

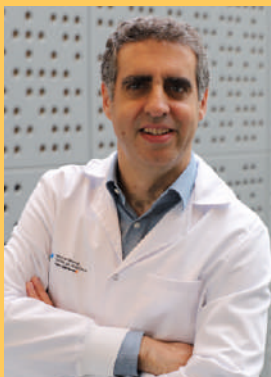
# Una Visión Personal de la Epigenética: De la Biología a la Aplicación Médica

Manel Esteller Badosa



Reial Acadèmia Europea de Doctors  
Real Academia Europea de Doctores  
Royal European Academy of Doctors

BARCELONA - 1914



## **MANEL ESTELLER BADOSA**

**(Sant Boi de Llobregat, 1968)**

Es uno de los referentes internacionales en epigenética y en la investigación del cáncer. Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Barcelona (UB) es Catedrático de Genética en la Facultad de Medicina de la misma, siendo también Profesor de Investigación en la Institución Catalana de Investigación y Estudios Avanzados (ICREA). Después de su formación en el Hospital Vall d'Hebron, la Universidad de Saint Andrews en Escocia y el centro oncológico de la Universidad Johns Hopkins, fundó el Grupo de Epigenética del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), en Madrid siendo el primer laboratorio en investigar esta disciplina aplicada a la oncología en Europa. Después de dirigir el Programa de Epigenética y Biología del Cáncer (PEBC), en el campus biomédico de Bellvitge, es en la actualidad director del Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras (IJC), en Barcelona. Entre otros galardones ha recibido el Premio Carmen y Severo Ochoa de Investigación en Biología Molecular, el Premio Nacional de Genética, el Premio Rey Jaime I, el Premio Nacional de Investigación de la Generalitat de Catalunya y el Premio Internacional Catalunya. Es autor de más de 600 publicaciones, siendo considerado según la Universidad de Stanford uno de los científicos más citados a nivel mundial.





# **Una Visión Personal de la Epigenética: De la Biología a la Aplicación Médica**

**Excmo. Sr. Dr. Manel Esteller Badosa**



# Una Visión Personal de la Epigenética: De la Biología a la Aplicación Médica

Discurso de ingreso en la Real Academia Europea de Doctores, como  
Académico Numerario, en el acto de su recepción  
el 28 de septiembre de 2023

por

**Excmo. Sr. Dr. Manel Esteller Badosa**  
Doctor en Medicina y Cirugía

y contestación de la Académica de Número

**Excma. Sra. Dra. Carol Moreno Atanasio**  
Doctora en Medicina y Cirugía

**COLECCIÓN REAL ACADEMIA EUROPEA DE DOCTORES**



Reial Acadèmia Europea de Doctors  
Real Academia Europea de Doctores  
Royal European Academy of Doctors

BARCELONA · 1914

[www.raed.academy](http://www.raed.academy)

© Manel Esteller Badosa

© Real Academia Europea de Doctores

La Real Academia Europea de Doctores, respetando como criterio de autor las opiniones expuestas en sus publicaciones, no se hace ni responsable ni solidaria.

Quedan rigurosamente prohibidas, sin la autorización escrita de los titulares del “Copyright”, bajo las sanciones establecidas en las leyes, la reproducción total o parcial de esta obra por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático y la distribución de ejemplares de ella mediante cualquier medio o préstamo público.

Producción Gráfica: Ediciones Gráficas Rey, S.L.

Impreso en papel offset blanco Superior por la Real Academia Europea de Doctores.

ISBN: 978-84-09-54513-1

D.L: B 18043-2023

Impreso en España –Printed in Spain- Barcelona

Fecha de publicación: septiembre 2023



# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS .....	9
<b>DISCURSO DE INGRESO</b> .....	11
PREFACIO .....	11
INTRODUCCIÓN A LA EPIGENÉTICA .....	13
GEMELOS, CLONACIÓN Y AMBIENTE .....	31
EPIGENÉTICA, EVOLUCIÓN, CÁNCER Y OTRAS ENFERMEDADES .....	37
FÁRMACOS EPIGENÉTICOS.....	49
NUESTRA CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LA EPIGENÉTICA ..	53
EXPECTATIVAS DE FUTURO .....	61
PARA SABER MÁS .....	63
DISCURSO DE CONTESTACIÓN.....	83
<b>Publicaciones de la Real Academia Europea de Doctores</b> .....	91





## ☒ AGRADecIMIENTOS

- A los académicos RAED por admitirme entre ellos.
- A la Dra. Carol Moreno por nominarme para este reconocimiento.
- A mi secretaria Esperanza Marín por su ayuda en la preparación del acto de admisión en la RAED.
- A la joven investigadora Yoana Veselinova por crear las Figuras mostradas en este libro y a la Dra. Verónica Dávalos por la supervisión de su contenido.
- A los miembros de mi grupo de investigación y personal de apoyo.
- A los financiadores de mi investigación.
- A mis buenos profesores y mentores.
- A mi familia y amigos.
- A todas las personas que sufren una enfermedad y nos miran.





## ☒ PREFACIO

Excelentísimo Señor Presidente de la Real Academia de Doctores  
Excelentísimas Señoras Académicas y Excelentísimos Señores  
Académicos.

Autoridades.

Señoras y Señores.

Las ciencias biomédicas están en constante cambio y así debería ser. Muchos de los conocimientos más recientes en esta área, aún no se han incorporado de forma destacada en los libros de texto y el material que usan los estudiantes universitarios. Aunque a veces nos llegan sorpresas. Como recibir peticiones en el laboratorio para realizar el trabajo de investigación de Epigenética de alumnos aún no universitarios. Una disciplina que tiene sus raíces en décadas muy pasadas, pero que en los últimos años ha vivido un resurgimiento increíble. Parte del renacimiento de la Epigenética es debido a la existencia de tests basados en sus marcadores para detectar ciertas enfermedades como el cáncer o determinar la edad biológica de un individuo. Pero el paso clave ha sido seguramente la aprobación de diversos fármacos epigenéticos para tratar diversas patologías neoplásicas. Un éxito que ha sido fruto del esfuerzo de varias generaciones de científicos, desde bioquímicos a biólogos estructurales a investigadores traslacionales y clínicos. En este libro les expongo las bases de la Epigenética y de cómo de ser una disciplina oscura se convirtió en el foco de investigación de tantos grupos de investigación en el mundo. Deseo que disfruten de su lectura.





## ❖ INTRODUCCIÓN A LA EPIGENÉTICA

La estructura íntima de las células son las biomoléculas que las forman. Desde las proteínas a los azúcares o a los lípidos. Aunque especialmente para mí destacan los ácidos nucleicos. Después de que se repiten constantemente en los medios palabras como genoma, ADN, secuenciación, mutación..., ahora podemos usar estos términos con más comodidad. Además, los descubrimientos científicos se han vuelto cada vez más materia informativa y de divulgación para el público no especialista, ampliando su impacto en la sociedad. Estamos acostumbrados a leer páginas de “*ciencia sencilla*” en periódicos y revistas de información general. También se producen programas de televisión sobre dichos temas y debates sobre cuestiones científicas de interés general donde se mezclan cuestiones puramente éticas y morales con aspectos científicos. Conscientes de su impacto en la opinión pública, en muchos casos se hacen predicciones fatalistas sobre el futuro de algunas tecnologías y posibilidades de las mismas como clonar a un ser humano. Ignorando cuanto ha hecho la Ciencia por nosotros. Por ejemplo, la investigación sobre clonación y sus metodologías nos pueden llevar a una mejor comprensión del desarrollo de los mamíferos, con importantes implicaciones biomédicas. Pero hay limitaciones técnicas, muchas de ellas debidas a una reprogramación epigenética incorrecta. Otro ejemplo del impacto de la epigenética en un área de interés general es su conexión con los tumores. El componente genético del cáncer se conoce desde hace muchas décadas y ha sido clave para avanzar en el desarrollo de diagnósticos y terapias. Asimismo, en los 30 años hemos asistido al establecimiento de un vínculo cada vez más claro entre el cáncer y las

alteraciones epigenéticas, ya sea la metilación del ADN o las modificaciones de histonas. Una búsqueda rápida bibliográfica nos dará miles de impactos y de forma creciente. Pero la Epigenética va más allá, de la medicina y la biología con importancia exponencial en la agricultura y la industria entre las disciplinas más alejadas de la biomedicina. Los ejemplos en biotecnología forestal y ganadera son numerosos. Finalmente, fenómenos como la latencia viral, incluida la del VIH y COVID-19, están también directamente relacionados con la epigenética. Así pues, muchos investigadores se han sumado al “carro” de la epigenética desde sus campos de conocimiento particulares. La epigenética no es una nueva subespecialidad en el vasto mundo de la genética, sino una disciplina distinta, pero imbricada con la segunda. Desde los primeros cambios epigenéticos descritos en cáncer a mediados de los 80 a los conocimientos derivados de la tecnología de célula única en este 2023, el progreso ha sido vertiginoso. Todos los centros de investigación más reconocidos del mundo y las universidades más conocidas cuentan con laboratorios o Departamentos enteros dedicados a este campo.

Y el sector privado también ha irrumpido, donde han surgido empresas dedicadas al desarrollo de tecnologías puramente epigenéticas o de fármacos basados en revertir las marcas epigenéticas alteradas. En algunos casos, el objetivo final de estas empresas de obtener nuevos medicamentos para tratar enfermedades humanas ha llegado a su aprobación sanitaria, así como también están disponibles “kits” de detección de enfermedad y envejecimiento basados en las señales epigenéticas. Recapitemos el concepto de epigenética. Se puede decir que la epigenética estudia la actividad del genoma que no depende de los factores de los que tradicionalmente es responsable la genética como sería su secuencia. Si la información genética está codificada en secuencias de ADN, la epigenética es el es-



tudio de la información que puede transmitirse sin estar codificada en la secuencia “desnuda” de ADN. Demos un ejemplo metafórico. La información contenida en el ADN equivale a las letras de un libro y las modificaciones epigenéticas serían subtítulos, letras mayúsculas y minúsculas, puntuación. La genética es el abecedario y la epigenética su gramática. Una frase contiene información esencial, pero un signo de interrogación puede cambiar completamente su significado. De manera similar, la naturaleza utiliza códigos simbólicos para transmitir la información contenida en el ADN. La información almacenada en las modificaciones epigenéticas es de importancia comparable a la información genética escrita en las letras del ADN. Si queremos profundizar en las consecuencias de los efectos epigenéticos y los diversos aspectos relacionados con la epigenética, tendremos que realizar una introducción o repaso de algunos conceptos básicos en genética y biología molecular. Pero, ¿cómo funciona la epigenética? ¿es distinta entre organismos y seres vivos? ¿Sigue siendo la genética una parte dominante del plan general o es la epigenética la que ahora manda? ¿Cómo contribuye la epigenética a la historia natural del cáncer? ¿Y qué papel juega en el desarrollo de nuevas terapias?

Aquello que no vemos nos atrae. Algunas de las preguntas actuales en el campo de la epigenética son cuestiones que ya formularon los biólogos hace más de cien años, como el enigma de qué guía la formación de un embrión después de la fusión del óvulo y el espermatozoide. Así, aunque el término “epigenética” no se encuentra en la literatura hasta mediados del siglo XX, el término “epigénesis” se utilizó por primera vez ya en 1850. Casper Friedrich Wolff expuso que la epigénesis abarcaba la misteriosa fuerza de la naturaleza a través de la cual se realiza la formación de estructuras. Precioso. Creado desde cero, a partir de la masa aparentemente desestructu-

rada resultante de la unión del óvulo y el espermatozoide se origina un cigoto, un embrión, un feto, un recién nacido y un ser adulto siguiendo el libro de instrucciones epigenético. Sin saberlo Wolff se adelantó a conceptos como el proceso de reprogramación y regulación controlada de la expresión genética. El término epigenética no aparece hasta 1942. Conrad H. Waddington de la Universidad de Edimburgo, lo introduce para explicar la relación entre genotipo y fenotipo. Es decir, cuánto de lo que somos es heredado y cuánto nos viene dado por el ambiente. *Nature vs Nurture*. Waddington no pudo proporcionar ningún modelo validado de los procesos epigenéticos, pero su definición lo convirtió en el progenitor histórico de la epigenética moderna. Cuarenta años después, Robin Holliday retomó el tema introduciendo que las propiedades de los genes en organismos superiores posee dos apartados. Uno, mecanismos por los cuales se transmiten de generación en generación, que es el componente central genético que se comprende bien. Segundo, un modo de acción de un organismo a medida que se desarrolla desde el óvulo fertilizado hasta el adulto en buena parte desconocido. Y añade: “*Los cambios en la actividad genética durante el desarrollo se conocen como epigenética...*” Sus investigaciones posteriores añadirían que los cambios en la expresión genética ocurren no sólo durante el desarrollo sino también durante el estado adulto. En este contexto, Holliday redefine la epigenética como “*el estudio de los cambios en la expresión genética que ocurren en organismos con células diferenciadas, y la herencia mitótica de un patrón de expresión dado*”. Una definición que todavía no nos revela cuales son los mecanismos que llamamos epigenéticos. Sugiere cualquier tipo de interacción ADN-proteína, así como cambios a nivel del ADN. Recordemos que el ADN puede sufrir cambios permanentes que afectan la secuencia (mutaciones), y estas nuevas secuencias se transmiten en generaciones sucesivas. Pero puede haber cambios hereditarios

directamente relacionados con la expresión genética que son reversibles en etapas posteriores y no implican cambios en el ADN. Es decir, una herencia de la información alojada en el núcleo celular no basada en diferencias en las secuencias del ADN. Cambios en la función de los genes heredados durante la mitosis (de una célula somática a otra) y la meiosis (en células germinales) sin que impliquen cambios en la secuencia del ADN.

¿Pero de qué tipos de cambios estamos hablando, cuál es su relevancia y bajo qué circunstancias ocurren? ¿cuál es el sustrato biológico y químico de estos cambios? De hecho, las modificaciones epigenéticas se han considerado casi un misterio durante años. Para la genética convencional, parece complicado que un gen pueda tener la misma secuencia genética pero diferentes estado de activación en función de múltiples circunstancias. Esta paradoja se resuelve asumiendo que además de las secuencias, los estados de expresión pueden establecerse y heredarse mediante patrones de marcas químicas. Modificaciones que determinan cuantitativamente y cualitativamente la expresión génica. Estas modificaciones fueron identificadas y pueden ser de dos tipos principales, dependiendo de si el propio ADN es el objetivo de la modificación, o si la modificación se produce en proteínas asociadas al ADN (denominadas histonas). El lenguaje del ADN se basa en cuatro letras: A, T, C y G (las bases nitrogenadas que se hallan formando los nucleótidos). Estas cuatro letras forman una palabra de tres letras (codón) que corresponde a los aminoácidos que forman primero los polipéptidos y luego las proteínas. Pero hay una quinta letra oculta del código muy abundante: la C (citosina) metilada. Así, cuando hablamos de cuatro letras, estamos simplificando y un análisis fino de la composición de bases del ADN de un organismo nos permitirá encontrar bases distintas a las originales y famosas A, T, C y G. La variante más

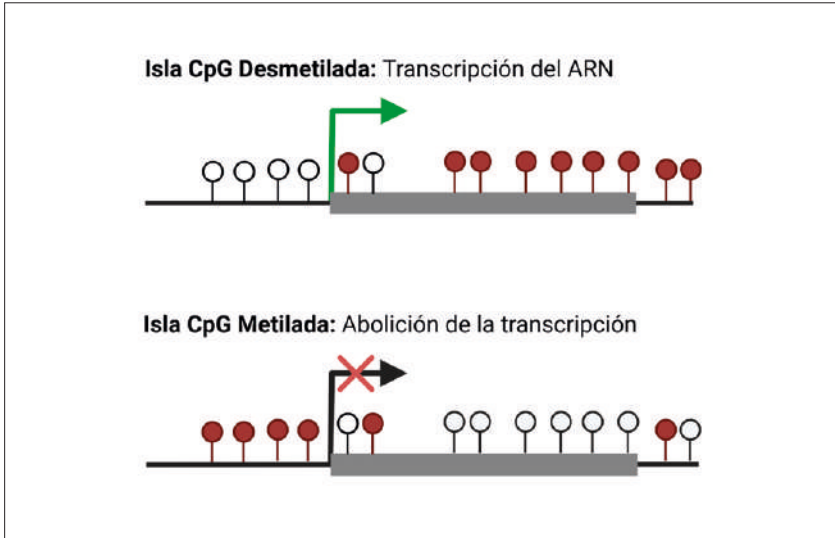
abundante es la 5-metilcitosina. Una citosina acentuada por un grupo metilo. La C metilada sigue formando pareja con la G (bases complementarias C-G), es decir, la maquinaria de replicación de la célula sigue reconociéndola como C. Entonces...¿Para qué sirve? La acentuación de C y metilo tiene sus propias reglas. La C suele estar metilada cuando le sigue G en el ADN humano (las plantas y otros seres vivos tienen más heterogeneidad de acentuación). Es decir, la metilación de C ocurre en combinaciones CG, también denominadas CpG (la “p” simboliza el fosfato, la columna vertebral del ADN que conecta C con G). Dado que el ADN consta de dos hebras complementarias, la metilación se produce tanto en la C de la secuencia CpG de una cadena como en la C de la secuencia complementaria. ¿Qué confiere este acento químico metilo a la C? Debe ser leído por algún mecanismo en el núcleo de la célula. Esta riqueza de información de secuencia específica y esa tilde especial deben tener un significado.

