

DETECCIÓN DEL PERFIL DE METILACIÓN DE 25 GENES EN LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA ÁGUDA (LPA) MEDIANTE MS-MLPA

Valencia A^a, Cervera J^a, Such E^a, de Tomás E^a, Oltra S^b, Bolufer P^c, Barragán E^c, Montesinos P^a y Sanz MA^a.

^aServicio de Hematología y Hemoterapia, ^bUnidad de Genética y ^cLaboratorio Biología Molecular, Departamento de Análisis Clínicos. Hospital Universitario La Fe. Valencia.

Introducción: La inactivación de genes supresores de tumores mediante metilación del promotor es un evento común en cánceres humanos. En la Leucemia Promielocítica Aguda (LPA), la metilación aberrante del promotor de *p15INK4B* es un evento frecuente que se ha asociado a mal pronóstico. Sin embargo, dado que la mayoría de estudios se han realizado en genes individuales, la información sobre la existencia de un perfil de metilación característico de la LPA es escasa. Recientemente se ha descrito una nueva técnica, MS-MLPA (Methylation-Specific Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification), capaz de detectar el grado de metilación de hasta 25 secuencias de genes supresores de tumores frecuentemente metilados en diferentes neoplasias humanas.

Objetivo: Estudiar el estado de metilación de 25 genes supresores de tumores en 24 pacientes diagnosticados de LPA en nuestro centro mediante MS-MLPA.

Pacientes y métodos: Las principales características de los pacientes fueron las siguientes: 19H/5M; mediana de edad: 49 años (extremos, 31-78); grupo de riesgo: 7 bajo, 12 intermedio y 5 alto. Todos los pacientes fueron tratados de acuerdo a los protocolos PETHEMA LPA 96 ó 99. Los reactivos de MS-MLPA se obtuvieron de MRC-Holland (www.mrc-holland.com). El análisis se realizó con el software Genemapper 3.1. La cuantificación de metilación se realizó dividiendo el área del pico problema entre las áreas combinadas de los picos control que no presentan secuencia de reconocimiento del enzima *HhaI*. Después, el área relativa de cada uno de estos picos de la muestra digerida se comparó con el mismo pico obtenido en la muestra no digerida. Se consideró metilación aberrante cuando el porcentaje de metilación era > 10%.

Resultados: Los siguientes genes se encontraron hipermetilados: *p15INK4B* (n=15; 62.5%), *ESR1* (n=8; 33%), *IGSF4* (n= 7; 29%) y *FHIT* (n= 2; 8%). Se encontró metilación de un solo gen en 10 pacientes (42%), dos genes en 5 pacientes (21%) y 3 genes en 4 pacientes (17%). La metilación de *p15INK4B* se asoció con algunas características de conocido efecto peyorativo, como leucocitosis (p= 0.07), grupo de riesgo alto (p=0.045) y la isoforma *bcr3* (p=0.01). En contraste, no se encontró ninguna asociación significativa entre el resto de genes o su combinación y las diferentes características clínico-biológicas.

Conclusión: MS-MLPA es un método válido y sencillo para la detección múltiple del patrón de metilación de islas CpG. Estos resultados preliminares sugieren que la metilación aberrante de genes supresores de tumores es frecuente en pacientes con LPA, si bien parece circunscrita a un pequeño número de genes (*p15INK4B*, *ESR1*, *IGSF4* y *FHIT*). La importancia clínica y/o terapéutica de estos hallazgos debe ser explorada en series más amplias.

Trabajo financiado parcialmente por las becas: BEFI 03/200, FIS PI030400, FIS 060657 y RTICC RD06/0020/0031.