

Análisis epigenético del estado de metilación del promotor de farmacogenes relacionados con la quimioterapia en oncología pediátrica

Gladys G. Olivera^{1,2}, Luis Sendra^{1,2}, Pablo Gargallo⁴, Pablo Berlanga⁵, Gema Martínez de la Fuente¹, Diana García⁶, Yania Yañez⁴, Adela Cañete³, Salvador F. Aliño^{1,2}, María José Herrero^{1,2}

1-Unidad de Farmacogenética y Terapia Génica, Instituto Investigación Sanitaria La Fe Valencia, España; 2-Departamento de Farmacología, Universidad de Valencia; 3-Unidad de Oncología Pediátrica, Hospital Universitario y Politécnico La Fe; 4-Grupo de Investigación Clínica y Traslacional en Cáncer, IIS La Fe; 5-Institute Gustave Roussy Center; 6-Plataforma de Epigenómica, Instituto Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, España

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La búsqueda de explicaciones para las diferentes respuestas a la quimioterapia en pacientes de oncología pediátrica nos lleva a utilizar herramientas que nos ayuden a entender las diferencias individuales. Para ello, analizamos el estado de metilación de genes implicados en la respuesta a la quimioterapia con el fin de evaluar el posible efecto de la quimioterapia en el mismo.

MÉTODOS

En el contexto de un estudio más amplio de variantes farmacogenéticas relacionadas con la quimioterapia, se seleccionaron 23 pacientes (Figura 1) donde se evaluó el estado de metilación de las CpG en las regiones promotoras de 10 genes : *ABCB1*, *CYP3A5*, *CYP2B6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP3A4*, *ERCC1*, *GSTP1*, *MTHFR* y *TP53* (Tabla 1), utilizando la tecnología de pirosecuenciación pyromark Q24 de Qiagen (Figura 2).

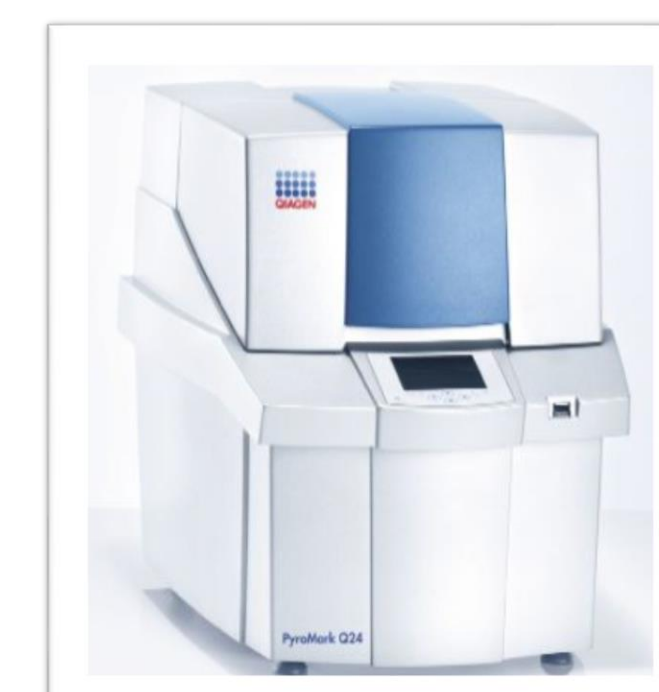


Figura 2. Pirosecuenciador Pyromark Q24 Qiagen. <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/pyrosequencing/instruments/pyromark-q24/>