La información dual proporcionada por la metilación del ADN consiste en la información genética que codifica para aminoácidos, pero al mismo tiempo controla (entre muchos otros mecanismos) la expresión (transcripción) del gen subyacente. Las secuencias de ADN de mamíferos nos muestran que sus genomas no son muy ricos en CpGs. Existen C y G con frecuencia individualmente, pero las CpG juntas son pocas. Y no están distribuidas uniformemente: existen regiones cortas donde la densidad de CpG es alta. Se denominan islas CpG: en un océano vacío de este dinucleótido existen estos tramos de entre 500 y 2,000 bases de ADN con frecuencia de CpG muy alta. Lo más interesante es que estas islas CpG coinciden frecuentemente con regiones controladoras de la actividad de los genes. Recordemos que la secuencia reguladora de un gen no produce directamente proteínas sino que controla la producción de ARN (ácido ribonucleico), siendo

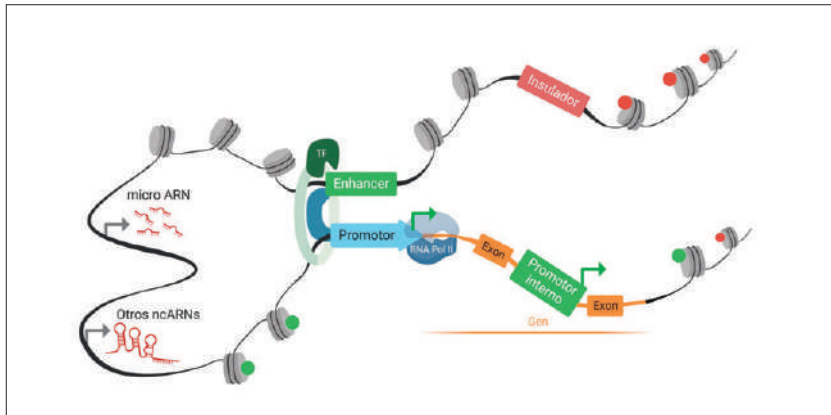
el llamado ARNm (mensajero) el intermediario para originar las proteínas. Es decir, las regiones reguladoras de muchos genes contienen islas CpG.

El estado de metilación de las CpGs no es uniforme en todo el genoma. En general, las CpG que no se encuentran dentro de las islas CpG (es decir, las CpG que aparecen esporádicamente en la secuencia) están metiladas. Por el contrario, las CpG que se encuentran dentro de las islas CpG normalmente no están metiladas. No debemos perder la perspectiva de que el estado de metilación no afecta la secuencia ni el aminoácido que origina ese gen si está en un tramo codificante (exón). Entonces ¿a qué afecta? Pues particularmente a como los genes “hablan”. Es decir a la actividad transcripcional, la generación de ARN a partir de la secuencia de ADN. De forma general, cuando la secuencia está metilada se produce una represión transcripcional del ARN originado en el gen diana. Así la metilación en las islas CpG actúa como un semáforo que da luz verde (cuando está ausente), que promueve, o roja (cuando está presente), que impide, la transcripción génica (**Figura 1**). Otra metáfora: el gen es como una fábrica. La secuencia de ADN desnuda contiene instrucciones para producir proteínas utilizando ARN: son los operarios de la factoría. En cambio, la metilación del ADN (y también el resto de marcas epigenéticas como las modificaciones de las histonas) son los vigilantes de la fábrica que controlan, por otro lado, cuando es necesario producir una proteína: tienen la información y el poder para activar o detener la maquinaria. Es importante destacar que en los últimos tiempos, la regulación de la expresión génica regulada por la metilación del ADN se ha expandido más allá de las clásicas islas CpG, abarcando secuencias reguladoras a distancia del origen de transcripción (enhancers, insuladores, regiones del cuerpo génico...) pero que en el espacio tridimensional de una célula viva son muy cercanas (**Figura 2**).

**Figura 1.** Esquema general de un gen con su correspondiente isla CpG desmetilada (globos blancos) o hipermetilada (globos marrones) asociada a activación o represión de la transcripción, respectivamente.



**Figura 2.** Diferentes localizaciones del genoma susceptibles de ser reguladas por la metilación del ADN para controlar la transcripción de ARN mensajeros y no codificantes.



Un área de creciente interés es diseccionar quién puede leer la metilación del ADN, buscando identificar la forma en que

los factores del núcleo interpretan la información codificada en mapas de metilación específicos. Así como la información codificada en secuencias de ADN se transcribe y, en el caso del ARN mensajero, se traduce en proteínas a través del código genético, la pregunta radicaba si había sistemas para leer la información codificada por patrones de metilación del ADN. Un hallazgo clave sobre los cambios asociados con la metilación del ADN fue el descubrimiento de que la metilación genera una estructura de cromatina “cerrada”, más compacta e inaccesible. Al mismo tiempo, la metilación del ADN se asocia con una actividad transcripcional ausente, por tanto ambas observaciones están ligadas. La compactación de la cromatina por la metilación del genoma hace que sea más dificultoso para la maquinaria de transcripción acceder a las regiones “reguladoras” de los genes, lo que resultará en una disminución de la transcripción. ¿Qué conecta la metilación del ADN y los cambios en la compactación de la cromatina?

La idea a explorar fue que existen proteínas o factores nucleares que reconocen o se unen al ADN de manera diferente dependiendo de si está metilado. La unión de estos factores desencadenaría la formación de estructuras de cromatina incompatibles con el acceso a la maquinaria de transcripción. Este concepto estimuló la búsqueda de factores que diferenciaran entre ADN metilado y no metilado. En la década de 1990, se aislaron dos actividades nucleares con la capacidad de unirse al ADN metilado que denominaron MeCP1 y MeCP2. Estudios del Laboratorio de Edimburgo del Dr. Adrian Bird, y los Institutos Nacionales de Salud (NIH) del Dr. Alan Wolfe identificaron el fragmento de la proteína MeCP2 que le permite unirse al ADN metilado. Este “motivo” era una parte común de otras cuatro proteínas que fueron identificadas poco después; MBD1, MBD2, MBD3 y MBD4, que junto con MeCP2 forman la familia conocida como Methyl-CpG Binding Proteins

(MBDs). Las mismas forman asociaciones dinámicas con otras proteínas, modificando así el grado de compactación de la cromatina uniéndose a otras proteínas que modifican las histonas como las Histona Desacetilasas (HDACs). MeCP2 resultó años después ser una proteína de gran importancia para la salud humana porque sus mutaciones causan un enfermedad en teoría “rara”, denominada síndrome de Rett, pero que en realidad es la segunda causa más frecuente de retraso mental en mujeres después del síndrome de Down. Así pues, el establecer un vínculo entre la metilación del ADN y las modificaciones de la cromatina para determinar la actividad genética proporciona un mecanismo del proceso de inactivación transcripcional relacionado con la metilación.

Estos descubrimientos estimularon el interés de investigadores en campos diversos. Desde el extremo de investigadores básicos interesados por la metilación del ADN e investigadores de la cromatina hasta aquellos científicos interesados en el impacto de estos mecanismos en enfermedades humanas como el cáncer y otras. Una vez caracterizadas en parte las claves de como una modificación epigenética (la metilación del ADN) permite a las células regular la expresión de los genes a los que afecta, y los mecanismos por los cuales la metilación altera la estructura de la cromatina, la siguiente pregunta fue quién determina la metilación del ADN y cómo se transmite de una generación a la siguiente. Vayamos por partes. ¿Quiénes son los actores principales? Los enzimas que metilan el ADN. La metilación del ADN es el resultado de la acción de toda una maquinaria especializada. Específicamente, la metilación del ADN es producto de la actividad enzimática de las ADN metiltransferasas (DNMTs). Son proteínas con actividad enzimática encargada de añadir un grupo metilo a la C deseada. Como una antigua máquina de escribir que de vez en cuando acentúa la “C”. Las DNMTs son responsables de la transferencia de grupos me-



tilo desde el donante universal S-Adenosilmetionina (SAM) a la citosina del ADN. Por tanto las DNMTs incorporan información en el ADN que no está codificada por secuencias de nucleótidos. El ADN debe copiarse (“replicarse”) antes de que una célula pueda dividirse para originar dos células hijas, usando la complementariedad de bases (C-G, A-T) de las dos cadenas que componen el ADN. Para fines de replicación, la 5metilC se comporta igual que la C, pero sin el grupo metilo. El resultado es que una de las hebras está metilada según el patrón original, mientras que la otra no. Así al menos una de las cadenas hijas del ADN está metilada y ahora se necesita un mecanismo para poner acentos en hebras complementarias. De eso se encargan las DNMTs de *mantenimiento* como DNMT1, una enzima que ahora conocemos que también está mutada en una enfermedad minoritaria. Así, la posibilidad de metilación de la cadena complementaria ha completado la tarea y las moléculas de ADN están listas para transmitir la información epigenética a las células descendientes. Así pues el mecanismo que permite la metilación de la cadena complementaria es el mantenimiento por parte de estas DNMT que añaden el grupo metilo en la C del dinucleótido CpG complementario al CpG ya metilado.

Existe un segundo grupo de DNMTs, de maquinarias de metilación, las denominadas DNMT *de novo*, encargadas de metilar por primera vez un par de CpGs no metiladas. Las más reconocidas en esta familia son DNMT3A y DNMT3B. Se ha observado que sus alteraciones tiene consecuencias graves para las células, estando implicadas sus mutaciones en el desarrollo de cáncer, principalmente leucemia (DNMT3A) y enfermedades raras como el síndrome de inmunodeficiencia, inestabilidad de la región centromérica y anomalías faciales (ICF) debido a mutaciones en DNMT3B. Los excesos de actividad de estos enzimas y su acción sobre dianas incorrectas, por ejemplo en CpGs

que no deberían metilarse, causan la pérdida de transcripción de los genes que controlan (silenciamiento transcripcional) alterándose la homeostasis celular.

De mis líneas anteriores se desprende que el dibujo del ADN como una simple doble cadena recta y desnuda es incorrecto. Mejor imaginarlo como un collar de perlas flotando en el espacio donde las mismas serían los nucleosomas o como ovillos de lana de coser. La caracterización de los mecanismos que vinculan la metilación del ADN y los mecanismos de modificación de la cromatina nuclear proporcionó un nuevo impulso para el estudio del papel activo de la cromatina en el control de la actividad génica. Si tradicionalmente, la cromatina había sido considerada una estructura estática con una función puramente estructural, ahora se empezó a ver como una estructura cambiante y dinámica. Adaptable a las circunstancias celulares y moleculares. Como mencioné anteriormente, la histonas son fundamentales para empaquetar los dos metros de ADN humano por célula en el núcleo. Las imágenes microscópicas de cromatina descomprimida revelan un esqueleto (secuencia ADN) con complejos globulares alrededor de los cuales se enrolla este ADN a intervalos. Recordemos que esta unidad estructural de la cromatina, DNA + histonas, se denomina nucleosoma. Cada uno está compuesto por ocho proteínas histonas de cuatro tipos diferentes, rodeadas por un fragmento de ADN con la extensión de 147 bases. La mayoría de la secuencia de aminoácidos de las histonas permanece inaccesible dentro del nucleosoma, pero las “colas” de las histonas quedan expuestas y pueden ser modificadas químicamente, regulando su actividad. Después de la excitación de los primeros estudios que caracterizaron la cromatina en la década de los 70, la idea de que era estática disminuyó su estudio en los siguientes años. No fue hasta la década de los 90 que nuevos trabajos estructurales hicieron renacer la investigación sobre la cromatina. Además se descu-

bió que secuencias estructurales de las histonas se encuentran también en factores de transcripción y por tanto son responsables de las interacciones entre las histonas y con el ADN: otro puente entre familias distintas de proteínas. Más increíbles hallazgos estaban por venir. Los 90 fueron testigo de avances en el descubrimiento de complejos multiprotéicos dedicados a las modificaciones de la cromatina: estas superestructuras forman parte de la propia cromatina y son las responsables de que ésta adopte diferentes estructuras, más o menos propensas o refractarias a la actividad transcripcional.

Hablemos de éstos nuevos controladores de la cromatina. En primer lugar hay grupos de proteínas que utilizan la energía proporcionada por determinadas moléculas (por ejemplo ATP) para mover nucleosomas arriba y abajo en la secuencia de ADN, cambiando la estructura de la cromatina. Son los denominados complejos de remodelación de la cromatina (como las proteínas del complejo SWI/SNF) y permiten a los nucleosomas deslizarse en el ADN. Este movimiento hace accesible a factores de transcripción nucleares determinadas secuencias de ADN que antes estaban cubiertas por el octámero de histonas. O al revés: colocan el octámero de histona sobre la diana de un factor de transcripción para esconderlo. Estos efectos del complejo de remodelación están muy regulados y son específicos de la cromatina asociada a la porción reguladora de un gen específico. Así, el desplazamiento del nucleosoma puede permitir que la maquinaria transcripcional acceda a la secuencia, dando como resultado la síntesis de ARN. O el complejo remodelador de la cromatina tiene un efecto contrario, originando una estructura de cromatina cerrada e inabordable a la maquinaria transcripcional.

El otro gran mecanismo que modifica la cromatina son las modificaciones de las histonas y sus proteínas asociadas, a las que

me he referido brevemente con anterioridad. Existen enzimas actúan directamente sobre las histonas, añadiendo grupos químicos (acetilo, metilo, fosforilo...) que modifican de forma post-traduccional las histonas. En este caso la “tilde” está en las histonas en un lenguaje paralelo y complementario al “acento” del ADN. Estas señales de histonas que afectan la actividad del ADN por tanto no se colocan en el ADN mismo, sino en su envoltura. Se parecería un poco al sistema de reconocimiento de un producto tipo “código de barras” en el supermercado. Aquí lo llamamos “código de histonas” y es particularmente complejo ya que, a diferencia de las modificaciones del ADN, existe mucha diversidad en los tipos y números de modificaciones químicas que sufren las histonas así como los aminoácidos afectados. Y cada una de las diferentes formas de marcar las histonas puede tener significado para determinar el grado de activación transcripcional o incluso estar implicado en otras vías celulares como la reparación del ADN.

Combinando lo explicado en los párrafos anteriores, el estado epigenético es el resultado de dos componentes. El primero, la existencia de diferentes estados dependiendo de la posición del nucleosoma a lo largo de la secuencia del ADN determinada por los complejos remodeladores de cromatina. Que determinan si secuencias de ADN son accesibles o no a los factores de transcripción. Como toda marca epigenética, por definición, éstas posiciones son hereditarias. Y un segundo componente que es el estado epigenético dependiente del código de histonas, porque estas proteínas especializadas tienen su propio lenguaje asociado al número, tipo y lugar de la modificación química. De esta forma, igual que sucedió con los nucleosomas, las histonas han pasado de ser proteínas estructurales poco atractivas para los investigadores a factores moldeables y adaptables para regular la expresión de los genes. A nivel de estructura íntima las histonas son un ejemplo de cómo la evolución puede

producir proteínas extremadamente similares (“conservadas”). Comparando especies distantes evolutivamente encontramos muy pocas diferencias entre la secuencia de aminoácidos de sus histonas. Quizás es debido a que funcionan tan bien que por qué sería necesario crear una diversidad excesiva.

