varía, según las series, entre un 33 y un 82% de los casos^{26, 27}. La supervivencia media se encuentra francamente disminuida.

Modificaciones de histonas en LMA

Es extensa la información que existe sobre alteraciones en la acetilación y la metilación de histonas, pero puntualmente en LMA un pequeño número de enzimas fue estudiado en forma acabada. A continuación se describen dos de ellas, una histona metil transferasa (HMT) y una histona acetil transferasa (HAT):

MOZ: es una HAT que presenta dos dominios mediante los cuales se une al nucleosoma y al ADN²⁸. MOZ funciona también como un co-activador transcripcional de factores de transcripción generales y de factores de transcripción hematopoyéticos²⁹. Las traslocaciones relacionadas a MOZ se observaron en el 6.5% de las leucemias monocíticas (subtipos M4 y M5 de la clasificación FAB)³⁰. La actividad de acetiltransferasa de la proteína de fusión no siempre es exactamente la misma que la de MOZ normal, ya que puede estar exacerbada e hiperacetilar o disminuída e hipoacetilar. De esta manera, la histona hipo o hiperacetilada interactúa de manera diferente con el promotor que afecta y el gen regulado se puede expresar en más o en menos.

MLL: Se trata de una HMT que metila la lisina 4 de la histona 3 (H3K4), lo cual es fundamental para la activación génica³¹. Los rearrreglos de MLL se ven en un subgrupo de pacientes con leucemia, entre los cuales se incluyen algunos con leucemia secundaria a tratamiento. La presencia de rearrreglos de MLL predice recaídas tempranas y mal pronóstico³².

Micro ARN en LMA

Existen diversos estudios que confirman la amplia participación de los miARNs en las diferentes enfer-

medades oncológicas observándose en las células tumorales una menor expresión global de los miARNs comparadas con las células normales^{33,34}.

En los últimos años se han publicado cinco estudios importantes en los cuales los autores buscaron, por un lado, determinar la expresión cuantitativa de los miARNs en blastos leucémicos comparado con células CD34+ de médula ósea sana y, por otro lado, determinar si es posible reconocer los distintos patrones de expresión de los miARNs que se correlacionen con los subgrupos de riesgo citogenético ya conocidos. Todas las observaciones coincidieron en que los miARNs expresados en las células leucémicas siempre mostraron patrones diferentes a los de las células CD34+ progenitoras sanas³⁵.

Entre los diferentes estudios sólo se lograron identificar algunos miARNs que se asociaron a los distintos grupos de riesgo citogenéticos y moleculares³⁶.

Jongen-Lavrencic, Li y Cammarata observaron que las LMA con la t (8; 21) o la inv (16), muestran la sobreexpresión del miR126. Este miARN inhibe la apoptosis y aumenta la viabilidad de células neoplásicas. Este mecanismo epigenético, al igual que AML1/ETO, otorga a las células malignas una ventaja proliferativa³⁷. También se reportó, en otro estudio, la subexpresión de miR-221, que conlleva a una mayor expresión del gen KIT por ser este último su gen blanco³⁸.

En el grupo de LMA con la t (15; 17) hubo mayor consenso en cuanto a la expresión de miARNs entre los distintos estudios. En este grupo citogenético se observó que los miR127, miR323, miR368 y miR382 estaban sobreexpresados^{36, 37, 39}.

En los casos que presentan el gen de fusión CBFb-MYH11, tanto Garzón como Cammarata reportaron la subexpresión de la familia de los miR-29: miR-29a, miR-29b y miR29c. En células sanas los miembros de esta familia inhiben la expresión de las DNMT3A y DNMT3B. La resultante de este cambio es la hipometilación global del ADN con la reexpresión de genes supresores tumorales como RE y p15⁴⁰. Esto demuestra que los mecanismos epigenéticos, más que procesos independientes, son una extensa red de señalización que regula la expresión génica.

Ante la presencia de rearrreglos del gen MLL varios investigadores observaron la sobreexpresión del miR-196b; su sobreexpresión produce un aumento en la proliferación y capacidad de sobrevivida como así también el bloqueo de la diferenciación^{39, 41, 42}.

Con respecto a las LMA que presentan mutaciones de FLT3 (FLT3-ITD), tres investigadores comparan la observación de tres miARNs sobreexpresados: miR-10a, miR-10b y miR-155^{35, 36, 42}. Este último es un potente inhibidor de la diferenciación mieloide.