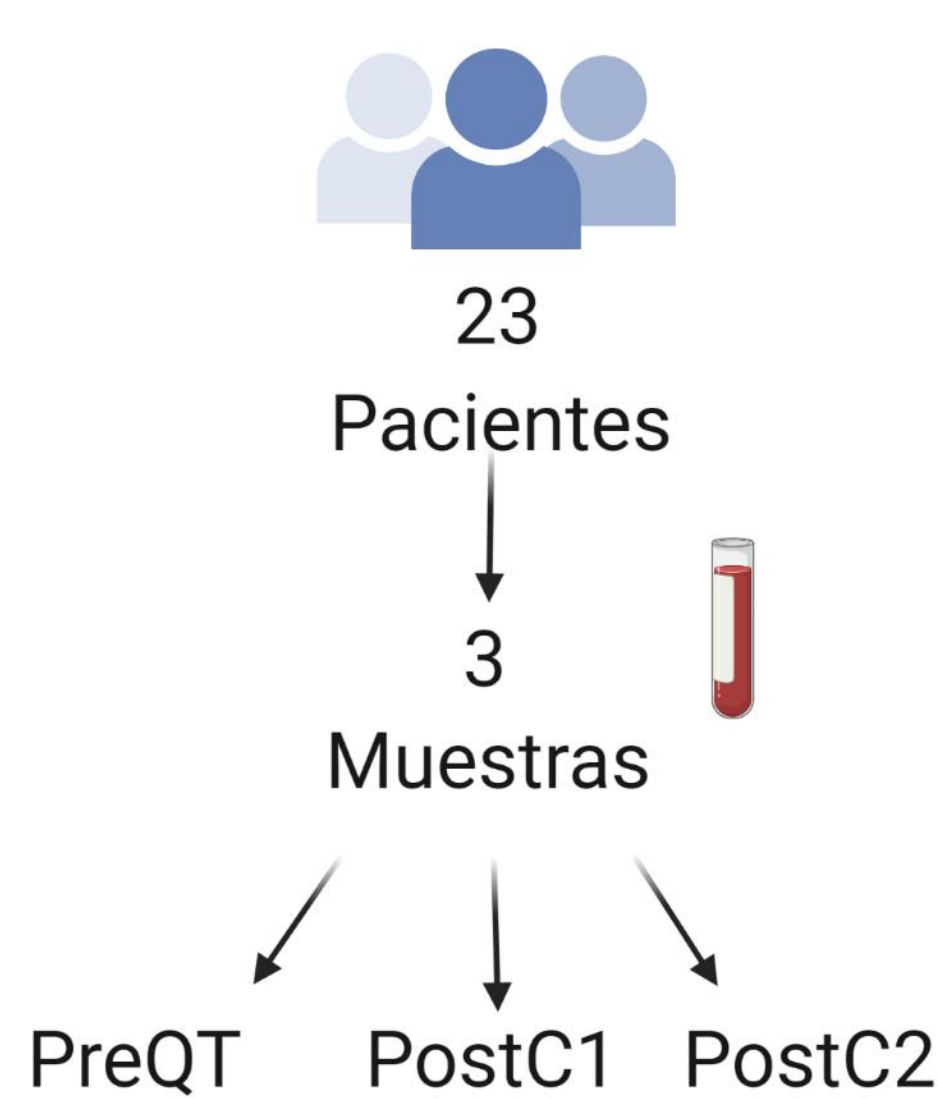


Figura 1. Selección de pacientes y muestras. PreQT: pre quimioterapia. Created with BioRender.com

Tabla 1. Secuencias de los primers modificados utilizados para evaluar el estado de metilación de los genes.

Genes	Secuencia de los primers (5' -3')
<i>ABCB1</i>	F: GTTGGAGGTGAGATTAATTTT R: AAACCCCAACTCTACCT
<i>CYP2C19</i>	F: TTGGGTTTATGTTATTTTTTTGTTTTAG R: AATCAACAAATCCAAACCATRCTAACTAAC
<i>CYP3A4</i>	F: ATAGAGATAAGGGTAGGAGAGAG R: AAATCACACACACACCACTCACTAA
<i>ERCC1</i>	F: AGGTTTAGGAAGAGTAGTG R: CCACACCTCAAACAACCTATA
<i>GSTP1</i>	F: TTTGGAAAGAGGGAAAGGT R: ACTACCAATTAACCCACTATAAAAC TCT
<i>MTHFR</i>	F: GTTTTGAATAGGTGGAGGTTAGT R: CTCTAAACCCCTCACCTAAATA
<i>TP53</i>	F: TTAGGAGTTTATTTAATTTAGGGAAG R: TATCCAACCTTATACAAAAACCTC
<i>CYP2B6</i>	F: GTAGTAGGGTGTAGGGTAGT R: TCACCCTCAAACCCATTC
<i>CYP2C9</i>	F: GTGGATTAGGTGATTGGTTAATT R: AATCCATTAACCTTCTCTTCTTAT
<i>CYP3A5</i>	F: AGATAGAGGAGTATTAGGTTGATAGTT R: ACCTCCTTCTCAACACAT

Tabla 2. Grado y frecuencia de la metilación de regiones CpG de promotores génicos.

Gen	Pre Quimioterapia		Post Quimioterapia			
	Metilación		CICLO 1		CICLO 2	
	Grado	Frecuencia (n=23)	Grado	Frecuencia	Grado	Frecuencia
<i>ERCC1</i>	Hipometilado (<1%)	100%	Hipometilado	100%	Hipometilado	100%
<i>GSTP1</i>	Hipometilado (<2%)	100%	Hipometilado	100%	Hipometilado	100%
<i>TP53</i>	Hipometilado (<2%)	100%	Hipometilado	100%	Hipometilado	100%
<i>ABCB1</i>	Hipometilado (<3%)	95,6%	Hipometilado	100%	Hipometilado	100%
	Hemimetilado (<40%)	4,3%	Hipometilado	100%	Hipometilado	100%
<i>CYP2C19</i>	Hemimetilado (<40%)	100%	Hemimetilado	100%	Hemimetilado	100%
<i>CYP2B6</i>	Hemimetilado (<80%)	81,8%	Hemimetilado	78,3%	Hemimetilado	95,6
	Hipermetilado (>80%)	17,4%	Hipermetilado	21,7%	Hipermetilado	4,3%
<i>CYP3A5</i>	Hipermetilado	100%	Hipermetilado	100%	Hipermetilado	100%
<i>CYP3A4</i>	Hipermetilado (>90%)	95,7%	Hipermetilado	100%	Hipermetilado	100%
	Hemimetilado (<70%)	4,3%	Hipermetilado	100%	Hipermetilado	100%
<i>CYP2C9</i>	Hipermetilado (>80%)	100%	Hipermetilado	87%	Hipermetilado	91,3%
	Hemimetilado (<80%)	0%	Hemimetilado	13%	Hemimetilado	8,7%
<i>MTHFR</i>	Hipermetilado (>80%)	82,6%	Hipermetilado	76,2%	Hipermetilado	91,3%
	Hemimetilado (<80%)	17,4%	Hemimetilado	23,8%	Hemimetilado	8,7%

RESULTADOS

Se expresa el porcentaje de pacientes que presentan (Tabla 2):

- ✓ Hipometilación (0-20%)
- ✓ Hemimetilación (20-80%)
- ✓ Hipermetilación (80-100%)

Para las 3 muestras

CONCLUSIONES

No se observa un patrón general de alteraciones de la metilación debidas a la administración de la quimioterapia, sino una respuesta propia de cada paciente (Financiado: Asociación Pablo Ugarte y Fundación Mutua Madrileña).