Los mecanismos epigenéticos que he descrito anteriormente son claves para regular la expresión de nuestros genes codificantes, pero este ADN “normal” (el clásico asociado con los caracteres mendelianos) que produce las proteínas constituye sólo el 10% del genoma humano. El 90% restante fue denominado primero, de forma un tanto despectiva, genoma basura. Luego se sofisticó y se denominó “genoma oscuro”. Hoy sabemos, que un 45% del mismo son vestigios evolutivos de cuando éramos otra cosa: bacterias, pequeños eucariotas, diminutos seres pluricelulares, gusanos, peces o modestos mamíferos... A estas secuencias se les suman parásitos moleculares: miles de inserciones de ADN pertenecientes a muchos virus que hemos ido adquiriendo. La mayoría están silentes, pero se activan en muchas enfermedades. Así pues, cuando miramos dentro de nosotros mismos, nuestros genomas acogen otros organismos parasitarios, virales y pseudovirales incrustados en nuestro ADN. Secuencias que solo buscan sobrevivir y perpetuarse. No podemos permitirlo. Si lo hiciéramos éstas secuencias móviles comenzarían a ir de una región cromosómica a otra, creando una pesadilla. Podrían colocarse en uno de nuestros propios genes, causando su inactividad; o también podrían arrastrar en sus saltos secuencias de nuestro ADN. Algunos cánceres empiezan así. Debemos silenciar a nuestros parásitos moleculares: que estén quietos y no se expresen. El correcto programa epigenético es el encargado de controlarlos. Entre otros mecanismos, la metilación del ADN evita que estos parásitos puedan expresarse. Lo realiza de dos maneras: induciendo una metilación densa de la isla CpG donde se origina el ARN del endoparásito

o usando la metilación de estas secuencias virales integradas en el ADN como precursora de mutaciones genéticas ya que la “C” metilada es susceptible a desaminación, que convierte a la C metilada en T (mutación tipo transversión). Y éste cambio genético también inactiva al endoparásito. Es curioso pues: un cambio epigenético fulmina a la secuencia endoviral, pero otro solo provoca su “sueño”. ¿Podrán despertarse estas últimas? ¿Confiere una ventaja evolutiva?

Pero nos queda todavía un 45% del genoma pendiente de asignar función. Una gran parte del mismo genera moléculas de ARN que no originan proteínas, son los llamados ARN no codificantes (ncRNAs) (**Figura 2**). Sus funciones son múltiples desde regular los niveles de ARN mensajero a unirse a proteínas (entre las mismas enzimas modificadoras de las histonas) para modular su actividad. En la gran familia de moléculas de ARN no codificantes, los miembros más reconocidos son los microARNs, moléculas pequeñas de 20 a 21 nucleótidos que pueden a su vez reprimir o activar muchos genes productores de proteínas. Pero es que además hay otros muchos miembros de los ncRNAs: desde los diminutos piRNAs que controlan el desarrollo de los testículos, a XIST que desencadena la inactivación de un cromosoma X en mujeres, a ncRNAs más largos como los ARN antisentido y T-UCRs (Transcribed Ultraconserved Regions) que regulan la actividad de otros ncRNAs y ARN mensajeros. Algunos investigadores incluyen a los ncRNAs como marcas epigenéticas por su capacidad de regular a las proteínas involucradas en la metilación del ADN, modificación de histonas y remodelación de la cromatina. Su aceptación o no en la mundo de la Epigenética todavía es motivo de discusión en los congresos.

Una vez explicadas las bases de las distintas modificaciones epigenéticas y de sus respectivas maquinarias, me gustaría que

me acompañaran en distintos ejemplos de biología y medicina donde se demuestra la importancia y eficacia de los mismos.







## ☒ GEMELOS, CLONACIÓN Y AMBIENTE

El ADN es un libro de instrucciones, pero debe ser leído correctamente. Incluso un mismo libro en un lenguaje común al ser leído por personas diferentes puede ser interpretado de forma distinta. Es la dicotomía Genotipo vs Fenotipo. Existen distintos ejemplos donde seres vivos con la misma secuencia de ADN pueden tener aspectos distintos, desde los animales clonados a personas que sufrieron o no cambios importantes en el ambiente que las rodeaba, como diversas hambrunas descritas en la historia. Nosotros proporcionamos un ejemplo de esta eterna lucha *Nature vs Nurture* en el contexto de los gemelos monocigóticos. ¿Pueden dos personas con el mismo ADN tener enfermedades diferentes y variables antropomórficas distintas? Los estudios científicos así lo recogen, pero no explican los motivos. El ADN desnudo no lo es todo, la epigenética le da significado. Demostramos que los gemelos monocigóticos con genomas idénticos pueden tener epigenomas diferentes. Esta idea se postuló por primera vez en 2005, cuando publicamos un artículo en PNAS, la revista oficial de la Academia Nacional de Ciencias, mostrando que gemelos monocigóticos exhiben diferencias epigenéticas, concretamente a nivel de metilación del ADN y modificaciones de histonas. El descubrimiento cambió la forma en que los investigadores entendían la relación entre el genoma, el epigenoma y el medio ambiente y ha originado centenares de artículos posteriores estudiando gemelos discordantes para todo tipo de enfermedades. Un resultado del estudio mostraba también que la mayoría de los gemelos son genética y epigenéticamente idénticos al nacer, pero luego cambian sus epigenomas. Lo llamamos “*deriva epigenética*”, como si fuera una balsa de modificaciones epigenéticas arras-

trada por la corriente de la edad. A medida que los gemelos se hacían mayores, mayores eran sus diferencias epigenéticas. En cambio, cuanto más tiempo pasaban juntos, más se parecían sus marcas químicas epigenéticas. El ambiente y los hábitos tóxicos, comunes o no, dejaban su huella. Entre los factores decisivos que explicaban las diferencias encontramos el uso de sustancias externas como el tabaco, así como el estilo de vida sedentario vs la actividad física y el tipo de dieta y consumo de alcohol. Aquel primer estudio ha sido verificado por otros usando técnicas más sofisticadas surgidas en los últimos años. Es especialmente interesante para la comunidad biomédica el caso de los gemelos discordantes, especialmente cuando dos gemelos idénticos son portadores de la misma mutación patológica asociada al riesgo de padecer una enfermedad, pero uno la desarrolla y el otro no, o muchos años después. La epigenética nos revela que el gemelo que está en proceso de desarrollar la enfermedad relacionada presenta cambios epigenéticos lesivos que aceleran el curso de la patología. De nuestro laboratorio surgió en este campo la observación de que entre hermanas gemelas monocigóticas portadoras de mutaciones en los genes de cáncer de mama hereditario BRCA1 y BRCA2, discordantes para la aparición del tumor, la epigenética estaba implicada. Con anterioridad al diagnóstico clínico de cáncer de mama, la gemela que desarrollaba precozmente el tumor presentaba cambios en la metilación del ADN.

La clonación de seres vivos ha proporcionado otro ejemplo del poder de la Epigenética y de su reprogramación. Entre otros detalles la archifamosa oveja “Dolly”, genéticamente idéntica a su madre, presentó precozmente obesidad, diabetes de tipo II y artrosis debido a un defecto de metilación de la vía de la insulina. Pero vayamos paso a paso. Somos ya capaces de generar para muchos seres vivos un organismo con la misma secuencia de ADN que el organismo original, es decir, con los mismos

genes, pero no somos tan eficaces copiando su epigenética. El clon es una fotocopia borrosa. Los clones exhiben el mismo ADN que el donante pero unas marcas de metilación de ADN y modificación de histonas distintas. Volvamos a Dolly. En 1997, la clonación de la oveja Dolly, desató un debate que aún alimenta polémica. Ian Wilmut y su equipo, del Instituto Roslin de Escocia, logró clonar por primera vez un animal a partir de células diferenciadas de un animal adulto. Un mamífero no producido por relaciones sexuales o la combinación de espermatozoides y óvulos en el laboratorio. Dolly fue clonada transfiriendo el núcleo de una célula de la glándula mamaria de una oveja adulta al óvulo de otra oveja y, después el embrión fue transferido al útero de una madre receptora. Parecía un éxito, pero...¿Y si lo miramos desde el punto de vista epigenético? El proceso de clonación de Dolly se basó en la transferencia nuclear, se extrajeron células de la glándula mamaria y estas células contienen todos los genes del organismo, pero sólo se encuentran activas aquellas secuencias necesarias para la actividad de ese tejido. Con posterioridad a la extracción, las células crecen y se dividen en medio de cultivo, generándose así una población de miles de copias de ADN de las células originales. Pero el epigenoma puede haber ya cambiado. Luego la generación de embriones viables requiere la reprogramación desde su función original hasta ser núcleo embrionario. Después de preparar óvulos no fecundados de otra oveja, extraemos el núcleo del óvulo, pero en principio con las proteínas necesarias para originar un embrión. Ahora se realizaría la transferencia nuclear, insertando el núcleo de la célula donante en el óvulo sin núcleo. Las dos células se fusionan, aunque también se puede usar una aguja fina para inyectar el núcleo en el óvulo. Hemos simulado la fertilización natural e iniciado la reprogramación del núcleo celular, que ahora se divide y empieza la embriogénesis. Hay varios factores en el citoplasma del óvulo que ya no se tuvieron en cuenta. Pero a pesar de todo Dolly parecía un

éxito y en parte así lo fue. Incluso era fértil. El artículo de *Nature* dio la vuelta al mundo.

Dolly representó un éxito entre cientos de intentos. Los primeros resultados de la clonación son de los 80, cuando se desarrolló un método de transferencia nuclear. Pero durante muchos años, otros intentos de clonación a partir de núcleos de animales adultos fallaron lastimosamente. Y se creía que era debido a que los cambios epigenéticos eran irreversibles (estáticos, como he comentado anteriormente), pero el nacimiento de Dolly lo cambió todo. El ADN adulto, bajo ciertas circunstancias, podía desprogramarse o al menos puede reprogramarse usando factores del óvulo. Años más tarde Yamanaka usando factores de transcripción específicos reprogramaría células somáticas adultas, cambiando su epigenética, para generar células madre. Pero esa ya es otra historia. ¿Y después de Dolly? ¿los humanos? Por suerte la bioética nos ha mantenido a salvo. En los últimos años, los experimentos de clonación de animales diversos han continuado intensamente, e incluso se habla de hacer renacer especies extintas. Pero el éxito de la clonación reproductiva depende de muchos factores, muchos de los cuales no están bien controlados entre ellos los epigenéticos. Un fenómeno interesante es que muchos de los animales clonados presentan algunos problemas comunes, especialmente un incremento del tamaño corporal, defectos cardiovasculares y respiratorios, inmunodeficiencia y esperanza de vida más corta. Muchos de estos cuadros se relacionan con un mapa epigenético alterado, especialmente relacionado con la falta de impronta genómica correcta. La misma consiste en que hay genes con expresión solo de un alelo (el del padre o la madre) y está controlada por metilación de ADN e histonas, y este control de la expresión alélica monoparental se pierde en parte en los animales clonados. Así que los humanos deberemos esperar para ser clonados en perfectas condiciones.

Más allá de los gemelos y la clonación, estudiemos un tercer modelo donde comparar genotipo vs fenotipo: el ambiente que rodea a los seres vivos, considerando entre otros factores la alimentación. Y además añadamos una de las expresiones “tabú” en biología: “herencia de los caracteres adquiridos”. Veamos los ingredientes de este cóctel. Si entramos en ejemplos muy polémicos podemos fijarnos en un niño que sufrió abusos, adquiriendo cambios epigenéticos en su cerebro que quizás lo convertirán en una persona más agresiva, pero ¿será su descendencia más agresiva? Me gusta pensar, y por suerte los datos lo apoyan, que solo los cambios adquiridos que afectan la línea germinal tienen una probabilidad de ser transmitidos. Uno de los casos más reconocidos de herencia epigenética en este aspecto de rasgos ocurrió en el invierno de 1944 cuando el ejército alemán retrocedía en el norte de Europa mientras las fuerzas aliadas progresaban. La comida escaseaba, principalmente en los Países Bajos. La gente sobrevivía con sólo un tercio de sus calorías habituales y los bebés nacían con menor peso. Cuando los aliados triunfaron, la comida volvió a fluir pero siguieron naciendo niños con bajo peso. La memoria epigenética de la hambruna permanecía en sus células. Lo mismo sucedió en otros episodios graves de falta de alimento en China y otras regiones del mundo. Los niños holandeses habían sufrido una metilación anormal del gen IGF2 (factor de crecimiento insulínico tipo 2), clave para el crecimiento. Entre las afectadas se encontraba la delgada y delicada actriz Audrey Hepburn.

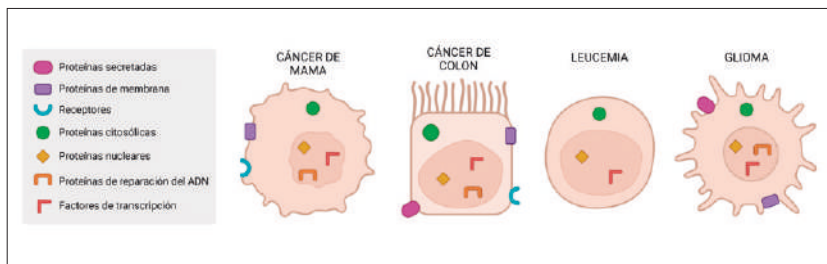




## ⊗ EPIGENÉTICA, EVOLUCIÓN, CÁNCER Y OTRAS ENFERMEDADES

Es en cáncer donde la conexión entre epigenética, especialmente la metilación del ADN, y enfermedad, ha sido más reconocida. Los cánceres no son puros: son una mezcla de lesiones genéticas y epigenéticas. Incluso los tumores con predisposición familiar requieren eventos posteriores de disrupción epigenética para dar la cara. Los tumores son la segunda causa de muerte más frecuente después de las enfermedades cardiovasculares, a pesar del incremento de supervivencia logrado con la detección precoz y las nuevas terapias. Los cambios aberrantes del patrón epigenético afectan todas las propiedades de las células transformadas que se han denominado los “*hallmarks*” del cáncer. Así, causan una proliferación descontrolada, inmortalidad de la célula transformada, resistencia a señales inhibitorias de crecimiento, invasión de tejidos y diseminación a distancia, entre otras características. Incluso si el genoma estuviera intacto, las profundas distorsiones epigenéticas a nivel de la metilación del ADN, modificación de histonas y remodelación de cromatina provocarían una lectura aberrante de ese libro de la vida que es nuestro genoma. Esta hipermetilación de genes supresores tumorales bloquea la expresión de proteínas que actúan a distintos niveles subcelulares y ocurre de forma específica según el tipo tumoral (**Figura 3**).

**Figura 3.** Distintos tipos tumorales presentan hipermetilación de distintos genes supresores tumorales afectando a distintas sublocalizaciones celulares.



En las células cancerosas, la maquinaria epigenética se altera por muchas causas. Puede ser un carcinógeno externo que modifica la actividad de estas proteínas. O el simple envejecimiento: después de millones de divisiones celulares se introduce un error en la programación epigenética. Si todo esto afecta al gen adecuado, esta alteración epigenética es seleccionada como si fuera un mecanismo evolutivo de supervivencia y la carrera tumoral se desencadena. Si en condiciones normales las CpG están usualmente metiladas en todo el genoma, a excepción de las islas CpG de los promotores de los genes; en las células tumorales, las CpG localizadas dentro del cuerpo del gen (porción codificante) se desmetilan progresivamente. Al mismo tiempo, y quizás más relevante, las islas CpG que están desmetiladas en la región reguladora inicial de los genes ahora se hipermetilan causando el silenciamiento transcripcional. Esto sucede en genes que suelen conferir una ventaja a esa célula, por ejemplo en genes supresores de tumores, y a la metilación sigue el reclutamiento de las proteínas de unión al ADN metilado (MBDs como MeCP2) y toda una maquinaria de represión transcripcional (como histona desacetilasas, HDACs, o histona metiltransferasas, HMTs). Al mismo tiempo son expulsados de la isla CpG factores activadores de la transcripción e histona acetiltransferasas (HATs) entre otras proteínas.



La descripción de los cambios de la metilación de las islas CpG en cáncer se remonta a finales de los años 80, poco tiempo después de que se caracterizaran las primeras mutaciones en oncogenes. Pero no fue hasta mediados de los 90 que volvieron a estudiarse en detalle al descubrirse que afectaban a genes supresores importantes como p16<sup>INK4a</sup>, Rb o VHL. Hasta entonces las lesiones genéticas eran todo el centro de atención de la investigación del cáncer y monopolizaban el interés de los oncólogos mirando de diseñar fármacos contra ellas, algo que no se conseguiría hasta décadas después. Entre los trabajos iniciales de la hipermetilación del ADN en cáncer se descubrió en 1994 que el gen de Von Hippel-Lindau (VHL) sufría una inactivación que dependía de la metilación en cáncer de riñón, conduciendo al siguiente año a los trabajos pioneros de Stephen Baylin en la Universidad Johns Hopkins en Baltimore y Peter Jones en la Universidad de California que demostraron que la hipermetilación del inhibidor de ciclo celular p16<sup>INK4a</sup> era un mecanismo común en el cáncer. Justo el siguiente año se inventó una tecnología que permitía estudiar la metilación del ADN de forma sencilla usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y a partir de aquí se caracterizaron la mayoría de genes anticáncer inactivados por este mecanismo donde hemos contribuido de forma decisiva.