La pérdida de la actividad de CEBPA bloquea la diferenciación granulopoyética y contribuye con la transformación leucémica. Dos grupos de investigación reportaron una sobreexpresión del miR-181a y miR-181b asociada a la mutación del CEBPA en pacientes con LMA con cariotipo normal⁴³.

En las LMA con mutación de NPM, tres estudios observaron la sobreexpresión de los miR-10a, miR-10b, las familias de los miARNs supresores tumorales let-7 y miR-29^{36, 42, 44}. Además de regular las DNMTs, el miR-29 disminuye el crecimiento celular e induce la apoptosis al inhibir a su gen blanco Mcl-1⁴⁵.

Las investigaciones sobre miARN en LMA publicadas hasta la fecha no presentan resultados del todo concordantes. Dada la gran cantidad de miARNs existentes, es comprensible la escasa coincidencia. La gran heterogeneidad de moléculas implicadas en este escenario y el limitado conocimiento al respecto nos genera la impresión de encontrarnos frente a piezas aisladas de un gran rompecabezas.

Perspectivas de tratamiento dirigido a blancos epigenéticos en LMA

Una estrategia terapéutica cuyo blanco contemple los mecanismos genéticos, moleculares y epigenéticos permitiría un abordaje individualizado para cada paciente.

La diferencia fundamental entre las alteraciones genéticas y epigenéticas es la naturaleza irreversible de las primeras, mientras que algunas de las últimas son potencialmente reversibles permitiendo su intervención terapéutica.

La hipermetilación aberrante presente en las leucemias resulta en una supresión de la función génica. De este modo, la demetilación del ADN con el uso de agentes hipometilantes podría resultar en la reactivación de genes silenciados y así indirectamente dar lugar a la supresión del clon leucémico. En los últimos años se han desarrollado fármacos con el objetivo de aumentar la eficacia terapéutica y disminuir la toxicidad asociada al tratamiento⁴⁶.

La azacitidina (5-aza) y la decitabina son dos potentes agentes inhibidores de las DNMTs, interrumpiendo su interacción con el ADN. La depleción de las DNMTs ocasiona una pérdida progresiva del estado de metilación de las células hijas luego de sucesivas replications⁴⁷.

La inhibición de la actividad de las HDACs es otro enfoque prometedor para restablecer la expresión génica.

Distintos HDACi (inhibidores de HDAC), como el fenilbutirato de sodio,⁴⁸ el ácido valproico,⁴⁹ el depsi-

péptido FK228,⁵⁰ MS-275,⁵¹ LBH589⁵² y MGCD0103⁵³. fueron empleados como monoterapia en pequeñas cohortes de pacientes con LMA, con respuestas fallidas.

Los resultados de los estudios previamente descritos motivó el desarrollo de terapias combinadas dirigidas a mejorar las tasas de respuesta, duración y finalmente la sobrevida de estos pacientes. Uno de estos enfoques es el uso de agentes hipometilantes asociados con HDACi^{54,55}. No obstante, dado que estas drogas no se dirigen a una molécula blanco específica, los efectos idiosincráticos de los agentes hipometilantes y los HDACi podrían tener consecuencias no previstas en lo que respecta a la expresión de genes y, en forma paradójal, favorecer el crecimiento y desarrollo del tumor.

Actualmente, múltiples estudios con terapias combinadas se encuentran en desarrollo. Todos ellos incluyen pequeñas cohortes de pacientes, cuyos resultados a la fecha no son estadísticamente significativos. Se plantean nuevas perspectivas para el desarrollo de terapias epigenéticamente dirigidas con el uso de factores de transcripción específicos de genes blanco.

CONCLUSIONES

Las aberraciones citogenéticas y moleculares específicas de cada subtipo de LMA no son suficientes para explicar la historia natural de la enfermedad.

El drástico desarrollo en el campo de la epigenética permitió comprender nuevos aspectos fisiopatogénicos de una gran cantidad de enfermedades. El área de la oncohematología no quedó exenta de estos avances.

