

Hipermetilación del Gen Supresor de Tumores p53 en Pacientes Pediátricos con Leucemia Linfoblástica Aguda

Hypermethylation of Tumor Suppressor Gene p53 in Chilean Pediatrics Patients Under 15 Years with Acute Lymphoblastic Leukemia

Melo, A.*; Artigas, C. G.**; Fritz, C.*; Díaz, P.*; Muñoz, S.***; Brebi, P.* & Roa, J. C.****

MELO, A; ARTIGAS, C. G; FRITZ, C.; DÍAZ, P.; MUÑOZ, S.; BREBI, P. & ROA, J. C. Hipermetilación del gen supresor de tumores P53 en pacientes pediátricos con leucemia linfoblástica aguda. *Int. J. Morphol.*, 32(4):1243-1247, 2014.

RESUMEN: La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es la neoplasia maligna hematooncológica más frecuente en pacientes pediátricos contando hasta 75% de las leucemias y 32-35% del total de cánceres infantiles. Aunque la LLA es considerada una enfermedad con base genética, es cada vez más evidente que alteraciones epigenéticas desempeñan un rol central en su patogénia y progresión. La hipermetilación de regiones promotoras de genes es asociada con la pérdida de función génica. El gen supresor de tumores p53 (GST), es uno de los principales genes en el ciclo celular y apoptosis. El objetivo de este trabajo fue determinar el estado de metilación en la región del promotor-exón 1 del GST p53 y la asociación con la supervivencia en menores de 15 años con LLA. Se analizaron 40 pacientes provenientes de la Región de la Araucanía-Chile. La hipermetilación del p53 se determinó combinando enzimas de restricción sensibles a metilación (HpaII y EcoR II) y reacción en cadena de la polimerasa. Los resultados indicaron que 15/40 casos (37,5%) presentaron hipermetilación. Se encontró una diferencia estadística en la supervivencia según estado de metilación de p53 en el grupo de niñas ($p=0,02$). Considerando el total de pacientes, una tendencia a mejor supervivencia cuando los recuentos de leucocitos fueron $<30.000/mm^3$ ($p=0,08$). Se encontró frecuentemente hipermetilado el gen p53 en la región del promotor-exon1. Esto indicaría que la hipermetilación del GST p53 puede ser un evento importante en la patogénesis de la LLA.

PALABRAS CLAVE: Hipermetilación; p53; Gen supresor de tumores; Leucemia linfoblástica aguda; Leucemia infantil; Supervivencia.

INTRODUCCIÓN

La hipermetilación del gen p53 en leucemia aguda ha sido poco reportada, sin embargo, el estudio de múltiples otros genes, ha revelado que la hipermetilación en la región promotora de genes supresores de tumores (GST) es un evento común en células leucémicas y un factor importante de inactivación génica (Agirre *et al.*, 2003a; Bodoor, 2014; Roman-Gomez *et al.*, 2006; Vilas-Zornoza *et al.*, 2011).

Visto de esta forma, el silenciamiento epigenético en genes que controlan el crecimiento, la muerte celular y la invasión neoplásica, pueden determinar el patrón de recurrencia tumoral tras la quimioterapia y de este modo, la supervivencia del paciente (Giaccia & Kastan, 1998).

Para que ocurra inhibición transcripcional mediante metilación de las citocinas, se han postulado 2 mecanismos posibles: el más mencionado es la hipermetilación en la región del promotor del gen, hecho que impide la unión de los factores de transcripción. Sin embargo, también puede ocurrir hipermetilación en los dinucleótidos CpG ubicados en la cercanía del inicio de la transcripción. Este evento provoca que proteínas de unión a metilcitocina se unan a este DNA metilado, impidiendo el avance de la enzima RNA polimerasa y bloqueando finalmente la transcripción génica. Como el gen p53 posee varios islotes CpG en su primer exon, una hipermetilación en esta región se vuelve importante para

* Laboratorio de Patología Molecular. Departamento de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina. Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

** Carrera de Tecnología Médica. Facultad Ciencias de la Salud. Universidad San Sebastian, Santiago, Chile.

*** Capacitación Investigación y Gestión en Salud (Ciges). Facultad de Medicina. Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

**** Departamento de Anatomía Patológica. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

Financiamiento Proyectos DI110068 y DI09-0028 de la Dirección de Investigación y Desarrollo, Universidad de La Frontera. Proyecto CORFO-CEGIN N°09CN14-5960, Scientific and Technological Bioresource Nucleus (BIOREN).

dar continuidad a la transcripción génica (Klose & Bird, 2006; Weber & Schübeler, 2007).