Es curioso recordar que anteriormente a los datos mencionados en el apartado anterior, se pensó que la única alteración en los patrones de metilación del ADN era la hipometilación global, que podría inducir una sobreexpresión masiva de muchos oncogenes. El problema es que la mayoría de oncogenes ya tenían su isla CpG del promotor desmetilada en tejidos sanos, así pues no se podía desmetilar más. Sin embargo, la idea de que los genomas de las células cancerosas tienen un contenido reducido de 5-metilcitosina es esencialmente correcta. Lo que ocurre es

que la desmetilación global que se produce en el cáncer afecta principalmente al “cuerpo” de los genes (zonas exónicas e intrónicas) más que a las islas CpG reguladoras, que están en gran medida desmetiladas en las células normales. Esta hipometilación originaría inestabilidad cromosómica y la reactivación de las mencionadas secuencias endoparasitarias. De hecho, con la excepción de los genes imprintados, la mayoría de las islas CpG están desmetiladas en las células. El descubrimiento de que la mayoría de los genes supresores de tumores están hipermetilados ha dado lugar a un nuevo mundo epigenético. La desmetilación del cáncer también puede afectar la región reguladora de genes sin una isla CpG típica. Esta estructura es típica de los genes con expresión específica de tejido que se expresarían de forma inapropiada en los tumores derivados de un tejido donde deberían estar silenciados. De esta forma un tumor de mama podría expresar un gen con expresión específica del desarrollo del testículo. Un auténtico caos.

La cuestión de cómo se produce la metilación *de novo* de los genes en cáncer sigue sin estar plenamente clara. Una posibilidad es que la metilación aberrante comienza en los centros de metilación del ADN normales que rodean las islas CpG que no están metilados en las células sanas. Es decir, desde las zonas vecinas (que suelen ser zonas de ADN repetitivo), la metilación del ADN se extiende como una mancha de aceite al inicio de la transcripción. Otra teoría propone que se genera el primer foco de metilación aberrante (por ejemplo en una CpG aislada por error o por un carcinógeno) y que actúa como una cerilla desde donde se extiende y propaga el incendio de la hipermetilación de la isla. ¿Es también posible que haya factores que atraigan a las DNMTs donde no deberían realizar su función? De este modo las DNMTs no podrían reconocer las secuencias correctas y las islas de metilación que normalmente no son vistas por las DNMTs se

hipermetilarían. Hoy sabemos que hay factores oncogénicos que son capaces de llevar DNMTs a sitios “peligrosos”. Un ejemplo serían algunas translocaciones en leucemias que involucran a modificadores de histonas fusionados con factores de transcripción que inducen hipermetilaciones específicas. Un pez que se muerde la cola.

Un tumor es un microcosmos evolutivo. Cada cáncer tiene su propio universo, sus propias leyes dentro del paciente en el que crece. Es un sistema en constante adaptación y cambio para proliferar mucho sin morir en el intento. Las células tumorales no respetan las leyes que regulan el crecimiento y prohíben la división excesiva, las normas que siguen los tejidos fisiológicos. Hablemos un poco de evolución en sentido clásico para comprender la adaptabilidad de los tumores. Las teorías más reconocidas sobre los mecanismos de la evolución se originaron en el siglo XIX cuando Jean-Baptiste de Lamarck y Charles Darwin propusieron dos hipótesis que todavía existen hoy. Aunque el Darwinismo claramente ha superado al Lamarckismo, no son de ninguna manera teorías opuestas. Lamarck proponía que los rasgos adquiridos por los progenitores durante su vida podían transmitirse a la siguiente generación. Cuando explica la idea usando el cuello de las jirafas que lo extienden para llegar a las hojas comete el error. Las modificaciones somáticas no son hereditarias. Solo afectaciones (genéticas o epigenéticas) adquiridas en las células germinales femeninas o masculinas son potencialmente heredables. La teoría de la selección natural de Darwin en cambio nos habla de la supervivencia de los mejor adaptados. No menciona la genética, por tanto esa adaptación también puede ser epigenética. Así, el mecanismo de evolución más aceptado se basa en la teoría de la selección natural, propuesta por Charles Darwin y también por Alfred Wallace. La misma también nos propone que errores en la transferencia de información de una generación a la siguiente originan

variabilidad. La variabilidad está determinada por fenómenos mutacionales, la mayoría de los cuales no son adaptativos sino dañinos (deben ser reparados) o neutrales. En algunos pocos casos, algunas variantes pueden tener una ventaja selectiva sobre otras. La selección natural es el proceso mediante el cual adquieren una ventaja de supervivencia los mejor adaptados a su medio ambiente. Hoy en día hablamos de evolución en muchos ámbitos desde la moda, al deporte o a la música, o a nivel de especie que es su sentido clásico. Pero la selección natural actúa también a pequeña escala dentro del tumor. La mayoría de células tumorales tienen una actividad DNMT descontrolada con un aumento de expresión de las mismas de 3-5 veces. Pero no solo es la sobreexpresión de las DNMTs sino que ejercen su función donde no toca y se olvidan de sus dianas naturales. Esto conduce a la hipermetilación de las islas CpG en muchos genes y a la hipometilación de secuencias repetitivas. La hipermetilación de algunos genes tiene un impacto mayor que otros, así hipermetilar un gen que no confiere ninguna ventaja a la célula tumoral (o incluso le confiere una desventaja) es un evento que no tendrá más recorrido y se diluirá en las sucesivas divisiones celulares. En cambio, la hipermetilación de aquellos genes que obligan a las células a respetar las leyes del organismo homeostático puede ser seleccionada y pasar a las sucesivas células hijas del tumor. También se seleccionará la pérdida epigenética de expresión de genes de reparación del ADN ya que ello confiere un sustrato de generación de mutaciones que beneficia el crecimiento tumoral. Por ejemplo, el gen reparador de roturas de doble cadena del ADN denominado BRCA1 está hipermetilado en ciertos tumores de mama y ovario en parte porque confiere un fenotipo de inestabilidad cromosómica y este tipo de tumores se basa en este fenómeno para crecer más allá de las mutaciones puntuales. Se puede proponer una explicación similar para el gen MLH1 que repara lesiones mínimas del ADN (*mismatch repair*). El silenciamiento epigenético de este gen se

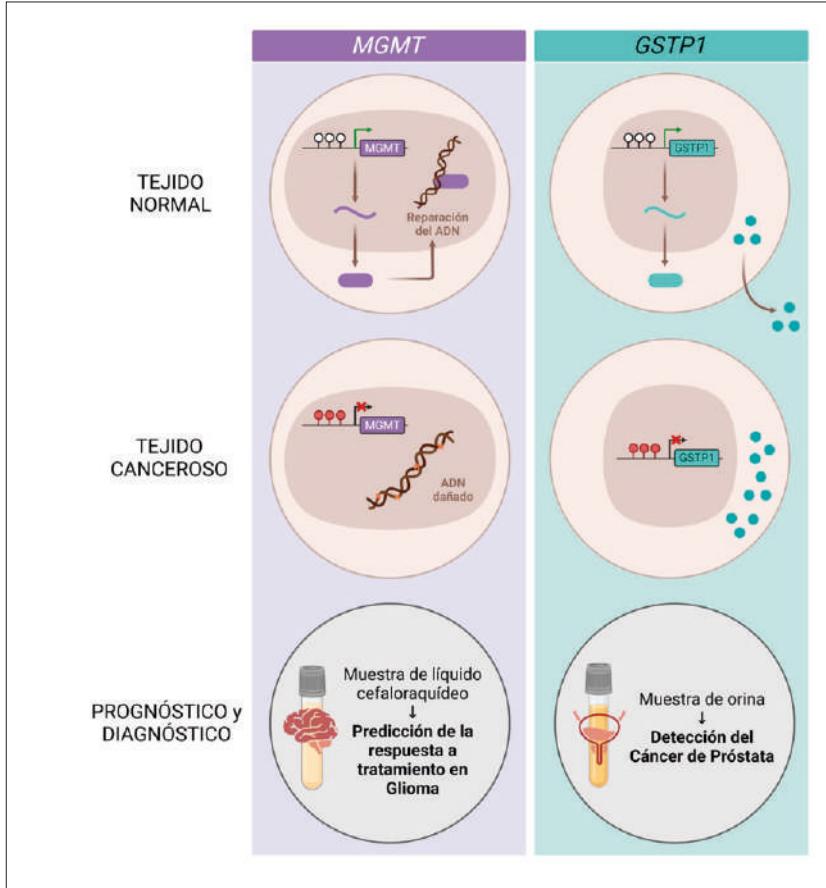
produce en tumores de colon, estómago y endometrio, por lo que su inactivación confiere ventajas en estos tejidos al acumular pequeñas inserciones y deleciones en otros genes supresores tumorales y oncogenes. Este concepto Darwiniano de selección de la hipermetilación por el tipo de tejido está respaldado por estudios genéticos clásicos. Las mutaciones germinales del gen BRCA1 causan predisposición a tumores de mama y ovario, los mismos tipos que se hipermetilan. Las mutaciones germinales MLH1 ocurren en el cáncer hereditario colorrectal, gástrico y de endometrio, los mismos tipos tumorales que se hipermetilan. Existe una correlación perfecta entre los componentes genético y epigenético. En estos casos, y en muchos otros, la metilación rivaliza con los efectos de las mutaciones en el sentido de causar fenotipos de enfermedad similares. Por tanto reforcemos el concepto de que el cáncer es una enfermedad con múltiples vías y lesiones genéticas y epigenéticas, todas necesarias para impulsar el desarrollo del tumor. Entre las primeras, tenemos mutaciones, deleciones, amplificaciones y translocaciones de segmentos de ADN, y entre las segundas patrones aberrantes de metilación de ADN, modificaciones de histonas y posicionamientos de nucleosomas.

La lista de genes inactivados por la hipermetilación de las islas CpGs localizadas en la región reguladora es inmensa y sigue creciendo. Todos los “*hallmarks*” del cáncer se ven afectados. Así, la hipermetilación de islas CpG afecta a las vías del ciclo celular (p16<sup>INK4a</sup>, p15<sup>INK4b</sup>, Rb, p14<sup>ARF</sup>), la reparación del ADN (BRCA1, MLH1, MGMT), el metabolismo detoxificador (GSTP1), la adhesión celular (CDH11, CDH13), la apoptosis (DAPK, TMS1), la respuesta a hormonas (ER, PR, CRBP), la angiogénesis (TSP1, VHL), las modificaciones del ARN (ALK-BH3, NSUN5, NSUN7), etc. En los últimos años, la cantidad de genes hipermetilados en el cáncer ha aumentado dramáticamente gracias a la introducción de técnicas genómicas que permi-

ten cribados masivos. De hecho, el estudio de genes inactivados epigenéticamente en el cáncer se ha vuelto tan importante como el estudio de genes inactivados por mutaciones. Y ha surgido un nexo entre ambos campos al encontrarse mutaciones en genes epigenéticos. El resultado ha sido la aparición de muchos laboratorios dedicados a estudiar la epigenética del cáncer formados por una brillante nueva generación de jóvenes investigadores.

Desde investigadores básicos a clínicos, si el análisis de mutaciones ha comenzado a utilizarse como marcador de diagnóstico del cáncer, la metilación del ADN ha demostrado también ser una herramienta muy útil. Existen así en la actualidad diversos sistemas de cribado de cáncer en sangre y fluidos biológicos con marcadores de metilación del ADN. Una ventaja de los mismos sobre el uso de marcadores genéticos es que, a diferencia de las mutaciones en genes supresores tumorales que ocurren en múltiples ubicaciones a lo largo de la secuencia del gen, la hipermetilación siempre ocurre en una región específica del gen facilitando el análisis. A destacar también que la hipermetilación es una señal positiva que puede detectarse en el contexto de una población con muchas células normales, mientras que muchos cambios genéticos implican pérdida (deleción, LOH) y al detectarse contra el ruido de fondo poseen baja sensibilidad. Además de la detección precoz y seguimiento de la enfermedad, dos áreas clínicas se benefician de los marcadores basados en hipermetilación: predecir comportamiento tumoral y sensibilidad a fármacos tratamiento. En la primera área cabe destacar los algoritmos diagnósticos y clasificatorios de los tumores basados en perfiles de metilación del ADN, mientras que en la segunda destaca la hipermetilación del gen MGMT para predecir la respuesta a temozolamida en tumores cerebrales (**Figura 4**) y la del gen BRCA1 en tumores de mama y ovario para predecir sensibilidad a inhibidores de PARP. Y nuevas aplicaciones se proponen y van surgiendo a diario.

**Figura 4.** Dos ejemplos de genes hipermetilados en cáncer (MGMT y GSTP1) y su uso para predecir respuesta a quimioterapia en glioma o detectar cáncer de próstata, respectivamente.



Aunque el cáncer ha sido la punta de lanza de la investigación epigenética en las enfermedades humanas, se han explorado también con interesantes resultados los cambios epigenéticos asociados a otras patologías. Desde los cambios en la metilación del ADN de la placa ateromatosa y la arteria esclerosada a las hipometilaciones que exponen proteínas que no deberían ser vistas y desencadenan síndromes de autoinmunidad (como el lupus y la artritis reumatoide), pasando por los primeros

mapas detallados del cerebro y sus asociadas neurodegeneraciones y alteraciones en psiquiatría. Pero ha sido quizás en enfermedades raras donde su relevancia ha sido más demostrada donde existen más de cien síndromes asociados a genes epigenéticos, siendo en la mayoría de casos el cuadro clínico asociado a defectos del neurodesarrollo o la inmunodeficiencia. El caso más reconocido, como he introducido brevemente, es el síndrome de Rett. Este es un síndrome que afecta principalmente a las niñas, ya que los niños no son viables al estar mutado un gen del cromosoma X. Descrito por primera vez en 1966 por el pediatra alemán Dr. Andreas Rett, este subgrupo de pacientes tiene cierto grado de superposición con un grupo amplio y heterogéneo de casos de autismo. La enfermedad fue “redescubierta” nuevamente en 1983 por Dr. Bengt Hagberg, mostrando que después de unos meses de desarrollo normal después del nacimiento, la condición de las niñas comienza a deteriorarse progresivamente. Un año y medio después, la enfermedad se asocia a ataxia grave y las afectadas ya no usan sus manos conscientemente y en cambio se observan movimientos mecánicos y repetitivos. Apretarse las manos entre sí suele ser una señal visual típica de estas personas. Alrededor de un caso por cada 10,000-15,000 mujeres sufrirá este síndrome. Uno de las pacientes más reconocidas que impulsó la investigación del mismo fue la hija de Kathy Hunter, quien organizó a los padres en una asociación internacional para recaudar suficiente dinero para financiar la investigación. La caracterización de genes diana de la misma fue mi primera financiación como jefe de grupo independiente en 2001. No obstante el primer y fundamental éxito fue en 1999 cuando el grupo de Huda Zoghbi descubrió que la enfermedad estaba relacionada con mutaciones en la proteína MeCP2, una de las proteínas que he introducido que se unen el ADN metilado y originan silenciamiento transcripcional. Desde nuestro grupo, y muchos otros, se han estudiado los mecanismos moleculares derivados de esta



pérdida de MeCP2 no solo en genes codificantes sino también en secuencias que originan ARN no codificante. Y no solo eso sino que los primeros acercamientos preclínicos para enlentecer la enfermedad han originado el primer fármaco aprobado para su uso clínico. Es un tratamiento paliativo. La única curación sería devolver la actividad al gen normal, y en este sentido las primeras terapias genéticas con MeCP2 usando células madre están siendo ensayadas. De rebote, estudiando niñas Rett, encontramos mutaciones en otros genes que ahora sabemos que causan un síndrome de Rett atípico y otras enfermedades del neurodesarrollo. Otro ejemplo curioso de enfermedad genética con efectos epigenéticos es el mencionado síndrome ICF. El cuadro clínico se caracteriza por inmunodeficiencia, anomalías faciales y defectos cromosómicos y es causado por mutaciones en la ADN metiltransferasa DNMT3B. Los niños afectados de la misma suelen fallecer a los pocos años de su nacimiento ya que la pérdida de metilación de ADN (debido a la mutación de DNMT3B) causa una inestabilidad cromosómica muy importante que es incompatible con la vida. Todas estas enfermedades son un claro ejemplo de la conexión genética-epigenética: una mutación puntual en una ADN metiltransferasa o en una proteína que se une a la CpG metilada origina cambios de metilación y de la lectura de la misma que trastornan por completo la regulación epigenética de la expresión génica.