La mayoría de los esfuerzos para caracterizar diferentes alteraciones epigenéticas en la LMA que se correlacionaran con los aspectos clínicos fueron infructuosos. Numerosos grupos de investigación se avocaron a la búsqueda de conjuntos de genes específicos cuya regulación epigenética estuviese alterada, pero hasta la fecha no se han logrado determinar tales grupos de genes. En los últimos dos años, el enfoque de las publicaciones sobre metilación del ADN en la LMA ha cambiado; el objetivo apunta a establecer patrones de metilación globales que puedan relacionarse con la evolución clínica de la enfermedad. A la luz de los resultados de los trabajos que investigan los patrones de metilación, esta perspectiva parece ser más acertada y promisoría.

Los estudios basados en la expresión de los miARNs evidencian una importante falta de consenso entre los distintos grupos de investigadores. Esto puede deberse a que como es un área que se

encuentra en pleno desarrollo y expansión, no existe aún un método estandarizado para su análisis. De las diferentes publicaciones se desprende que el rol que juegan estas moléculas es fundamental en el control de múltiples funciones fisiológicas y patológicas. El reconocimiento de patrones de expresión específicos y marcadores biológicos para la LMA son el principal estímulo para continuar en el camino de la investigación. Es necesario establecer técnicas estandarizadas, reproducibles y confiables para poder validar los datos hallados. Las perspectivas futuras apuntan a crear una "biblioteca" de miARNs; de este modo se logrará caracterizar de una manera adecuada y precisa los distintos subtipos de LMA.

En los últimos treinta años, el tratamiento de la LMA no ha modificado sus bases racionales. El pilar continúa siendo el uso de agentes antraciclínicos. Actualmente, un gran número de fármacos con capacidad de alterar la dinámica epigenética de las células neoplásicas está bajo investigación en ensayos clínicos, ya sea como agentes únicos o en combinaciones.

En resumen, el aporte de la epigenética hoy permite una mayor comprensión de los mecanismos que subyacen a la leucemogénesis. Su aplicación en la práctica clínica todavía no es factible. La principal perspectiva a futuro apunta a establecer un diagnóstico temprano, determinar grupos de riesgo, definir factores pronósticos y predictores de respuesta al tratamiento e individualizar la terapéutica basándose en el perfil epigenético de cada paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Crews D, McLachlan JA. Epigenetics, Evolution, Endocrine, Disruption, Health, and Disease. *Endocrinology* 2006; 147(6): S4-S10.
2. Antequera F, Bird A. CpG islands. *EXS* 1993; 64:169-85.
3. Xu GL, Bestor TH, Bourc'his D et al. Chromosome instability and immunodeficiency syndrome caused by mutations in DNA methyltransferase gene. *Nature* 1999; 402:187-91.
4. Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science* 2001; 293:1074-80.
5. Wieser R, Scheideler M, Hackl H et al. microRNAs in Acute Myeloid Leukemia: Expression Patterns, Correlations With Genetic and Clinical Parameters, and Prognostic Significance. *Genes, Chromosomes and Cancer* 2010; 49: 193-203.
6. Jongen-Lavrencic M, Sun SM, Dijkstra MK et al. Micro RNA expression profiling in relation to the heterogeneity of acute myeloid leukemia. *Blood* 2008; 111: 5078-85.
7. Feinberg AP, Tycko B. The history of cancer epigenetics. *Nat Rev Cancer* 2004; 4:143-53.
8. Melki JR, Vincent PC, Clark SJ. Concurrent DNA hypermethylation of multiple genes in acute myeloid leukemia. *Cancer Res.* 1999; 59:3730-40.
9. Toyota M, Koyanagi K, Toyota MO et al. Methylation profiling in acute myeloid leukemia. *Blood* 2001; 97:2823-29.
10. Costello JF, Plass C. Methylation matters. *J Med Genet* 2001; 38:285-303.

