

ANÁLISIS INTEGRADO DEL METILOMA Y DEL TRANSCRIPTOMA EN LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS DE BAJO RIESGO

M. del Rey¹, K. O'Hagan², E. Lumbreras¹, S. Aibar¹, M. Dellett², M. Díez-Campelo³, J. García Frade⁴, C. Olivier⁵, J.M. Alonso⁶, J. de las Rivas¹, K.I. Mills², J.M. Hernández³

¹IBMCC. Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca-CSIC. ²Centre for Cancer Research and Cell Biology.

Queen's University Belfast (UK). ³Hospital Universitario de Salamanca. ⁴Hospital Universitario del Río Hortega. Valladolid.

⁵Hospital General de Segovia. ⁶Hospital Río Carrión. Palencia

Introducción: La presencia de metilación anormal de algunos genes en las hemopatías malignas puede ser la causa de la pérdida de la expresión génica. Varios trabajos han identificado genes metilados en los SMD, la mayoría de ellos, de manera más frecuente, en los SMD de alto riesgo. Sin embargo, apenas hay estudios que analicen la posible relación entre la metilación y la expresión génica en estas enfermedades. El objetivo de nuestro estudio fue profundizar en el conocimiento de los mecanismos moleculares presentes en los SMD de bajo riesgo (SMD-BR) para lo que realizamos un análisis integrado de la metilación y el perfil de expresión génico (PEG) en estos enfermos.

Material y métodos: Se analizaron 70 pacientes con SMD-BR y 31 controles. Para el estudio integrado se incluyeron el mismo grupo de 18 SMD-BR y 7 controles, mientras que todos los casos se utilizaron como grupo de confirmación de los datos del PEG. El ADN y el ARN se extrajeron a partir de células mononucleadas de la médula ósea (MO) separadas por gradiente de densidad. El análisis de metilación se realizó mediante el array MCAM (Methylated CpG Island Amplification and Microarray). Los resultados fueron validados mediante pirosecuenciación. El PEG se llevó a cabo con el array Human Genome U133 Plus 2.0 de Affymetrix y los resultados se validaron mediante Q-PCR.

Resultados: El estudio de metilación reveló la presencia de 1836 genes diferencialmente metilados entre el grupo de SMD-BR y el grupo control, más de la mitad de ellos (53%) estaban hipermetilados en los SMD-BR. El análisis del PEG reveló la existencia de 1007 genes diferencialmente expresados entre los cuales el 39% estaban sobreexpresados en los SMD-BR. El análisis integrado de los datos obtenidos mediante las dos técnicas demostró que 176 genes aparecían alterados tanto por metilación como por expresión: 99 genes estaban hipermetilados en los SMD-BR y de ellos el 62% estaban infraexpresados. El estudio funcional de este conjunto de genes reveló que los mecanismos celulares afectados con mayor frecuencia en los SMD-BR eran el procesamiento del ARN (PLAGL1), la respuesta inmune (CD28) y la adhesión (ALCAM). BCL2 implicado en apoptosis aparecía hipermetilado e infraexpresado en los SMD-BR. Además la sobreexpresión de BCL2L11 y la infraexpresión de CUX1 podrían estar influyendo también en la mayor apoptosis presente en los SMD. Cabe destacar la infraexpresión de 83 genes, que estaba relacionada con la hipermetilación e infraexpresión del factor de transcripción ETS1.

Conclusión: Una metilación alterada en los SMD-BR puede determinar cambios en la expresión de genes implicados en funciones celulares afectadas en estos enfermos como la apoptosis, la adhesión y la respuesta inmune.

Financiación FEHH.