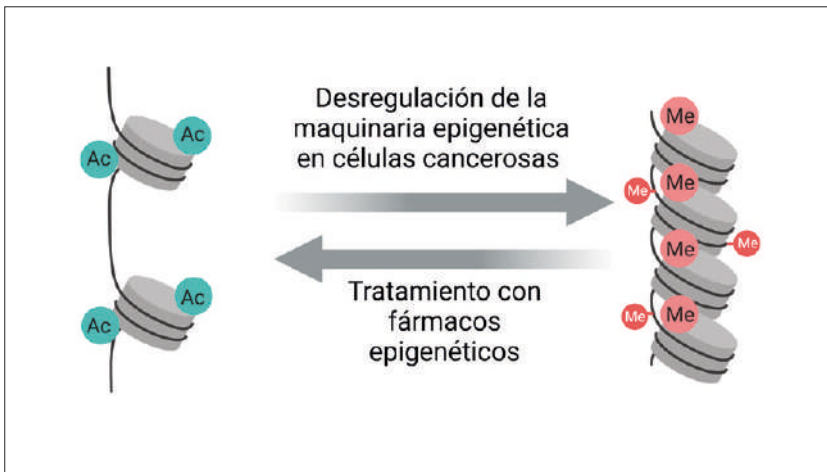


## ☒ FÁRMACOS EPIGENÉTICOS

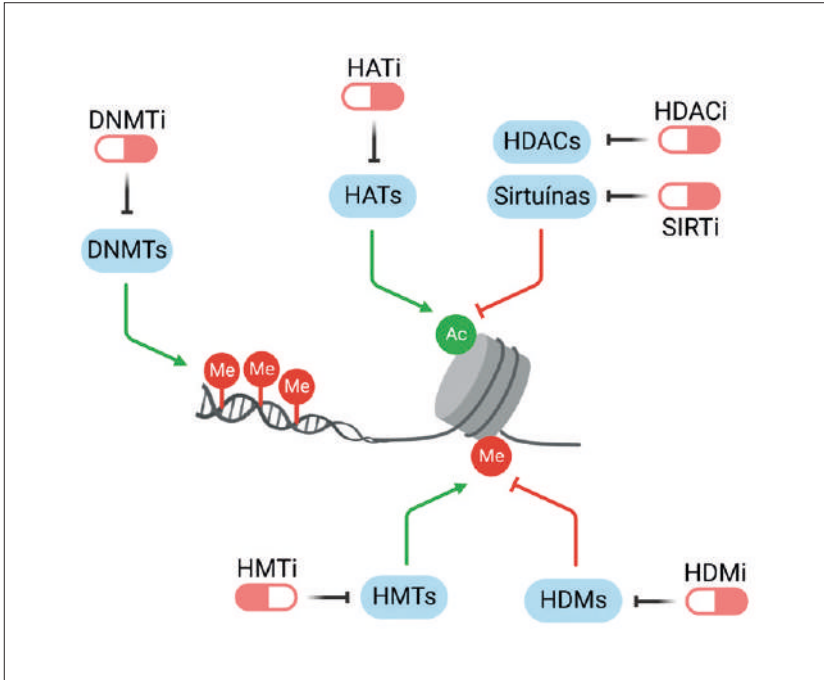
Una diferencia fundamental entre los defectos genéticos (una mutación en un oncogén en cáncer por ejemplo) y los epigenéticos (la inactivación de un gen supresor tumoral por hipermetilación de la isla CpG) es que no podemos hacer retroceder a los primeros, pero sí a los segundos. Podemos restablecer la actividad del gen perdido epigenéticamente usando fármacos que bloquean la actividad de las proteínas que añaden, leen o quitan las marcas (**Figura 5**). Por tanto, la metilación de las islas CpG, las modificaciones de las histonas y la remodelación de la cromatina también son dianas de nuevos compuestos para revertir el cáncer y mejorar la morbilidad de otras enfermedades (**Figura 6**). La primera atención en este campo recayó en las terapias basadas en la reversión de la metilación del ADN como forma de reactivar genes que han sido inactivados por la misma. Esta reversión se puede controlar mediante el uso de inhibidores de DNMT como la 5-azacitidina y la 5-aza-desoxicitidina. Importante reseñar un hecho: cuando estos fármacos se usaron a inicios de los 80 como medicamentos antitumorales resultaron ser demasiado tóxicos y ahora usamos los mismos fármacos pero a dosis mucho más bajas y mantenidas en el tiempo para remodelar la expresión génica. Recordemos que estos agentes afectan a todas las células, pero las tumorales parecen tener una mejor ventana terapéutica ya que en parte dependen de mantener un epigenoma aberrante para sobrevivir. Así los fármacos desmetilantes tienen un mayor efecto sobre las células en proliferación, como las células tumorales, que sobre las células diferenciadas. Hay diferencias entre estos fármacos. Por ejemplo, la decitabina es una molécula con una estructura muy similar a la citosina

lo que provoca que esta última no se convierta en 5-metilcitosina cuando se incorpora al ADN durante la replicación. El resultado del uso de decitabina es la desmetilación global, que conduce a la reactivación de muchos genes entre ellos los supresores tumorales que detendrán el crecimiento tumoral. Otro inhibidor de la metilación que descubrimos fue la procainamida, que se había utilizado anteriormente como anestésico. Hoy en día, ya disponemos de inhibidores orales para la metilación del ADN que son administrados a pacientes y también compuestos que actúan contra una DNMT pero no afectan a otra. Cuatro agentes desmetilantes del ADN están aprobados para su uso clínico. Un gran logro debido a las investigaciones de muchos grupos.

**Figura 5.** Alteraciones epigenéticas en cáncer afectando la metilación del ADN, modificaciones de las histonas y posicionamiento de nucleosomas; y su reversión mediante fármacos epigenéticos.



**Figura 6.** Fármacos epigenéticos dirigidos contra DNA metiltransferasas y enzimas modificadoras de las histonas (metiltransferasas, acetilasas, desmetilasas y desacetilasas).



Pero también podemos usar como diana las modificaciones de las histonas. En las mismas los primeros cambios que se usaron como diana fueron la desacetilación de las histonas, seguido por la metilación de las mismas. Los fármacos que tienen como diana última las modificaciones de las histonas son potentes agentes inductores de la diferenciación celular. En relación a la acetilación de histonas, pueden ser diseñados contra todas las histona desacetilasas (HDACs) o contra alguna específica, como el bloqueante de HDAC6 que caracterizamos hace unos años. Diversos inhibidores de la actividad de las HDACs han recibido ya su aprobación clínica. Estos compuestos afectan directamente el grado de acetilación de histonas y a veces de otras proteínas no histona. Como mínimo cinco grupos de proteínas

tienen actividad histona acetiltransferasa y más de tres poseen actividad histona desacetilasa. La inhibición de la actividad de las histonas desacetilasas suele causar la hiperacetilación de las histonas porque el inhibidor no actúa sobre las histonas acetiltransferasas, induciendo muchas veces la expresión de genes de diferenciación celular y/o apoptosis. Como en el caso de los agentes desmetilantes del ADN, estos fármacos son inespecíficos pero la célula tumoral parece tener una apetencia especial por ellos. Los primeros fármacos, como el butirato y el fenilbutirato, se utilizaron para otros usos desde hace muchos años, pero los nuevos compuestos, derivados muchos del ácido hidroxámico, son más potentes y han recibido también su aprobación clínica en ciertos subtipos de neoplasias.

Nuevas olas de fármacos epigenéticos han ido llegando como los inhibidores de la histona metiltransferasa EZH2 aprobada para su uso en linfomas, o inhibidores de las proteínas de unión a dominios bromo (que reconocen la acetilación de histonas) o inhibidores de la fosforilación de histonas como la Haspina que caracterizamos en nuestro grupo. Nuevos fármacos vendrán contra éstas y otras nuevas dianas, pero debemos seguir investigando como hacerlos más específicos e identificar por farmaco(epi)genética cuáles van a ser los pacientes más sensibles.



## ⊗ NUESTRA CONTRIBUCIÓN AL ESTUDIO DE LA EPIGENÉTICA

Un hombre no es una isla. Todo el trabajo que haya podido realizar ha sido siempre por haber tenido buenos mentores, colaboradores y personal de mi grupo de investigación. Nuestros descubrimientos en Epigenética del Cáncer han servido para comprender mejor los eventos importantes en el proceso de transformación de célula sana a cancerosa, encontrar nuevos biomarcadores de la enfermedad de uso en la biopsia líquida y originar nuevas moléculas que tienen como diana modificaciones epigenéticas. Pero también hemos investigado otras muchas enfermedades humanas y los mecanismos íntimos que dan identidad a nuestras células, tejidos, órganos e incluso personas.

Empecé con un Microscopio 2000, Quimicefa y unos cultivos de levaduras para alegría de mi madre. Durante la carrera de Medicina mi aprendizaje en el Departamento de Bioquímica me permitió obtener mi primera beca científica y mi primera publicación, demostrando la transición entre isoenzimas de la glicólisis inducida por hormona tiroidea. En mi tesis doctoral en el Hospital Vall d'Hebron descubrí el mundo de la genética del cáncer, donde un chico de Sant Boi se convirtió de repente en un experto mundial sobre la genética molecular del cáncer de endometrio. Después de una incursión en el cáncer familiar con los genes del cáncer de mama BRCA1 y BRCA2 en la Universidad de Saint Andrews en Escocia, encontré un gen inexplicable al final de mi tesis. No se expresaba, pero no tenía mutación alguna. Mi novia y su director de tesis me pasaron un artículo en el que unos americanos proponían por primera vez como hipótesis que algunos genes podrían silenciarse en tumores por

la metilación del ADN. Me fui hacia allí en cuanto se abrió la posibilidad. En el Johns Hopkins Oncology Center de Baltimore fui capaz de demostrar la inactivación de este gen, el reparador del ADN denominado MLH1, en cáncer humano en 1998 y a partir de éste descubrí muchos otros. Hoy la hipermetilación de genes supresores del cáncer es considerada un “hallmark” de los tumores. Y además fuimos capaces de detectar estas alteraciones en la sangre en 1999, abriendo la puerta a lo que ahora se llama de forma “fashion” la biopsia líquida. Y un gen oscuro dio grandes satisfacciones: encontramos la hipermetilación de otro gen reparador del ADN llamado MGMT que además de causar una vía mutadora (causa de las mutaciones tipo transición en K-ras y p53 en el cáncer de colon) también era predictora de la respuesta a agentes de quimioterapia que dañaban el ADN. El hallazgo se publicó en el *New England Journal of Medicine*, y me llena de satisfacción saber que hoy en día el test de metilación de MGMT en gliomas se usa en hospitales por todo el mundo.

Era el momento de volver a casa, o quizás acercarme a ella. En 2001, establecí en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) el primer laboratorio de Epigenética del Cáncer en el Estado Español. Los logros alcanzados en el ámbito personal durante la estancia postdoctoral y como investigador asociado en la Universidad de Johns Hopkins de Baltimore me habían proporcionado las herramientas para trabajar al más alto nivel en el CNIO. Durante este período, nuestro trabajo había establecido la idea de que el silenciamiento de genes supresores de tumores mediante hipermetilación de sus islas CpG es una característica general y específica en el desarrollo y progresión tumoral, con múltiples aplicaciones en oncología clínica. Ahora debía ir más allá.

Entre mis objetivos científicos se encontraba el esclarecimiento de la contribución de los mecanismos epigenéticos en el desarro-



llo y diferenciación, así como las consecuencias de su desregulación en la etiología de enfermedades, principalmente el cáncer, aunque también en el contexto de otras enfermedades. Por ejemplo, en un artículo publicado en *Nature Genetics* describimos por primera vez la existencia de cambios globales en el patrón de modificación de las histonas como marca específica de las células tumorales. En este estudio se identificaron las regiones genómicas asociadas a esa alteración en el patrón de modificación de las histonas, así como los factores nucleares implicados. Este trabajo aportaba la cuarta piedra angular al campo de la Epigenética del Cáncer, que hasta la publicación de este artículo estaba sustentada por otros tres trabajos: la pérdida de metilación global de ADN, la hipermetilación de promotores de genes supresores tumorales y la alteración del patrón de modificación de histonas en estos promotores. Este trabajo no sólo fue pieza clave para entender la relevancia, impacto e interconexión de las alteraciones epigenéticas en cáncer, sino también aportó información esencial a considerar en el desarrollo de nuevas terapias epigenéticas.

Otro trabajo, destacado por el diario *New York Times* y *Washington Post* como uno de los mejores descubrimientos de 2005, no fue sólo relevante para la epigenética, sino para la biología en general. Fue publicado en el *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* y por primera vez se realiza un estudio sistemático epigenético en una población de gemelos monocigóticos. En este trabajo se concluyó que el patrón de metilación del ADN y las modificaciones de las histonas, que en último término determina el patrón de expresión de genes, se hace más divergente en las parejas de gemelos a medida que éstos envejecen. De este estudio se extraen conclusiones esenciales de interés general en desarrollo y envejecimiento como la importancia del estilo de vida en el establecimiento de patrones epigenéticos que a largo plazo tendrán incidencia en la salud. Estas diferencias epigenéticas además pueden explicar la discordancia en gemelos en el desarrollo de enfer-

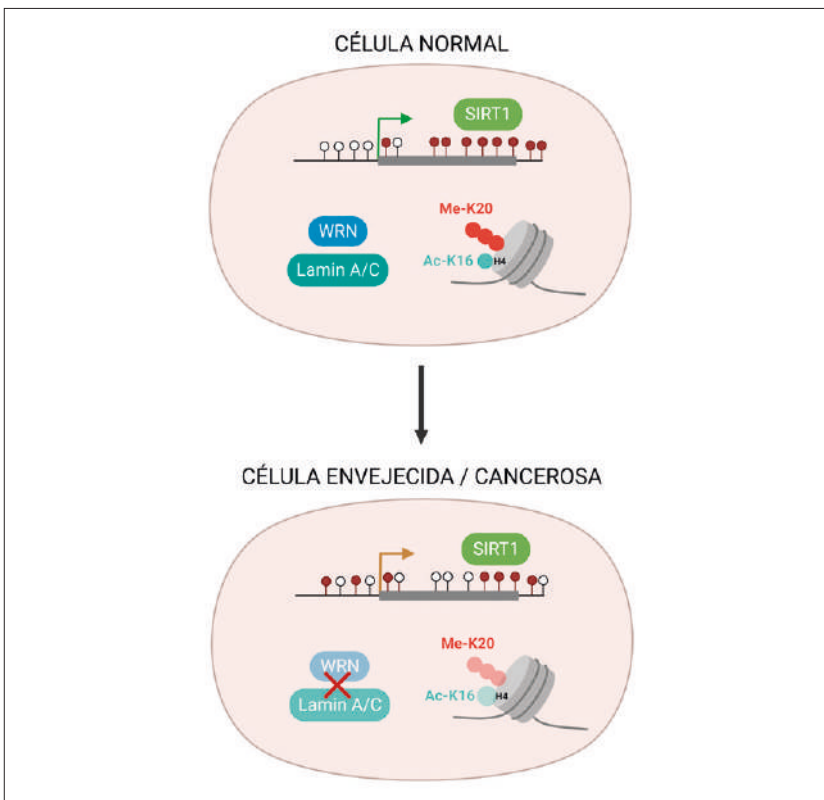
medades. Cientos de artículos sobre este punto se han publicado con posterioridad. Este trabajo fue reconocido por el Dr. Francis Collins, director del Proyecto del Genoma Humano como “Here’s something where Mendel, Watson and Crick all seem to have missed some crucial goodies”. Ese trabajo también proporcionó un decisivo impulso al Proyecto del Epigenoma Humano, del que fui un asesor científico en Europa.

Otro ejemplo de la versatilidad de nuestra investigación sucedió en 2006, cuando el grupo estableció una nueva categoría de genes clave en el desarrollo del cáncer. Hasta entonces cuando pensábamos en oncogenes y genes supresores tumorales, lo relacionábamos sólo con ciclo celular o transmisión de la señal por tirosina-quinasas, etc. El descubrimiento de una mutación inactivadora en una histona desacetilasa (HDAC2) abrió una “carrera” para secuenciar genes de las vías epigenéticas en busca de nuevas mutaciones en cáncer humano, llamando la atención del propuesto “Human Cancer Genome Project”. Hoy en día, se han descubierto genes epigenéticos con alteraciones en muchos tipos de cáncer de todo tipo, siendo quizás las más conocidas en los genes DNMT3A y TET2, habiendo contribuido posteriormente nuestro grupo con la caracterización de defectos en DNMT3B, KAT6B y SETDB1 entre otros.

Ese mismo año 2006 empezamos a interesarnos por el envejecimiento y la Epigenética. Encontramos que un gen implicado en el envejecimiento prematuro, el gen de Werner, estaba inactivado epigenéticamente en cáncer humano. Descubrimiento que abrieron la puerta a muchas nuevas preguntas por investigadores de distintos campos. En este sentido los cambios epigenéticos pueden ser también factores claves en los procesos de senescencia celular y envejecimiento (**Figura 7**). Por ejemplo, cierta hipometilación global e hipermetilación de islas CpG ocurre con la edad, como si fueran un precursor del cáncer establecido. Y existen diversos algoritmos bioinformáticos que

a partir de los perfiles de metilación del ADN calculan tu edad biológica, que lamentablemente suele ser mayor que tu edad cronológica. Incluso la longitud de los telómeros, relacionada claramente con la edad del organismo, es parcialmente controlada por marcas epigenéticas. Y las histonas evidentemente también participan en el envejecimiento ya que unas desacetilasas de las mismas denominadas sirtuinas (también involucradas en la restricción calórica) enlentecen los cambios asociados con la edad. Pueden imaginarse que potenciales medicamentos activadores de sirtuinas son una pieza apreciada.