11. Di Croce L, Raker VA, Corsaro M, et al. Methyltransferase recruitment and DNA hypermethylation of target promoters by an oncogenic transcription factor. **Science**. 2002; 295:1079-82.
12. Liu S, Shen T, Huynh L et al. Interplay of RUNX1/MTG8 and DNA methyltransferase 1 in acute myeloid leukemia. **Cancer Res**. 2005; 65:1277-84.
13. Griffiths EA, Gore SD, Hooker CM et al. Epigenetic differences in cytogenetically normal versus normal acute myeloid leukemia. **Epigenetics** 2010; 5:7,1-11.
14. Figueroa ME, Wouters BJ, Skrabanek L et al. Genome-wide epigenetic analysis delineates a biologically distinct immature acute leukemia with myeloid/T-lymphoid features. **Blood** 2009; 113:2795-2804.
15. van Waalwijk B, van Doorn-Khosrovani S, Erpelinck C et al. Biallelic mutations in the CEBPA gene and low CEBPA expression levels as prognostic markers in intermediate-risk AML. **Hematol J** 2003; 4:31-40.
16. Radomska HSB, Zheng R, Zhang P et al. Block of C/EBP alpha function by phosphorylation in acute myeloid leukemia with FLT3 activating mutations. **J Exp Med** 2006; 203:371-381.
17. Valk PJ, Verhaak RG, Beijen MA et al. Prognostically useful gene-expression profiles in acute myeloid leukemia. **N Engl J Med** 2004; 350:1617-1628.
18. Figueroa ME et al. DNA methylation signatures identify biologically distinct subtypes in acute myeloid leukemia. **Cancer Cell** 2010; 17:13-27.
19. Alvarez S, Suela J, Valencia A et al. DNA Methylation Profiles and Their Relationship with Cytogenetic Status in Adult Acute Myeloid Leukemia. **PLoS ONE** 2010; 5(8):e12197.
20. Wong IH, Ng MH, Huang DP et al. Aberrant p15 promoter methylation in adult and childhood acute leukemias of nearly all morphologic subtypes: potential prognostic implications. **Blood** 2000; 95:1942-1949.
21. Agrawal S, et al., DNA methylation of tumor suppressor genes in clinical remission predicts the relapse risk in acute myeloid leukemia. **Cancer Res** 2007; 67:1370-1377.
22. Xia Z, et al. Expression of signal transducers and activators of transcription proteins in acute myeloid leukemia blasts. **Cancer Res** 1998; 58:3173-80.
23. Benekli M et al. Constitutive activity of signal transducer and activator of transcription 3 protein in acute myeloid leukemia blasts is associated with short disease-free survival. **Blood** 2002; 99:252-7.
24. Chim CS, Wong AS, Kwong YL. Epigenetic dysregulation of the Jak/STAT pathway by frequent aberrant methylation of SHP1 but not SOCS1 in acute leukaemias. **Ann Hematol** 2004; 83:527-32.
25. Johan MF, Bowen DT, Frew ME et al. Aberrant methylation of the negative regulators RASSF1A, SHP-1 and SOCS-1 in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukaemia. **Br J Haematol** 2005; 129:60-5.
26. Shimamoto T, Ohyashiki JH, Ohyashiki K. Methylation of p15 INK4b and E-cadherin genes is independently correlated with poor prognosis in acute myeloid leukemia. **Leuk. Res** 2005; 29:653-659.
27. Corn P, Smith D, Ruckdeschel E. E-Cadherin Expression Is Silenced by 5' CpG Island Methylation in Acute Leukemia. **Clinical Cancer Research** 2000; 6:4243-4248.
28. Holbert MA, Sikorski T, Carten J et al. The human monocytic leukemia zinc finger histone acetyltransferase domain contains DNA-binding activity implicated in chromatin targeting. **J Biol Chem** 2007; 282:36603-13.
29. Kitabayashi I, Aikawa Y, Nguyen LA et al. Activation of AML1-mediated transcription by MOZ and inhibition by the MOZ-CBP fusion protein. **Embo J** 2001; 20:7184-96.
30. Katsumoto T, Yoshida N, Kitabayashi I. Roles of the histone acetyltransferase monocytic leukemia zinc finger protein in normal and malignant hematopoiesis. **Cancer Sci** 2008; 99(8):1523-1527.
31. Bannister AJ, Kouzarides T. Histone methylation: recognizing the methyl mark. **Methods Enzymol** 2004; 376:269-288.
32. Holleman A, Cheok MH, den Boer ML et al. Gene-expression patterns in drug-resistant acute lymphoblastic leukemia cells and response to treatment. **N Engl J Med** 2004; 35:533-542.
33. Volinia S, Calin G, Liu CG et al. A microRNA expression signature in human solid tumors defines cancer targets. **Proc Natl Acad Sci USA** 2006; 103: 2257-2261.