El gen p53 actúa principalmente asociado a situaciones de estrés celular: daño del ADN por irradiaciones ionizantes o ultravioleta, hipoxia, activación de oncogenes que provocan altos índices mitóticos, entre otros. Así, bajos niveles de la proteína p53 inducen la detención del ciclo celular frente a un daño reparable del ADN, mientras que altos niveles de p53 provocan que la célula entre en apoptosis, cuando un daño en el ADN no es posible reparar (Chen *et al.*, 1996; Giaccia & Kastan). Por lo tanto, la función general del GST p53 es prevenir una proliferación clonal de células con inestabilidad genética y transformación neoplásica. De esta manera, la presencia de un gen p53 alterado puede incidir en el desarrollo de una leucemia.

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) tiene un origen monoclonal que puede afectar la maduración de linfocitos B o T. Molecularmente, se ha descrito como el producto de mutaciones sucesivas que difieren según la fase de maduración de las células blásticas y donde también, tendrían un rol importante factores epigenéticos y ambientales en la etiopatogénesis y progresión de la enfermedad (Pui *et al.*, 2008; Roman-Gomez *et al.*, 2007).

La leucemia es el cáncer más frecuente en la edad pediátrica (35–40% del total de cánceres) y la LLA el tipo más prevalente con un 80% de los casos (Pui & Evans, 1998). En Chile, desde 1988, inicio del Programa de Cáncer Infantil, en el sector público se presentan 100–110 casos nuevos cada año de leucemia linfoblástica (Ministerio de Salud, 2010; Pui & Evans).

Considerado la importancia del gen p53 en el crecimiento celular y apoptosis, se planteó como objetivo, detectar el estado de hipermetilación en la región del promotor-exón 1 del gen p53 y asociar la hipermetilación del gen con la supervivencia, en niños menores de 15 años con diagnóstico de LLA.

MATERIAL Y MÉTODO

Muestras. Se analizaron 40 muestras de médula ósea o sangre periférica obtenidas de pacientes menores de 15 años, con diagnóstico clínico y de laboratorio de Leucemia Linfoblástica Aguda, sin tratamiento previo, reclutados en el Hospital Hernán Henríquez Aravena de Temuco, Región de la Araucanía, entre los años 1999-2007. Se solicitó autorización de los padres y se aplicó consentimiento informado aprobado por el Servicio de Salud Araucanía Sur.

Extracción del ADN. Las muestras fueron anticoaguladas con EDTA y para la extracción de ADN se utilizó Kit comercial Puregene Gentra (USA), basándose en las indicaciones del fabricante. Posteriormente a la lisis de glóbulos rojos, el concentrado de leucocitos obtenido se procesó con buffer Tris-EDTA-SDS. Una vez precipitadas las proteínas con acetato de amonio se hidrató el ADN en Tris-EDTA. La concentración y pureza del ADN fue cuantificada mediante espectrofotometría (Nanodrop ND-1000). Se consideró un ADN de buena pureza cuando el índice 260/280 fue >1,8. Para excluir muestras con inhibidores, se utilizó un PCR simple para el gen de la b-globina, usando el juego de iniciadores PCO4 Y GH20 previamente publicados (Saiki *et al.*, 1985).

Digestión Enzimática. Para la detección de la metilación en la región del promotor-exon 1 del GST p53 se utilizaron las enzimas de restricción sensibles a la metilación (ERSM) HpaII y EcoRII (Fermentas) y una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) dúplex, según metodología previamente publicada (Melo *et al.*, 2012). Una alícuota del ADN fue digerida con las ERSM las cuales cortan secuencias específicas cuando el ADN no está metilado. (Dentro de la región del promotor-exon1 del gen p53, existen 3 sitios de restricción para la enzima EcoRII y 1 para HpaII). En la Tabla I se muestran las enzimas HpaII y EcoRII y sus isoesquimómeros MspI y MvaI (enzimas de restricción insensibles a la metilación) respectivamente.

PCR Duplex post digestión enzimática. Se utilizó un par de iniciadores dirigidos a la región del promotor-exón 1 y el otro par dirigido al exón 6 del GST p53, que amplifican un fragmento de 287 pares de bases (pb) y 178 pb respectivamente. Las secuencias de los iniciadores han sido previamente publicadas (Agirre *et al.*, 2003b).