**Figura 7.** En comparación con una célula “sana” se observan alteraciones en genes de progeria (WRN y lamina A/C), histona desacetilasas (sirtuinas) y modificaciones de histona (lisinas 16 y 20 de histona H4) tanto en células envejecidas como en transformadas, aunque de diferente signo.



Es importante también mencionar que nuestra labor investigadora ayudó a la aprobación por parte de la Food and Drug Administration (FDA) y la EMEA de cinco fármacos epigenéticos: dos desmetilantes del ADN y tres inhibidores de histona desacetilasas, siendo en actualidad diez los fármacos aprobados con dianas epigenéticas. Una investigación de excelencia preclínica que ha permitido todo el desarrollo de estos compuestos epigenéticos en los estudios clínicos: un caso claro de *“from the bench to the bedside”*.

En otoño de 2008, con un hijo pequeño y los padres haciéndose mayores, volví a Cataluña. Me incorporé como Director del Programa de Epigenética y Biología del Cáncer (PEBC) del campus biomédico de Bellvitge en calidad de Profesor de Investigación ICREA y Profesor de Genética de la Universidad de Barcelona, ganando la Cátedra unos pocos años después. Y estuve hasta mitad del 2019. Además de ayudar a desarrollar el camino profesional de otros jefes de laboratorio que ahora tienen carreras brillantes, de las que estoy especialmente orgulloso de haber contribuido, hicimos descubrimientos en muchos campos. Abrimos la caja de Pandora de la que no sólo los genes codificantes que originan ARN mensajero pueden estar inactivados en cáncer, sino también los no codificantes. Así surgieron los campos de la inactivación por metilación de microRNAs en cáncer. Y de ARNs más extraños como los T-UCRs, ARNs antisentido, snoRNAs y ARNs circulares entre otros. Y demostramos su participación en la metástasis y la plasticidad celular. Completamos también los primeros grandes proyectos de epigenómica con la resolución de los epigenomas de los virus de doble cadena de ADN, las huellas dactilares epigenéticas de más de 1,500 tumores humanos y el epigenoma de los recién nacidos, centenarios y pacientes con envejecimiento prematuro. Fuimos los pioneros también en validar y usar los microarrays de metilación de

ADN que han sobrevivido hasta la fecha, siendo responsables de todas sus pruebas de concepto que han recibido muchísimas citas. Estas herramientas nos permitieron realizar una firma pronóstica del cáncer de pulmón temprano, estudiar la heterogeneidad epigenética intratumoral del cáncer de colon, caracterizar la metilación típica de la metástasis, diseñar un test diagnóstico para el cáncer de origen desconocido o predecir la respuesta a la inmunoterapia en tumores pulmonares, entre otros muchos ejemplos. Pero era el momento de volver a cambiar para crecer, para tratar de hacerlo mejor.

Acepté la Dirección del Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras en 2019 entendiendo la responsabilidad que se me daba. Hoy, en poco más de cuatro años este Instituto, gracias al trabajo de sus excelentes profesionales se ha convertido en uno de los mejores centros del mundo en el estudio de las enfermedades hematológicas, extendiendo su interés a la hematopoyesis y a los mecanismos biológicos que comparten las leucemias y linfomas con los tumores sólidos. Mi grupo ha ayudado contribuyendo a abrir otro frente en el estudio del cáncer: la epitranscriptómica, es decir, las modificaciones químicas del ARN. Durante los últimos años hemos encontrado que en muchas neoplasias, desde la leucemia linfoblástica aguda o el linfoma de Hodgkin hasta el glioma o el cáncer de colon y pulmón hay defectos genéticos y epigenéticos en los genes que ponen, sacan e interpretan a una multitud de marcas químicas del ARN (¡la metilación entre ellas!). Y hemos continuado descubriendo biomarcadores de respuesta a terapias como nuestra firma epigenética EPICART que predice la eficacia de la inmunoterapia celular con CAR-Ts contra leucemias y linfomas de células B. Y además lo hemos hecho también luchando contra la pandemia de COVID-19, encontrando dos perfiles epigenéticos que predicen la gravedad de la infección vírica en adultos y niños,

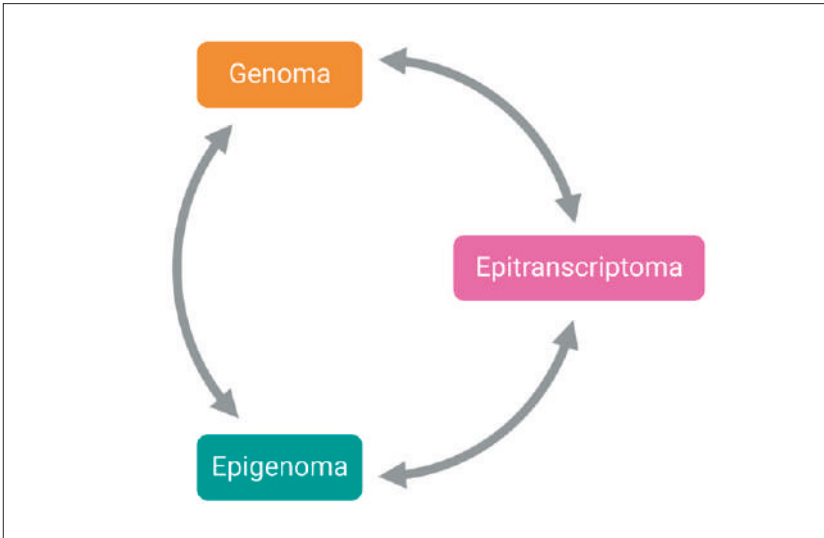
respectivamente. Y explicando las variantes multiómicas que dan forma a nuestra cara. Una portada en el *New York Times*, nuestra cara, nuestra identidad. Quien pierde sus orígenes pierde su identidad. Orgulloso de mi equipo.



## ⊗ EXPECTATIVAS DE FUTURO

Es relativamente fácil escribir sobre las posibilidades de expansión o de nuevas rutas a explorar en una disciplina desde el presente. Si te equivocas, solo lo sabrás en un futuro que nunca estarás seguro que verás. No obstante creo que hay dos campos de investigación que acoplados a la epigenética van a proporcionar valiosos resultados para la investigación básica, traslacional y clínica. El primero es la irrupción de las tecnologías para realizar análisis de célula única que además ahora también se pueden desarrollar a nivel espacial. La posibilidad de contemplar al mismo tiempo la totalidad de la metilación del ADN, las modificaciones de histonas y el posicionamiento de los nucleosomas de forma dinámica en cada célula solitaria es muy excitante. No solo para comprender los engranajes últimos de estas capas de regulación genética sino también para plantearnos su uso clínico, como por ejemplo en la evaluación de la enfermedad mínima residual. Y el segundo campo que permitirá crecer a la Epigenética es su disciplina hija: la Epitranscriptómica (**Figura 8**). Ésta última estudia las modificaciones del ARN que son muchas y ricas (m5A, m6A, m1A, pseudouridina...), como las diferentes modificaciones que forman el código de histonas. Las modificaciones epitranscriptómicas no solo nos informan de los niveles de ARN sino también de la actividad de los mismos. Un conocimiento fundamental que ha llevado a desenmascarar las alteraciones de las proteínas epitranscriptómicas en cáncer y otras enfermedades, como sucedió con los genes epigenéticos unos años antes. Y el primer fármaco epitranscriptómico ha debutado en un ensayo clínico en oncología... Disfrutemos de este nuevo viaje del conocimiento.

**Figura 8.** Tres niveles claves para regular la expresión génica: la secuencia del ADN (genoma), las modificaciones del ADN y las proteínas asociadas al mismo (epigenética) y las modificaciones del ARN (epitranscriptoma).





## ❖ PARA SABER MÁS

### **Epigenética y la identidad de personas y células**

Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Setien F, Ballestar ML, Heine-Suñer D, Cigudosa JC, Urioste M, Benitez J, et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Jul 26;102(30):10604-9.

Bueno-Costa A, Piñeyro D, Soler M, Javierre BM, Raurell-Vila H, Subirana-Granés M, Pasquali L, Martinez-Climent JA, Esteller M. B-cell leukemia transdifferentiation to macrophage involves reconfiguration of DNA methylation for long-range regulation. *Leukemia*. 2020 Apr;34(4):1158-1162.

### **Propiedades del cáncer y el envejecimiento**

Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000 Jan 7;100(1):57-70.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646-74.

Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*. 2022 Jan;12(1):31-46.

López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013 Jun 6;153(6):1194-217.

López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*. 2023 Jan 19;186(2):243-278.

López-Otín C, Pietrocola F, Roiz-Valle D, Galluzzi L, Kroemer G. Meta-hallmarks of aging and cancer. *Cell Metab*. 2023 Jan 3;35(1):12-35.

### **Epigenética, Metilación del ADN y cáncer**

Taylor SM, Jones PA. Multiple new phenotypes induced in 10T1/2 and 3T3 cells treated with 5-azacytidine. *Cell*. 1979 Aug;17(4):771-9.

Feinberg AP, Vogelstein B. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature*. 1983 Jan 6;301(5895):89-92.

Rhee I, Jair KW, Yen RW, Lengauer C, Herman JG, Kinzler KW, Vogelstein B, Baylin SB, Schuebel KE. CpG methylation is maintained in human cancer cells lacking DNMT1. *Nature*. 2000 Apr 27;404(6781):1003-7.

Rhee I, Bachman KE, Park BH, Jair KW, Yen RW, Schuebel KE, Cui H, Feinberg AP, Lengauer C, Kinzler KW, et al. DNMT1 and DNMT3b cooperate to silence genes in human cancer cells. *Nature*. 2002 Apr 4;416(6880):552-6.

Bachman KE, Park BH, Rhee I, Rajagopalan H, Herman JG, Baylin SB, Kinzler KW, Vogelstein B. Histone modifications and silencing prior to DNA methylation of a tumor suppressor gene. *Cancer Cell*. 2003 Jan;3(1):89-95.

Widschwendter M, Fiegl H, Egle D, Mueller-Holzner E, Spizzo G, Marth C, Weisenberger DJ, Campan M, Young J, Jacobs I, et al. Epigenetic stem cell signature in cancer. *Nat Genet.* 2007 Feb;39(2):157-8.

Schlesinger Y, Straussman R, Keshet I, Farkash S, Hecht M, Zimmerman J, Eden E, Yakhini Z, Ben-Shushan E, Reubinoff BE, et al. Polycomb-mediated methylation on Lys27 of histone H3 pre-marks genes for de novo methylation in cancer. *Nat Genet.* 2007 Feb;39(2):232-6.

Ohm JE, McGarvey KM, Yu X, Cheng L, Schuebel KE, Cope L, Mohammad HP, Chen W, Daniel VC, Yu W, et al. A stem cell-like chromatin pattern may predispose tumor suppressor genes to DNA hypermethylation and heritable silencing. *Nat Genet.* 2007 Feb;39(2):237-42.

O'Hagan HM, Wang W, Sen S, Destefano Shields C, Lee SS, Zhang YW, Clements EG, Cai Y, Van Neste L, Easwaran H, et al. Oxidative damage targets complexes containing DNA methyltransferases, SIRT1, and polycomb members to promoter CpG Islands. *Cancer Cell.* 2011 Nov 15;20(5):606-19.

Smith ZD, Shi J, Gu H, Donaghey J, Clement K, Cacchiarelli D, Gnirke A, Michor F, Meissner A. Epigenetic restriction of extraembryonic lineages mirrors the somatic transition to cancer. *Nature.* 2017 Sep 28;549(7673):543-547.

Vaz M, Hwang SY, Kagiampakis I, Phallen J, Patil A, O'Hagan HM, Murphy L, Zahnow CA, Gabrielson E, Velculescu VE, et al. Chronic Cigarette Smoke-Induced Epigenomic Changes Precede Sensitization of Bronchial Epithelial Cells to Single-Step Transformation by KRAS Mutations. *Cancer Cell.* 2017 Sep 11;32(3):360-376.e6.

Xie W, Kagiampakis I, Pan L, Zhang YW, Murphy L, Tao Y, Kong X, Kang B, Xia L, Carvalho FLF, et al. DNA Methylation Patterns Separate Senescence from Transformation Potential and Indicate Cancer Risk. *Cancer Cell*. 2018 Feb 12;33(2):309-321.e5.

Kong X, Chen J, Xie W, Brown SM, Cai Y, Wu K, Fan D, Nie Y, Yegnasubramanian S, Tiedemann RL, et al. Defining UHRF1 Domains that Support Maintenance of Human Colon Cancer DNA Methylation and Oncogenic Properties. *Cancer Cell*. 2019 Apr 15;35(4):633-648.e7.

### **Genes supresores tumorales clásicos inactivados por hipermetilación del ADN**

Gonzalez-Zulueta M, Bender CM, Yang AS, Nguyen T, Beart RW, Van Tornout JM, Jones PA. Methylation of the 5' CpG island of the p16/CDKN2 tumor suppressor gene in normal and transformed human tissues correlates with gene silencing. *Cancer Res*. 1995 Oct 15;55(20):4531-5.

Merlo A, Herman JG, Mao L, Lee DJ, Gabrielson E, Burger PC, Baylin SB, Sidransky D. 5' CpG island methylation is associated with transcriptional silencing of the tumour suppressor p16/CDKN2/MTS1 in human cancers. *Nat Med*. 1995 Jul;1(7):686-92.

Herman JG, Merlo A, Mao L, Lapidus RG, Issa JP, Davidson NE, Sidransky D, Baylin SB. Inactivation of the CDKN2/p16/MTS1 gene is frequently associated with aberrant DNA methylation in all common human cancers. *Cancer Res*. 1995 Oct 15;55(20):4525-30.

Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996 Sep 3;93(18):9821-6.

Herman JG, Umar A, Polyak K, Graff JR, Ahuja N, Issa JP, Markowitz S, Willson JK, Hamilton SR, Kinzler KW, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Jun 9;95(12):6870-5.

Esteller M, Levine R, Baylin SB, Ellenson LH, Herman JG. MLH1 promoter hypermethylation is associated with the microsatellite instability phenotype in sporadic endometrial carcinomas. *Oncogene*. 1998 Nov 5;17(18):2413-7.

Fleisher AS, Esteller M, Wang S, Tamura G, Suzuki H, Yin J, Zou TT, Abraham JM, Kong D, Smolinski KN, et al. Hypermethylation of the hMLH1 gene promoter in human gastric cancers with microsatellite instability. *Cancer Res*. 1999 Mar 1;59(5):1090-5.

Pan H, Renaud L, Chaligne R, Bloehdorn J, Tausch E, Mertens D, Fink AM, Fischer K, Zhang C, Betel D, et al. Discovery of Candidate DNA Methylation Cancer Driver Genes. *Cancer Discov*. 2021 Sep;11(9):2266-2281.

Parsa S, Ortega-Molina A, Ying HY, Jiang M, Teater M, Wang J, Zhao C, Reznik E, Pasion JP, Kuo D, et al. The serine hydroxymethyltransferase-2 (SHMT2) initiates lymphoma development through epigenetic tumor suppressor silencing. *Nat Cancer*. 2020;1:653-664.

## **Hipometilación del ADN**

Hansen KD, Timp W, Bravo HC, Sabunciyan S, Langmead B, McDonald OG, Wen B, Wu H, Liu Y, Diep D, et al. Increased methylation variation in epigenetic domains across cancer types. *Nat Genet.* 2011 Jun 26;43(8):768-75.

Jeong M, Sun D, Luo M, Huang Y, Challen GA, Rodriguez B, Zhang X, Chavez L, Wang H, Hannah R, et al. Large conserved domains of low DNA methylation maintained by Dnmt3a. *Nat Genet.* 2014 Jan;46(1):17-23.

Yang L, Rodriguez B, Mayle A, Park HJ, Lin X, Luo M, Jeong M, Curry CV, Kim SB, Ruau D, et al. DNMT3A Loss Drives Enhancer Hypomethylation in FLT3-ITD-Associated Leukemias. *Cancer Cell.* 2016 Jun 13;29(6):922-934.

Ferreira HJ, Heyn H, Vizoso M, Moutinho C, Vidal E, Gomez A, Martínez-Cardús A, Simó-Riudalbas L, Moran S, Jost E, et al. DNMT3A mutations mediate the epigenetic reactivation of the leukemogenic factor MEIS1 in acute myeloid leukemia. *Oncogene.* 2016 Jun 9;35(23):3079-82.

## **Biopsia líquida, fluidos biológicos y metilación del ADN**

Esteller M, Sanchez-Cespedes M, Rosell R, Sidransky D, Baylin SB, Herman JG. Detection of aberrant promoter hypermethylation of tumor suppressor genes in serum DNA from non-small cell lung cancer patients. *Cancer Res.* 1999 Jan 1;59(1):67-70.