34. Lu J, Getz G, Miska EA et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. **Nature** 2005; 435: 834-838.
35. Cammarata G, Augugliaro L, Salemi D et al. Differential expression of specific microRNA and their targets in acute myeloid leukemia. **Am J Hematol** 2010; 85:331-339.
36. Jongen-Lavrencic M, Sun SM, Dijkstra MK et al. MicroRNA expression profiling in relation to the genetic heterogeneity of acute myeloid leukemia. **Blood** 2008; 111(10): 5078-85.
37. Li Z, Lu J, Sun M et al. Distinct microRNA expression profiles in acute myeloid leukemia with common translocations. **Proc Natl Acad Sci USA** 2008; 105(40): 15535-40.
38. Felli N, Fontana L, Pelosi E et al. MicroRNAs 221 and 222 inhibit normal erythropoiesis and erythroleukemic cell growth via kit receptor down-modulation. **Proc Natl Acad Sci USA** 2005; 102: 18081-18086.
39. Dixon-McIver A, East P, Mein CA et al. Distinctive patterns of microRNA expression associated with karyotype in acute myeloid leukaemia. **PLoS One** 2008; 3(5): e2141.
40. Garzon R, Liu S, Fabbri M et al. MicroRNA-29b induces global DNA hypomethylation and tumor suppressor gene reexpression in acute myeloid leukemia by targeting directly DNMT3A and 3B and indirectly DNMT1. **Blood** 2009; 113(25):6411-8.
41. Popovic R, Riesbeck LE, Velu CS et al. Regulation of mir-196b by MLL and its overexpression by MLL fusions contributes to immortalization. **Blood** 2009; 113(14):3314-22.
42. Garzon R, Volinia S, Liu C et al. MicroRNA signatures associated with cytogenetics and prognosis in acute myeloid leukemia. **Blood** 2008; 11:3183-3189.
43. Slezak S, Jin P, Caruccio L et al. Gene and microRNA analysis of neutrophils from patients with polycythemia vera and essential thrombocytosis: Down-regulation of micro RNA-1 and 2133a. **J Trans Med** 2009; 7:39-43.
44. Becker H, Marcucci G, Maharry K et al. Bloomfield CD for Cancer and Leukemia Group B (CALGB) NPM1 mutations as an independent prognosticator for older cytogenetically normal acute myeloid leukemia (CN AML). **J Clin Oncol** 2009; 27(15S): abstract 7000.
45. Garzon R, Heaphy CE, Havelange V et al. MicroRNA 29b functions in acute myeloid leukemia. **Blood** 2009; 114(26):5331-41.
46. Xiaojing Y, Fides L, Han H et al. Targeting DNA methylation for epigenetic therapy. **Trends Pharmacol Sci**. 2010; Nov; 31(11): 536-46.
47. Qin T et al. Mechanisms of resistance to 5-aza-2'-deoxycytidine in human cancer cell lines. **Blood** 2009; (113):659-667.
48. Gore SD, Weng LJ, Figg WD et al. Impact of prolonged infusions of the putative differentiating agent sodium phenylbutyrate on myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. **Clin Cancer Res** 2002; 8:963-70.
49. Kuendgen A, Schmid M, Schlenk R et al. The histone deacetylase (HDAC) inhibitor valproic acid as monotherapy or in combination with all-trans retinoic acid in patients with acute myeloid leukemia. **Cancer** 2006; 106:112-9.

50. Byrd JC, Marcucci G, Parthun MR et al. A phase 1 and pharmacodynamic study of depsipeptide (FK228) in chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia. **Blood** 2005; 105:959-67.
51. Ryan QC, Headlee D, Acharya M et al. Phase I and pharmacokinetic study of MS-275, a histone deacetylase inhibitor, in patients with advanced and refractory solid tumors or lymphoma. **J Clin Oncol** 2005; 23:3912-22.
52. Giles F, Fischer T, Cortes J et al. A phase I study of intravenous LBH589, a novel cinnamic hydroxamic acid analogue histone deacetylase inhibitor, in patients with refractory hematologic malignancies. **Clin Cancer Res** 2006; 12:4628-35.
53. Garcia-Manero G, Assouline S, Cortes J et al. Phase 1 study of the oral isotype specific histone deacetylase inhibitor MGCD0103 in leukemia. **Blood** 2008; 112:981-9.
54. Mack GS. Epigenetic cancer therapy makes headway. **J Natl Cancer Inst** 2006; 98:1443-4.
55. Mulero-Navarro S, Esteller M et al. Epigenetic biomarkers for human cancer: the time is now. **Crit Rev Oncol Hematol** 2008 Oct; 68(1):1-11.