Condiciones de la PCR Duplex y Visualización. Se emplearon 35 ciclos con una temperatura de hibridación de 60°C. Las bandas fueron visualizadas en geles de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio.

Controles. Como controles Positivos se usó ADN comercial y ADN de individuos sanos metilados *in vitro* con la enzima CpG Methyltransferase Sss I Methylase (New England Biolab) y como control negativo ADN comercial y ADN de individuos sanos sin someterlo a metilación. El fragmento amplificado del exón 6(178pb) fue usado como control interno debido a que no contiene sitios de restricción para HpaII y EcoRII. Las enzimas MspI y MvaI insensibles a la metilación de las citosinas fueron utilizadas como control de la digestión enzimática.

Interpretación de los Resultados. Se consideró una muestra metilada cuando amplificaron ambos fragmentos (278pb

Tabla I. Comportamiento esperado de las enzimas de restricción según el estado de metilación del ADN blanco.

Enzima	ADN		Sitios que corta
	Metilado	No Metilado	
<i>HpaII</i>	No corta	Corta	5'...C/CGG...3' 3'...GGC/C...5'
<i>MspI</i>	Corta	Corta	5'...C/CGG...3' 3'...GGC/C...5'
<i>EcoRII</i>	No corta	Corta	5'...C/CWGG...3' 3'...GGWC/C...5'
<i>MvaI</i>	Corta	Corta	5'...C/CWGG...3' 3'...GGWC/C...5'

y 178pb) y una muestra no metilada cuando solo se observó la banda de 178pb.

Para el estudio de supervivencia se revisaron las fichas clínicas, registrándose: fecha de nacimiento y fecha de diagnóstico de la enfermedad. Se realizó una revisión del grupo para conocer su estado vital a Julio 2013.

Análisis estadístico. La frecuencia de hipermetilación de la región del promotor-exon1 del gen p53, se estimó al momento del diagnóstico. La asociación entre hipermetilación del GST p53 y las variables (edad y sexo) se evaluó mediante la prueba t de student y la prueba exacta de Fischer, respectivamente. La estimación de la supervivencia en relación al sexo, edad y leucocitos y el estado de hipermetilación del gen p53 se obtuvo mediante el método de Kaplan-Meier. Se utilizó la prueba estadística de log Rank para comparar las funciones de su-

pervivencia entre los pacientes que presentaron hipermetilación del gen p53 y aquellos que no la presentaron.

RESULTADOS

En la Tabla II se muestran las características generales de los 40 pacientes en estudio. El estado vital de los pacientes se registró a Julio de 2013. Se encontró 19 pacientes fallecidos (9 niñas y 10 niños).

El 100% de las muestras de estudio demostró integridad del ADN y ausencia de inhibidores al amplificar adecuadamente para el gen de la b-globina, lo que sirvió de base para el análisis con las enzimas de restricción y la PCR duplex.

Tabla II. Características generales de los pacientes en estudio.

n	40
Sexo	20 niñas 20 niños
Rango Edad	10 a 164 meses
	<5años 19/40 (47,50%)
	>=5años 21/40 (52,5%)
Recuento Leucocitos al diagnóstico de LLA	2210 a 531000 /mm³
Supervivencia Global a Julio 2013	Vivo 21/40 (52,5%) Fallecido 19/40 (47,5%)
Supervivencia	>=5 años 15/21 (71,4%)
	>10 años 6/21 (28,6%)

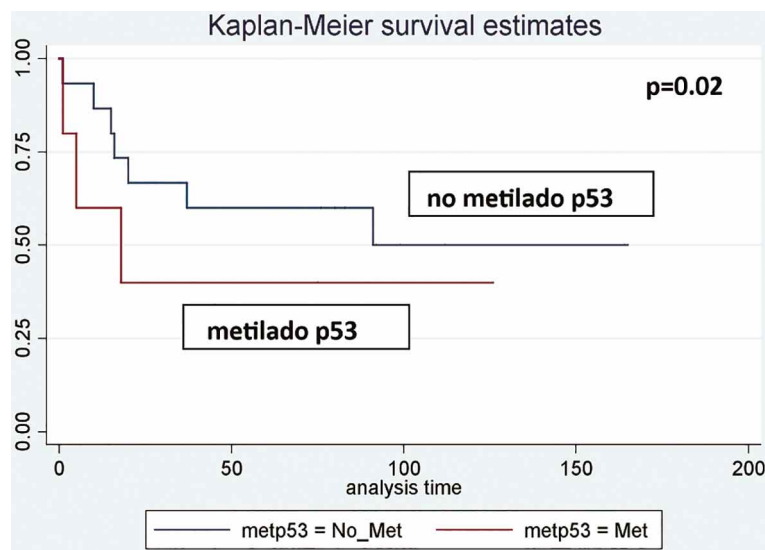


Figura 1. Supervivencia según estado de metilación en región del promotor-exon1 del GST p53 en el grupo de niñas con LLA. Analysis time: meses de supervivencia.