Wong IH, Lo YM, Zhang J, Liew CT, Ng MH, Wong N, Lai PB, Lau WY, Hjelm NM, Johnson PJ. Detection of aberrant

p16 methylation in the plasma and serum of liver cancer patients. *Cancer Res.* 1999 Jan 1;59(1):71-3.

### **Defectos en la maquinaria de metilación del ADN**

Cimmino L, Dawlaty MM, Ndiaye-Lobry D, Yap YS, Bakogianni S, Yu Y, Bhattacharyya S, Shaknovich R, Geng H, Lobry C, Mullenders J, King B, Trimarchi T, Aranda-Orgilles B, Liu C, Shen S, Verma AK, Jaenisch R, Aifantis I. TET1 is a tumor suppressor of hematopoietic malignancy. *Nat Immunol.* 2015 Jun;16(6):653-62.

Glass JL, Hassane D, Wouters BJ, Kunimoto H, Avellino R, Garrett-Bakelman FE, Guryanova OA, Bowman R, Redlich S, Intlekofer AM, et al. Epigenetic Identity in AML Depends on Disruption of Nonpromoter Regulatory Elements and Is Affected by Antagonistic Effects of Mutations in Epigenetic Modifiers. *Cancer Discov.* 2017 Aug;7(8):868-883.

Cimmino L, Dolgalev I, Wang Y, Yoshimi A, Martin GH, Wang J, Ng V, Xia B, Witkowski MT, Mitchell-Flack M, Grillo I, Bakogianni S, Ndiaye-Lobry D, Martín MT, Guillamot M, Banh RS, Xu M, Figueroa ME, Dickins RA, Abdel-Wahab O, Park CY, Tsigos A, Neel BG, Aifantis I. Restoration of TET2 Function Blocks Aberrant Self-Renewal and Leukemia Progression. *Cell.* 2017 Sep 7;170(6):1079-1095.e20.

Dominguez PM, Ghamlouch H, Rosikiewicz W, Kumar P, Béguelin W, Fontán L, Rivas MA, Pawlikowska P, Armand M, Mouly E, et al. TET2 Deficiency Causes Germinal Center Hyperplasia, Impairs Plasma Cell Differentiation, and Promotes B-cell Lymphomagenesis. *Cancer Discov.* 2018 Dec;8(12):1632-1653.

Li S, Chen X, Wang J, Meydan C, Glass JL, Shih AH, Delwel R, Levine RL, Mason CE, Melnick AM. Somatic Mutations Drive Specific, but Reversible, Epigenetic Heterogeneity States in AML. *Cancer Discov.* 2020 Dec;10(12):1934-1949.

### **Impronta Genética**

Sakatani T, Kaneda A, Iacobuzio-Donahue CA, Carter MG, de Boer Witzel S, Okano H, Ko MS, Ohlsson R, Longo DL, Feinberg AP. Loss of imprinting of *Igf2* alters intestinal maturation and tumorigenesis in mice. *Science.* 2005 Mar 25;307(5717):1976-8.

Martinez-Quetglas I, Pinyol R, Dauch D, Torrecilla S, Tovar V, Moeini A, Alsinet C, Portela A, Rodriguez-Carunchio L, Solé M, et al. *IGF2* Is Up-regulated by Epigenetic Mechanisms in Hepatocellular Carcinomas and Is an Actionable Oncogene Product in Experimental Models. *Gastroenterology.* 2016 Dec;151(6):1192-1205.

### **ARNs no codificantes y metilación del ADN**

Lujambio A, Ropero S, Ballestar E, Fraga MF, Cerrato C, Sotián F, Casado S, Suarez-Gauthier A, Sanchez-Cespedes M, Git A, et al. Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells. *Cancer Res.* 2007 Feb 15;67(4):1424-9.

Lujambio A, Portela A, Liz J, Melo SA, Rossi S, Spizzo R, Croce CM, Calin GA, Esteller M. CpG island hypermethylation-associated silencing of non-coding RNAs transcribed from ul-



traconserved regions in human cancer. *Oncogene*. 2010 Dec 2;29(48):6390-401.

Liz J, Portela A, Soler M, Gómez A, Ling H, Michlewski G, Calin GA, Guil S, Esteller M. Regulation of pri-miRNA processing by a long noncoding RNA transcribed from an ultraconserved region. *Mol Cell*. 2014 Jul 3;55(1):138-47.

Rosselló-Tortella M, Bueno-Costa A, Martínez-Verbo L, Villanueva L, Esteller M. DNA methylation-associated dysregulation of transfer RNA expression in human cancer. *Mol Cancer*. 2022 Feb 12;21(1):48.

### **Inactivación epigenética y consecuencias terapéuticas**

Esteller M, Silva JM, Dominguez G, Bonilla F, Matias-Guiu X, Lerma E, Bussaglia E, Prat J, Harkes IC, Repasky EA, et al. Promoter hypermethylation and BRCA1 inactivation in sporadic breast and ovarian tumors. *J Natl Cancer Inst*. 2000 Apr 5;92(7):564-9.

Esteller M, Hamilton SR, Burger PC, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is a common event in primary human neoplasia. *Cancer Res*. 1999 Feb 15;59(4):793-7.

Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, Goodman SN, Hidalgo OF, Vanaclocha V, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med*. 2000 Nov 9;343(19):1350-4.

Paz MF, Yaya-Tur R, Rojas-Marcos I, Reynes G, Pollan M, Aguirre-Cruz L, García-Lopez JL, Piquer J, Safont MJ, Balaña C, et al. CpG island hypermethylation of the DNA repair enzyme methyltransferase predicts response to temozolomide in primary gliomas. *Clin Cancer Res.* 2004 Aug 1;10(15):4933-8.

Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, Kros JM, Hainfellner JA, Mason W, Mariani L, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med.* 2005 Mar 10;352(10):997-1003.

Veeck J, Ropero S, Setien F, Gonzalez-Suarez E, Osorio A, Benitez J, Herman JG, Esteller M. BRCA1 CpG island hypermethylation predicts sensitivity to poly(adenosine diphosphate)-ribose polymerase inhibitors. *J Clin Oncol.* 2010 Oct 10;28(29):e563-4; author reply e565-6.

Iorio F, Knijnenburg TA, Vis DJ, Bignell GR, Menden MP, Schubert M, Aben N, Gonçalves E, Barthorpe S, Lightfoot H, et al. A Landscape of Pharmacogenomic Interactions in Cancer. *Cell.* 2016 Jul 28;166(3):740-754.

Ghandi M, Huang FW, Jané-Valbuena J, Kryukov GV, Lo CC, McDonald ER 3rd, Barretina J, Gelfand ET, Bielski CM, Li H, et al. Next-generation characterization of the Cancer Cell Line Encyclopedia. *Nature.* 2019 May;569(7757):503-508.

Wheeler DA, Takebe N, Hinoue T, Hoadley KA, Cardenas ME, Hamilton AM, Laird PW, Wang L, Johnson A, Dewal N, et al. Molecular Features of Cancers Exhibiting Exceptional Responses to Treatment. *Cancer Cell.* 2021 Jan 11;39(1):38-53.e7.

Duruisseaux M, Martínez-Cardús A, Calleja-Cervantes ME, Moran S, Castro de Moura M, Davalos V, Piñeyro D, San-

chez-Céspedes M, Girard N, Brevet M, et al. Epigenetic prediction of response to anti-PD-1 treatment in non-small-cell lung cancer: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Respir Med*. 2018 Oct;6(10):771-781.

García-Prieto CA, Villanueva L, Bueno-Costa A, Davalos V, González-Navarro EA, Juan M, Urbano-Ispizua Á, Delgado J, Ortiz-Maldonado V, Del Bufalo F, et al. Epigenetic Profiling and Response to CD19 Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy in B-Cell Malignancies. *J Natl Cancer Inst*. 2022 Mar 8;114(3):436-445.

### **Tecnología para estudiar la metilación del ADN**

Sandoval J, Heyn H, Moran S, Serra-Musach J, Pujana MA, Bibikova M, Esteller M. Validation of a DNA methylation microarray for 450,000 CpG sites in the human genome. *Epigenetics*. 2011 Jun;6(6):692-702.

Moran S, Arribas C, Esteller M. Validation of a DNA methylation microarray for 850,000 CpG sites of the human genome enriched in enhancer sequences. *Epigenomics*. 2016 Mar;8(3):389-99.

García-Prieto CA, Álvarez-Errico D, Musulen E, Bueno-Costa A, N Vazquez B, Vaquero A, Esteller M. Validation of a DNA methylation microarray for 285,000 CpG sites in the mouse genome. *Epigenetics*. 2022 Dec;17(12):1677-1685.

Zhou W, Hinoue T, Barnes B, Mitchell O, Iqbal W, Lee SM, Foy KK, Lee KH, Moyer EJ, VanderArk A, et al. DNA methylation dynamics and dysregulation delineated by high-throughput profiling in the mouse. *Cell Genom*. 2022 Jul 13;2(7):100144.

Noguera-Castells A, García-Prieto CA, Álvarez-Errico D, Esteller M. Validation of the new EPIC DNA methylation microarray (900K EPIC v2) for high-throughput profiling of the human DNA methylome. *Epigenetics*. 2023 Dec;18(1):2185742.

### **Envejecimiento y epigenética**

Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999 Jul 20;96(15):8681-6.

Heyn H, Li N, Ferreira HJ, Moran S, Pisano DG, Gomez A, Diez J, Sanchez-Mut JV, Setien F, Carmona FJ, et al. Distinct DNA methylomes of newborns and centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Jun 26;109(26):10522-7.

Tao Y, Kang B, Petkovich DA, Bhandari YR, In J, Stein-O'Brien G, Kong X, Xie W, Zachos N, Maegawa S, et al. Aging-like Spontaneous Epigenetic Silencing Facilitates Wnt Activation, Stemness, and BrafV600E-Induced Tumorigenesis. *Cancer Cell*. 2019 Feb 11;35(2):315-328.e6.

### **Metástasis y metilación del ADN**

Vizoso M, Ferreira HJ, Lopez-Serra P, Carmona FJ, Martínez-Cardús A, Girotti MR, Villanueva A, Guil S, Moutinho C, Liz J, et al. Epigenetic activation of a cryptic TBC1D16 transcript enhances melanoma progression by targeting EGFR. *Nat Med*. 2015 Jul;21(7):741-50.

Lujambio A, Calin GA, Villanueva A, Ropero S, Sánchez-Céspedes M, Blanco D, Montuenga LM, Rossi S, Nicoloso MS,

Faller WJ, et al. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Sep 9;105(36):13556-61.

Davalos V, Moutinho C, Villanueva A, Boque R, Silva P, Carneiro F, Esteller M. Dynamic epigenetic regulation of the microRNA-200 family mediates epithelial and mesenchymal transitions in human tumorigenesis. *Oncogene*. 2012 Apr 19;31(16):2062-74.

Lu Z, Zou J, Li S, Topper MJ, Tao Y, Zhang H, Jiao X, Xie W, Kong X, Vaz M, et al. Epigenetic therapy inhibits metastases by disrupting premetastatic niches. *Nature*. 2020 Mar;579(7798):284-290.

### **Clasificadores del cáncer basados en la metilación del ADN**

Costello JF, Frühwald MC, Smiraglia DJ, Rush LJ, Robertson GP, Gao X, Wright FA, Feramisco JD, Peltomäki P, Lang JC, et al. Aberrant CpG-island methylation has non-random and tumour-type-specific patterns. *Nat Genet*. 2000 Feb;24(2):132-8.

Esteller M, Corn PG, Baylin SB, Herman JG. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res*. 2001 Apr 15;61(8):3225-9.

Brock MV, Hooker CM, Ota-Machida E, Han Y, Guo M, Ames S, Glöckner S, Piantadosi S, Gabrielson E, Pridham G, et al. DNA methylation markers and early recurrence in stage I lung cancer. *N Engl J Med*. 2008 Mar 13;358(11):1118-28.

Sandoval J, Mendez-Gonzalez J, Nadal E, Chen G, Carmona FJ, Sayols S, Moran S, Heyn H, Vizoso M, Gomez A, et al. A

prognostic DNA methylation signature for stage I non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2013 Nov 10;31(32):4140-7.

Moran S, Martínez-Cardús A, Sayols S, Musulén E, Balañá C, Estival-Gonzalez A, Moutinho C, Heyn H, Diaz-Lagares A, de Moura MC, et al. Epigenetic profiling to classify cancer of unknown primary: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2016 Oct;17(10):1386-1395.

Capper D, Jones DTW, Sill M, Hovestadt V, Schrimpf D, Sturm D, Koelsche C, Sahm F, Chavez L, Reuss DE, et al. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. *Nature*. 2018 Mar 22;555(7697):469-474.

Koelsche C, Schrimpf D, Stichel D, Sill M, Sahm F, Reuss DE, Blattner M, Worst B, Heilig CE, Beck K, et al. Sarcoma classification by DNA methylation profiling. *Nat Commun*. 2021 Jan 21;12(1):498.

### **Mimetismo viral y epigenética**

Roulois D, Loo Yau H, Singhanian R, Wang Y, Danesh A, Shen SY, Han H, Liang G, Jones PA, Pugh TJ, et al. DNA-Demethylating Agents Target Colorectal Cancer Cells by Inducing Viral Mimicry by Endogenous Transcripts. *Cell*. 2015 Aug 27;162(5):961-73.

Liu M, Ohtani H, Zhou W, Ørskov AD, Charlet J, Zhang YW, Shen H, Baylin SB, Liang G, Grønbæk K, et al. Vitamin C increases viral mimicry induced by 5-aza-2'-deoxycytidine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Sep 13;113(37):10238-44.

Deblois G, Tonekaboni SAM, Grillo G, Martinez C, Kao YI, Tai F, Ettayebi I, Fortier AM, Savage P, Fedor AN, et al. Epigenetic Switch-Induced Viral Mimicry Evasion in Chemotherapy-Resistant Breast Cancer. *Cancer Discov.* 2020 Sep;10(9):1312-1329.

Patel AJ, Warda S, Maag JLV, Misra R, Miranda-Román MA, Pachai MR, Lee CJ, Li D, Wang N, Bayshtok G, et al. PRC2-Inactivating Mutations in Cancer Enhance Cytotoxic Response to DNMT1-Targeted Therapy via Enhanced Viral Mimicry. *Cancer Discov.* 2022 Sep 2;12(9):2120-2139.

### **Modificaciones del ARN y metilación del ADN**

Rosselló-Tortella M, Llinàs-Arias P, Sakaguchi Y, Miyauchi K, Davalos V, Setien F, Calleja-Cervantes ME, Piñeyro D, Martínez-Gómez J, Guil S, et al. Epigenetic loss of the transfer RNA-modifying enzyme TYW2 induces ribosome frameshifts in colon cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020 Aug 25;117(34):20785-20793.

Janin M, Ortiz-Barahona V, de Moura MC, Martínez-Cardús A, Llinàs-Arias P, Soler M, Nachmani D, Pelletier J, Schumann U, Calleja-Cervantes ME, et al. Epigenetic loss of RNA-methyltransferase NSUN5 in glioma targets ribosomes to drive a stress adaptive translational program. *Acta Neuropathol.* 2019 Dec;138(6):1053-1074.

Esteve-Puig R, Climent F, Piñeyro D, Domingo-Domènech E, Davalos V, Encuentra M, Rea A, Espejo-Herrera N, Soler M, Lopez M, et al. Epigenetic loss of m1A RNA demethylase ALKBH3 in Hodgkin lymphoma targets collagen, conferring poor clinical outcome. *Blood.* 2021 Feb 18;137(7):994-999.

Ortiz-Barahona V, Soler M, Davalos V, García-Prieto CA, Janin M, Setien F, Fernández-Rebollo I, Bech-Serra JJ, De La Torre C, Guil S, et al. Epigenetic inactivation of the 5-methylcytosine RNA methyltransferase NSUN7 is associated with clinical outcome and therapeutic vulnerability in liver cancer. *Mol Cancer*. 2023 May 12;22(1):83.

### **La metilación del ADN como diana de fármacos**

Tsai HC, Li H, Van Neste L, Cai Y, Robert C, Rassool FV, Shin JJ, Harbom KM, Beaty R, Pappou E, et al. Transient low doses of DNA-demethylating agents exert durable antitumor effects on hematological and epithelial tumor cells. *Cancer Cell*. 2012 Mar 20;21(3):430-46.

Chiappinelli KB, Strissel PL, Desrichard A, Li H, Henke C, Akman B, Hein A, Rote NS, Cope LM, Snyder A, et al. Inhibiting DNA Methylation Causes an Interferon Response in Cancer via dsRNA Including Endogenous Retroviruses. *Cell*. 2015 Aug 27;162(5):974-86.