Se detectó hipermetilación del GST p53 en un 37,5% (15/40) de los pacientes. En 6 casos se observó sólo metilación en el sitio CCWGG, en 5 casos en el dinucleótido CpG y en 4 casos se detectó metilación en ambos sitios. La hipermetilación según edad y sexo se muestran en las Tablas III y IV.

Para el análisis de supervivencia se conformaron 2 grupos según el estado de metilación del gen p53: grupo metilado (GM) y el grupo no metilado (GnM). De acuerdo al análisis de Kaplan Meier y la prueba de log rank, hubo diferencias estadísticamente significativas en el grupo de las niñas, donde la supervivencia fue peor en el grupo de niñas que tenían hipermetilado el gen p53 (p=0,02), no se observó diferencias en el grupo de los niños (Fig. 1). Cuando se analizó el número de leucocitos al momento del diagnóstico de la LLA y el estado de metilación del gen p53 se observó una mejor supervivencia

Tabla III. Detección de hipermetilación en región promotora-exon1 del GST p53 en pacientes con LLA según grupo etario.

	Detección de hipermetilación (%)	
	Negativa	Positiva
>=5 años	12 (57,1%)	9 (42,9%)
<5 años	13 (68,4%)	6 (31,6%)
Total	25 (62,5%)	15 (37,5%)

Tabla IV. Detección de hipermetilación en región del promotor-exon1 del GST gen p53 en pacientes con LLA según sexo.

	Detección de hipermetilación (%)	
	Negativa	Positiva
Niñas	10 (50,0%)	10 (50,0%)
Niños	15 (75,0%)	5 (25,0%)
Total	25 (62,5%)	15 (37,5%)

en el grupo de pacientes que tenían recuentos de leucocitos <30.000/ul y el GST p53 hipermetilado ($p=0,08$). No se observó diferencias estadísticamente significativas en los demás parámetros analizados, total de pacientes fallecidos, edad <5 años, >=5 años y recuento de leucocitos >=30.000/ul ($p=0,24$; 0,31; 0,65 y 0,69 respectivamente).

DISCUSIÓN

El grupo de pacientes con LLA estudiados fue homogéneo, en edad, sexo y estado vital (n de fallecidos según sexo).

La frecuencia de 37,5% (15/40) de pacientes con LLA que presentaron el gen p53 hipermetilado fue concordante con lo previamente publicado, donde reportaron un 32% (8/25) de metilación aberrante en p53, asociado a una disminución en la expresión proteica de este gen, con lo cual se postuló que la metilación podría representar un nuevo mecanismo de inactivación del gen p53 en la leucemia. De acuerdo a los patrones de metilación se observó que las citosinas internas en la secuencia CCWGG en el promotor del gen p53 se encontraron metiladas en una proporción similar con los clásicos dinucleótidos CpG, hecho previamente reportado por Agirre *et al.* (2003a, 2003b).

En cuanto a los hallazgos de laboratorio registrados, destacó el amplio rango que presentaron los leucocitos en el momento que se diagnosticó la leucemia. En el grupo de pacientes con el gen p53 hipermetilado, el 86,7% de los casos tuvo conteo mayores a 10000 leucocitos /ul. Esto hace pensar que en la mayoría de estos casos, la proteína p53 pudo estar disminuida provocando una disminución en la función que tiene el gen p53 en la inducción de la apoptosis (Chen *et al.*).

El no observar una diferencia estadísticamente significativa entre la supervivencia del grupo en estudio según el estado de metilación del p53 ($p=0,24$) podría explicarse por el tipo de metilación presente. La presencia de metilación monoalélica, puede no afectar la transcripción normal de un determinado gen, permitiendo expresión de suficiente proteína funcional. Por el contrario, la metilación bialélica da como resultado un completo bloqueo del producto de un gen, provocando inactivación transcripcional (Esteller *et al.*, 2001). Por otro lado, en el grupo de niñas es posible que los casos que tenían el gen p53 hipermetilado presentaron una metilación bialélica y de esta manera se podría explicar que la supervivencia fue diferente entre los casos metilados y no metilados ($p=0,02$). Sin embargo, no se puede descartar que eventos anexos a la metilación de p53, no contemplados en la presente investigación pudieran estar influyendo en la supervivencia en este grupo.

Una hipótesis que nace a la luz de los resultados es que la hipermetilación en la región del promotor-exon1 de p53, junto a otros genes que se han reportados hipermetilados, bien por encima (ASPP1) o por debajo (APAF1) de p53, inactivan las respuestas apoptóticas y el control de la proliferación (Agirre *et al.*, 2006; Melo *et al.*, 2013).

Es importante mencionar, que dentro de la literatura revisada, no se encontró trabajos sobre metilación en la región del promotor-exon1 del GST p53 en otros tipos de neoplasias hematológicas, por lo que no es posible hacer comparaciones ni estimar el real efecto que la hipermetilación del gen p53 tendría en relación a la supervivencia de los pacientes.

Finalmente, a pesar que no se realizó cuantificación de la expresión génica de p53, la alta frecuencia de hipermetilación de la región del promotor- exon 1 del GST p53 indica que podría ser un mecanismo relevante de inactivación génica en la patogénesis de la LLA, con utilidad pronóstica, más aun si consideramos que las mutaciones en el gen p53, han sido reportadas como un evento poco frecuente en esta enfermedad (Agirre *et al.*, 2003b; Nomdedeu *et al.* 2000).

MELO, A; ARTIGAS, C. G; FRITZ, C.; DÍAZ, P.; MUÑOZ, S.; BREBI, P. & ROA, J. C. Hypermethylation of tumor suppressor gene p53 in Chilean pediatrics patients under 15 years with acute lymphoblastic leukemia. *Int. J. Morphol.*, 32(4):1243-1247, 2014.

SUMMARY: Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common hematology oncology malignancy in pediatric patients counting up to 75% of leukemias and 32–35% of all childhood cancers. Although ALL is considered a disease with a genetic basis, it is increasingly clear that epigenetic alterations play a central role in the pathogenesis and work was to determine the methylation status in promoter-exon1 of the TSG-p53 and association with survival in children under 15 years with

ALL. In our study 40 patients from the Araucanía Region, Chile were analyzed. Hypermethylation of p53 was determined by combining restriction enzymes sensitive to methylation (HpaII and EcoR II) and polymerase chain reaction. Results indicated that 15/40 cases (37.5%) showed hypermethylation. Statistical difference was found in survival according to p53 methylation status in the girls group ($p=0.02$). Considering all patients, there was a trend to improved survival when leukocyte counts were $<30.000/\mu\text{l}$ ($p=0.08$). We found the p53 gene frequently hypermethylated in the promoter-exon1 region. This would indicate that TSG p53 hypermethylation may be an important event in the pathogenesis of ALL.