Muvarak NE, Chowdhury K, Xia L, Robert C, Choi EY, Cai Y, Bellani M, Zou Y, Singh ZN, Duong VH, et al. Enhancing the Cytotoxic Effects of PARP Inhibitors with DNA Demethylating Agents - A Potential Therapy for Cancer. *Cancer Cell*. 2016 Oct 10;30(4):637-650.

Abbotts R, Topper MJ, Biondi C, Fontaine D, Goswami R, Stojanovic L, Choi EY, McLaughlin L, Kogan AA, Xia L, et al. DNA methyltransferase inhibitors induce a BRCAness phenotype that sensitizes NSCLC to PARP inhibitor and ionizing radiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Nov 5;116(45):22609-22618.



Pappalardi MB, Keenan K, Cockerill M, Kellner WA, Stowell A, Sherk C, Wong K, Pathuri S, Briand J, Steidel M, et al. Discovery of a first-in-class reversible DNMT1-selective inhibitor with improved tolerability and efficacy in acute myeloid leukemia. *Nat Cancer*. 2021 Oct;2(10):1002-1017.

### **Modificaciones de las histonas en cáncer**

Fraga MF, Ballestar E, Villar-Garea A, Boix-Chornet M, Espada J, Schotta G, Bonaldi T, Haydon C, Ropero S, Petrie K, et al. Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nat Genet*. 2005 Apr;37(4):391-400.

Guil S, Soler M, Portela A, Carrère J, Fonalleras E, Gómez A, Villanueva A, Esteller M. Intronic RNAs mediate EZH2 regulation of epigenetic targets. *Nat Struct Mol Biol*. 2012 Jun 3;19(7):664-70.

Gilan O, Lam EY, Becher I, Lugo D, Cannizzaro E, Joberty G, Ward A, Wiese M, Fong CY, Ftouni S, et al. Functional interdependence of BRD4 and DOT1L in MLL leukemia. *Nat Struct Mol Biol*. 2016 Jul;23(7):673-81.

Burr ML, Sparbier CE, Chan KL, Chan YC, Kersbergen A, Lam EYN, Azidis-Yates E, Vassiliadis D, Bell CC, Gilan O, et al. An Evolutionarily Conserved Function of Polycomb Silences the MHC Class I Antigen Presentation Pathway and Enables Immune Evasion in Cancer. *Cancer Cell*. 2019 Oct 14;36(4):385-401.e8.

MacPherson L, Anokye J, Yeung MM, Lam EYN, Chan YC, Weng CF, Yeh P, Knezevic K, Butler MS, Hoegl A, et al. HBO1

is required for the maintenance of leukaemia stem cells. *Nature*. 2020 Jan;577(7789):266-270.

Shaffer AL 3rd, Phelan JD, Wang JQ, Huang D, Wright GW, Kasbekar M, Choi J, Young RM, Webster DE, Yang Y, et al. Overcoming Acquired Epigenetic Resistance to BTK Inhibitors. *Blood Cancer Discov*. 2021 Sep 14;2(6):630-647.

Yusufova N, Kloetgen A, Teater M, Osunsade A, Camarillo JM, Chin CR, Doane AS, Venters BJ, Portillo-Ledesma S, Conway J, et al. Histone H1 loss drives lymphoma by disrupting 3D chromatin architecture. *Nature*. 2021 Jan;589(7841):299-305.

### **Defectos en proteínas asociadas a la modificación de histonas**

Ropero S, Fraga MF, Ballestar E, Hamelin R, Yamamoto H, Boix-Chornet M, Caballero R, Alaminos M, Setien F, Paz MF, Herranz M, Palacios J, Arango D, Orntoft TF, Aaltonen LA, Schwartz S Jr, Esteller M. A truncating mutation of HDAC2 in human cancers confers resistance to histone deacetylase inhibition. *Nat Genet*. 2006 May;38(5):566-9.

Schwartzentruber J, Korshunov A, Liu XY, Jones DT, Pfaff E, Jacob K, Sturm D, Fontebasso AM, Quang DA, Tonjes M, et al. 2012. Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. *Nature* 482: 226–231.

Sturm D, Witt H, Hovestadt V, Khuong-Quang DA, Jones DT, Konermann C, Pfaff E, Tonjes M, Sill M, Bender S, et al. 2012. Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. *Cancer Cell* 22: 425–437.

Wu G, Broniscer A, McEachron TA, Lu C, Paugh BS, Becksfort J, Qu C, Ding L, Huether R, Parker M, et al. 2012. Somatic histone H3 alterations in pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas and non-brainstem glioblastomas. *Nat Genet* 44: 251–253.

Béguelin W, Popovic R, Teater M, Jiang Y, Bunting KL, Rosen M, Shen H, Yang SN, Wang L, Ezponda T, Martinez-Garcia E, Zhang H, Zheng Y, Verma SK, McCabe MT, Ott HM, Van Aller GS, Kruger RG, Liu Y, McHugh CF, Scott DW, Chung YR, Kelleher N, Shaknovich R, Creasy CL, Gascoyne RD, Wong KK, Cerchietti L, Levine RL, Abdel-Wahab O, Licht JD, Elemento O, Melnick AM. EZH2 is required for germinal center formation and somatic EZH2 mutations promote lymphoid transformation. *Cancer Cell*. 2013 May 13;23(5):677-92.

Rodriguez-Paredes M, Martinez de Paz A, Simó-Riudalbas L, Sayols S, Moutinho C, Moran S, Villanueva A, Vázquez-Cedeira M, Lazo PA, Carneiro F, et al. Gene amplification of the histone methyltransferase SETDB1 contributes to human lung tumorigenesis. *Oncogene*. 2014 May 22;33(21):2807-13.

Simó-Riudalbas L, Pérez-Salvia M, Setien F, Villanueva A, Moutinho C, Martínez-Cardús A, Moran S, Berdasco M, Gomez A, Vidal E, et al. KAT6B Is a Tumor Suppressor Histone H3 Lysine 23 Acetyltransferase Undergoing Genomic Loss in Small Cell Lung Cancer. *Cancer Res*. 2015 Sep 15;75(18):3936-45.

LaFave LM, Béguelin W, Koche R, Teater M, Spitzer B, Chramiec A, Papalexis E, Keller MD, Hricik T, Konstantinoff K, et al. Loss of BAP1 function leads to EZH2-dependent transformation. *Nat Med*. 2015 Nov;21(11):1344-9.

Jiang Y, Ortega-Molina A, Geng H, Ying HY, Hatzi K, Parsa S, McNally D, Wang L, Doane AS, Agirre X, et al. CREBBP Inactivation Promotes the Development of HDAC3-Dependent Lymphomas. *Cancer Discov.* 2017 Jan;7(1):38-53.

Zhang J, Vlasevska S, Wells VA, Nataraj S, Holmes AB, Duval R, Meyer SN, Mo T, Basso K, Brindle PK, Hussein S, Dalla-Favera R, Pasqualucci L. The CREBBP Acetyltransferase Is a Haploinsufficient Tumor Suppressor in B-cell Lymphoma. *Cancer Discov.* 2017 Mar;7(3):322-337.

Leung W, Teater M, Durmaz C, Meydan C, Chivu AG, Chadburn A, Rice EJ, Muley A, Camarillo JM, Arivalagan J, et al. SETD2 Haploinsufficiency Enhances Germinal Center-Associated AICDA Somatic Hypermutation to Drive B-cell Lymphomagenesis. *Cancer Discov.* 2022 Jul 6;12(7):1782-1803.



# **Discurso de contestación**

**Excma. Sra. Dra. Carol Moreno Atanasio**



Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia Europea de Doctores,  
Excmos. Sres. Académicos presentes en la sala o que nos acompañan telemáticamente  
Familiares y amigos del Dr Manel Esteller Badosa

Hoy, en este solemne acto de ingreso del Dr. Esteller Badosa como Académico Numeraria, me siento profundamente honrada al tener la oportunidad de expresar mi gratitud a la Junta de Gobierno de la Real Academia Europea de Doctores y, en particular, al Excmo. Sr. Dr. D. Alfredo Rocafort Nicolau, Presidente de esta prestigiosa institución ya que es un privilegio el haberme encomendado la tarea de dar la bienvenida al Dr. Esteller en nombre de esta eminente Corporación.

Este momento es significativo y simboliza el reconocimiento de los logros y contribuciones notables del Dr. Esteller. Durante esta ceremonia, compartiré con todos ustedes los innegables méritos de este distinguido académico y también destacaré los aspectos más destacados de su brillante discurso. Su presentación, llena de interés y relevancia, nos ha brindado una visión única de su trabajo y de los desafíos actuales que enfrentamos en el ámbito académico.

Así que, en este día especial, nos reunimos para celebrar no solo el ingreso del Dr. Esteller Badosa a nuestra academia, sino también para celebrar el conocimiento, la excelencia y el compromiso con la investigación que representan los valores fundamentales de esta institución.

El Dr. Manel Esteller Badosa, es un destacado científico en el campo de la epigenética y la oncología, ha forjado una carrera

ilustre que ha contribuido sustancialmente al entendimiento de procesos biológicos fundamentales. Desde su formación inicial en medicina y bioquímica, el Dr. Esteller ha trabajado incansablemente con mentores, colaboradores y grupos de investigación, reconociendo la importancia de la colaboración científica en sus logros.

Sus investigaciones se han centrado principalmente en la Epigenética del Cáncer, lo que ha permitido una comprensión más profunda de los eventos que conducen a la transformación celular hacia un estado canceroso. Sus descubrimientos han tenido un impacto significativo al identificar biomarcadores cruciales para la detección temprana del cáncer y al desentrañar las complejidades de las modificaciones epigenéticas como objetivos terapéuticos.

Desde sus primeros trabajos de investigación en el Hospital Vall d' Hebron hasta su destacada colaboración en el Centro Oncológico de la Universidad Johns Hopkins en Baltimore, el Dr. Esteller ha realizado contribuciones fundamentales en la epigenética del cáncer. Su trabajo pionero en la identificación de la inactivación epigenética de genes reparadores del ADN, como MLH1, ha sido fundamental en la comprensión de la hipermetilación como una característica común en los tumores. En 2001, el Dr. Esteller estableció el primer laboratorio de Epigenética del Cáncer en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) en España, ampliando aún más su influencia en la investigación. Sus estudios posteriores han revelado la relevancia de la hipermetilación de islas CpG en la tumorigénesis y han contribuido al desarrollo de fármacos epigenéticos aprobados para su uso clínico.

El Dr. Esteller ha continuado diversificando sus investigaciones, abordando áreas como la epigenética del envejecimiento y



su influencia en la salud, así como la inactivación epigenética de genes no codificantes, como microARNs y T-UCRs, en el contexto de la metástasis y la plasticidad celular.

Su liderazgo en la validación y aplicación de herramientas, como los microarrays de metilación de ADN, ha mejorado significativamente la caracterización de tumores y la predicción de respuestas terapéuticas en el ámbito clínico.

En 2019, asumió la dirección del Instituto de Investigación contra la Leucemia Josep Carreras, donde ha continuado avanzando en la investigación epigenética y ha contribuido al desarrollo de biomarcadores y terapias para enfermedades hematológicas.

A lo largo de su discurso el Dr Esteller nos explica forma simple que la epigenética representa en pocas palabras la huella de la experiencia en nuestro ADN, es decir, en nuestra carga genética. Para ello, expone varios ejemplos que explican y definen la importancia de la epigenética e implicaciones de las alteraciones epigenéticas y su contribución en el cáncer y otras patologías entre otros.

Cabe destacar que en los mencionados ejemplos el beneficiario ha contribuido de forma esencial realizando importantes contribuciones, tal como lo demuestran los más de 600 artículos publicados en revistas internacionales de gran impacto.

Desde mi visión como hematóloga creo importante indicar que sin duda el conocimiento que líderes como el Dr Esteller han aportado al campo del cancer es de vital relevancia, ya que no solo nos ha permitido a los médicos ahondar más en la importancia de los mecanismos epigenéticos como base de las alteraciones moleculares que ocurren en el cáncer sino que también

han permitido diseñar nuevas terapias dirigidas que se aplican en patologías tales como las leucemias y tumores sólidos entre otros.

Sin duda, la epigenética representa el futuro de la prevención y tratamiento de muchas enfermedades y a medida que se conozcan los cambios específicos que caracterizan a cada condición patológica podremos entender mejor los mecanismos y determinar conductas más eficaces para asegurar la salud del humano

Asimismo, el Dr. Esteller no sólo es pasado y presente de la disciplina ya mencionada, sino que además nos anticipa con sus trabajos algunas de las líneas futuras bajo el paraguas de la epigenética destacando la dirección que podría tomar dicha disciplina en los próximos años, algunos de los aspectos relevantes que se destacan son por una parte el enfoque en la Epi-transcriptómica, donde el recipiendario y su equipo ya están explorando aquello que se refiere a las modificaciones químicas del ARN. Sus investigaciones sugieren que en numerosos tipos de cáncer y otras enfermedades, se producen defectos genéticos y epigenéticos en genes responsables de la adición, eliminación y lectura de marcas químicas en el ARN. Este campo emergente podría tener implicaciones significativas en la comprensión y el tratamiento de diversas enfermedades, o bien hace mención a los llamados biomarcadores predictivos. La investigación de biomarcadores ha sido una parte integral del trabajo del Dr. Esteller. Su firma epigenética EPICART, por ejemplo, predice la eficacia de la inmunoterapia celular con CAR-Ts en leucemias y linfomas de células B. Esta área de investigación continuará evolucionando y contribuyendo a la medicina personalizada, donde las terapias se adaptan a las características individuales de los pacientes.

En resumen, el Dr. Manel Esteller Badosa es un científico de renombre cuya carrera ha sido una fuente inagotable de conocimiento en la epigenética y la oncología. Sus contribuciones han avanzado significativamente en la comprensión de procesos biológicos esenciales y han tenido un impacto directo en la práctica clínica y la terapéutica contra el cáncer. Su trabajo, no sólo ejemplifica la importancia de la colaboración científica y la dedicación en la búsqueda del conocimiento y la mejora de la atención médica, sino que es una fuente de inspiración para la comunidad científica, y ofrece esperanza en la búsqueda de soluciones para enfermedades relacionadas con la epigenética y el cáncer.

Quiero expresar mi más sincera enhorabuena al Dr. Esteller por su extraordinario discurso. Este acto marca el inicio formal de sus actividades en la Real Academia Europea de Doctores, una institución que se enriquece con la incorporación de un nuevo académico. Le damos la bienvenida con los brazos abiertos y con la esperanza de que, con su valiosa colaboración, podamos cumplir fielmente con la misión que se encomienda a los académicos y a nuestra academia. Esta misión, como todos sabemos, abarca la búsqueda de la verdad, la defensa de la vida, el compromiso con la ciencia y la promoción de la convivencia intercultural.

Agradezco a todos por su amable atención y participación en este significativo evento.”





**PUBLICACIONES DE LA REAL ACADEMIA  
EUROPEA DE DOCTORES**

*Publicaciones*



*Revista RAED Tribuna Plural*







## **CAROLINA MORENO ATANASIO**

Es una destacada profesional en el campo de la medicina y la hematología. Posee la Licenciatura en Medicina y Cirugía, una Especialización en Hematología y Hemoterapia, y es Doctorada en Medicina y Cirugía (Cum Laude). Asimismo ejerce como profesora clínica asociada de medicina en la Universidad Autónoma de Barcelona.

A lo largo de su carrera, ha trabajado en diversos centros de referencia nacionales e internacionales, incluyendo el Hospital Clínic de Barcelona, MD Anderson International España o el Feinstein Institute en los Estados Unidos. Durante los últimos 11 años, se desempeñó como consultor senior del servicio de Hematología del Hospital Santa Creu y Sant Pau, donde estableció la unidad de leucemia linfocítica crónica, convirtiéndola en un centro de referencia a nivel nacional e internacional. Además, es autora de más de 100 artículos científicos.

En su rol actual ejerce como Directora Senior Médica Global en Hematología del grupo AstraZeneca, liderando estrategias y equipos en el ámbito de síndromes linfoproliferativos.

La Dra. Carol Moreno también ha desempeñado roles destacados en organizaciones médicas, incluyendo su membresía en la junta directiva del "International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia" y la "European Research Initiative for Chronic Lymphocytic Leukaemia". Además, fue secretaria y fundadora del grupo de hematogeriatria de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia.

Su experiencia como conferenciante en reuniones nacionales e internacionales, su participación en comités científicos destacan su contribución al campo de la hematología.



«*Lo esencial es invisible a los ojos*»

(Antoine de Saint-Exupéry)

«*Primum non nocere*»

(“Primero no hacer daño al paciente”, Hipócrates)

**Manel Esteller Badosa**

1914 - 2023

**Colección Real Academia Europea de Doctores**



**Generalitat  
de Catalunya**