KEY WORDS: Hypermethylation; p53 tumor suppressor gene; Acute lymphoblastic leukemia; Childhood leukemia, Survival.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agirre, X.; Novo, F. J.; Calasanz, M. J.; Larráyo, M. J.; Lahortiga, I.; Valgañón, M.; García-Delgado, M. & Vizmanos, J. L. TP53 is frequently altered by methylation, mutation, and/or deletion in acute lymphoblastic leukaemia. *Mol. Carcinog.*, 38(4):201-8, 2003a.
- Agirre, X.; Román-Gómez, J.; Jiménez-Velasco, A.; Garate, L.; Montiel-Duarte, C.; Navarro, G.; Vázquez, I.; Zalacain, M.; Calasanz, M. J.; Heiniger, A.; Torres, A.; Minna, J. D. & Prósper, F. ASPP1, a common activator of TP53, is inactivated by aberrant methylation of its promoter in acute lymphoblastic leukemia. *Oncogene*, 25(13):1862-70, 2006.
- Agirre, X.; Vizmanos, J. L.; Calasanz, M. J.; García-Delgado, M.; Larráyo, M. J. & Novo, F. J. Methylation of CpG dinucleotides and/or CCWGG motifs at the promoter of TP53 correlates with decreased gene expression in a subset of acute lymphoblastic leukemia patients. *Oncogene*, 22(7):1070-2, 2003b.
- Bodoor, K.; Haddad, Y.; Alkhatieb, A.; Al-Abbadi, A.; Dowairi, M.; Magableh, A.; Bsoul, N. & Ghabkari, A. DNA hypermethylation of cell cycle (p15 and p16) and apoptotic (p14, p53, DAPK and TMS1) genes in peripheral blood of leukemia patients. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 15(1):75-84, 2014.
- Chen, X.; Ko, L. J.; Jayaraman, L. & Prives, C. p53 levels, functional domains, and DNA damage determine the extent of the apoptotic response of tumor cells. *Genes Dev.*, 10(19):2438-51, 1996.
- Esteller, M.; Corn, P. G.; Baylin, S. B. & Herman, J. G. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res.*, 61(8):3225-9, 2001.
- Giaccia, A. J. & Kastan, M. B. The complexity of p53 modulation: emerging patterns from divergent signals. *Genes Dev.*, 12(19):2973-83, 1998.
- Klose, R. J. & Bird, A. P. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem. Sci.*, 31(2):89-97, 2006.
- Melo, A. A.; Artigas, A. C. G.; Muñoz, N. S.; Brebi, M. P.; Hoffstetter, G. R. & Roa, S. J. C. Detection of hypermethylation in tumor suppressor genes APAF1, ASSP1, p73 and FHIT in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int. J. Morphol.*, 31(3):973-9, 2013.
- Melo, A.; Díaz, P.; Fritz, C.; Artigas, C. G. & Roa, J. C. Enzimas de restricción Hpa II y EcoR II y su utilidad para detectar metilación en el promotor y exon 1 del gen p53. *Rev. Chil. Tecnol. Med.*, 32:1713-6, 2012.
- Ministerio de Salud. Guía clínica. Leucemia en personas menores de 15 años. Santiago, MINSAL - Gobierno de Chile, 2010, Disponible en: [http://residenteschile.cl/download/gu%C3%ADas_ges/\[GES\]%20Leucemia%20\(Menores%20de%2015%20a%C3%B1os\).pdf](http://residenteschile.cl/download/gu%C3%ADas_ges/[GES]%20Leucemia%20(Menores%20de%2015%20a%C3%B1os).pdf)
- Nomdedéu, J. F.; Badell, I.; Estivill, C.; del Río, E.; Sierra, J. & Baiget, M. Mutational analysis of p53 in T-cell lymphoblastic leukemia. *Med. Clin. (Barc.)*, 115(15):573-5, 2000.
- Pui, C. H. & Evans, W. E. Acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 339(9):605-15, 1998.
- Pui, C. H.; Robison, L. L. & Look, A. T. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*, 371(9617):1030-43, 2008.
- Roman-Gomez, J.; Jimenez-Velasco, A.; Agirre, X.; Castillejo, J. A.; Navarro, G.; Calasanz, M. J.; Garate, L.; San José-Eneriz, E.; Cordeu, L.; Prosper, F.; Heiniger, A. & Torres, A. CpG island methylator phenotype redefines the prognostic effect of t(12;21) in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Clin. Cancer Res.*, 12(16):4845-50, 2006.
- Román-Gómez, J.; Jiménez-Velasco, A.; Torres, A.; Prosper, F.; Heiniger, A. & Agirre, X. Epigenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia. *Med. Clin. (Barc.)*, 129(26):15-22, 2007.
- Saiki, R. K.; Scharf, S.; Faloona, F.; Mullis, K. B.; Horn, G. T.; Erlich, H. A. & Arnheim, N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230(4732):1350-4, 1985.
- Vilas-Zornoza, A.; Agirre, X.; Martín-Palanco, V.; Martín-Subero, J. I.; San José-Eneriz, E.; Garate, L.; Álvarez, S.; Miranda, E.; Rodríguez-Otero, P.; Rifón, J.; Torres, A.; Calasanz, M. J.; Cruz Cigudosa, J.; Román-Gómez, J. & Prósper, F. Frequent and simultaneous epigenetic inactivation of TP53 pathway genes in acute lymphoblastic leukemia. *PLoS One*, 6(2):e17012, 2011.
- Weber, M. & Schübeler, D. Genomic patterns of DNA methylation: targets and function of an epigenetic mark. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 19(3):273-80, 2007.

Dirección para Correspondencia:
Angélica Melo Angermeyer
Laboratorio Patología Molecular
Depto. Anatomía Patológica
Universidad de La Frontera
Temuco
CHILE

Email: angelica.melo@ufrontera.cl

Recibido : 28-05-2014
Aceptado: 25-07-2014