



REVISTA CHILENA DE PEDIATRÍA

www.elsevier.es/rchp



ACTUALIDAD

Epigenética en enfermedades alérgicas y asma[☆]



José A. Castro-Rodríguez^{a,b,*}, Bernardo J. Krause^{b,c}, Ricardo Uauy^{a,b}
y Paola Casanello^{a,b,c}

^a División de Pediatría, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

^b Laboratorio de Programación y Epigenética Perinatal, Centro de Investigaciones Médicas, Santiago, Chile

^c División de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

Recibido el 30 de diciembre de 2015; aceptado el 25 de febrero de 2016

Disponible en Internet el 4 de abril de 2016

PALABRAS CLAVE

Epigenética;
Asma;
Enfermedades
alérgicas;
Factores
ambientales;
Niños;
In-utero

KEYWORDS

Epigenetic;
Asthma;
Allergic diseases;
Environmental
factors;
Children;
In-utero

Resumen Las enfermedades alérgicas y el asma son el resultado de complejas interacciones entre la predisposición genética y factores ambientales. El asma es una de las enfermedades crónicas más prevalentes en niños. En este artículo se revisan algunos factores ambientales como la exposición a alérgenos, tabaco, bacterias, componentes microbianos, dieta, obesidad y estrés, que intervienen durante la vida intrauterina y la infancia en la regulación epigenética de las enfermedades alérgicas y el asma. La revisión se realiza en tres tipos de modelos: in-vitro, animales y humanos.

© 2016 Sociedad Chilena de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Epigenetics in allergic diseases and asthma

Abstract Allergic diseases and asthma are the result of complex interactions between genetic predisposition and environmental factors. Asthma is one of the most prevalent chronic disease among children. In this article we review some environmental factors like: allergen exposition, tobacco, bacteria, microbial components, diet, obesity and stress, which influences during intrauterine and infancy life in the epigenetic regulation of asthma and allergic diseases. The review has been done in three models: in-vitro, animal and human.

© 2016 Sociedad Chilena de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

[☆] Esta Actualidad forma parte de un ciclo de 5 actualidades consecutivas sobre el tema de epigenética, a ser publicados en los números del 1 al 5, Vol. 87 de la REVISTA CHILENA DE PEDIATRÍA 2016.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jacastro17@hotmail.com (J.A. Castro-Rodríguez).

Introducción

Las enfermedades inflamatorias crónicas, incluidas las alergias y el asma, son el resultado de interacciones complejas entre la predisposición genética y factores ambientales. Es así como exposiciones prolongadas a diversos factores ambientales, alimentarios y estilos de vida contribuyen a desarrollar o prevenir el desarrollo de estas enfermedades en sujetos con determinadas características genéticas, es decir «susceptibles».

El concepto anteriormente descrito corresponde a lo que hoy se conoce como programación epigenética. Como vimos en el capítulo anterior¹, las modificaciones epigenéticas comprenden una respuesta que modula la transcripción de genes y/o modifica la accesibilidad de la maquinaria transcripcional a las regiones promotoras de genes específicos. Los mecanismos más importantes que operan en la regulación epigenética son: a) metilaciones de dinucleótidos CpG en el ADN; b) modificaciones en las colas de las histonas, facilitando o bloqueando la interacción de estas con el ADN, así como el acceso de los factores de transcripción a las regiones promotoras del gen; y finalmente c) los microARN que reducen la estabilidad y/o la eficiencia de la traducción de los mRNA. Algunas de estas modificaciones epigenéticas son permanentes, mientras que otras son transitorias. Hoy se puede afirmar que las modificaciones epigenéticas son potencialmente reversibles. El epigenoma (esto es, modificaciones epigenéticas a lo largo del genoma) en gran parte puede ser modificado y cambiado.

Control epigenético del sistema inmune fetal

El sistema inmune debe tener la capacidad de responder a múltiples estímulos antigénicos, siendo capaz de montar una respuesta en relación directa al estímulo representado por una o más proteínas antigénicas, basado en la información genética y la adaptación epigenética variable según el estímulo. Este proceso culmina con la activación de la célula-T *naive helper* CD4+ a través del receptor célula-T y del complejo péptido MHC II lo que a una rápida activación y diferenciación de las células-T. Las células-T efectoras se clasifican según el tipo y patrón de citoquinas que producen. Las principales son las células Th1, Th2, Th9, Th17 y Treg², siendo las Th1 y Th2 las más estudiadas.

La metilación del ADN es el principal mecanismo epigenético que controla la expresión de genes específicos propios de las células Th1³. En efecto, la producción del IFN-gamma (IFNG) es menor en las células CD4+ del recién nacido comparada con los adultos, y esto está asociado a la hipermetilación del promotor *IFNG*³. Por otra parte, la expresión de IFNG e IL-4 en las células-T *naive* se asocia con una hiperacetilación de las histonas presentes en los loci *IFNG* e *IL-4*⁴. En contraste, una mayor metilación del ADN en los genes de las citoquinas relacionadas a Th1 hace viable el desarrollo de células Th2⁵, lo que en cooperación con una mayor acetilación de las histonas provee accesibilidad a los locus de *IFNG* e *IL-4* para el desarrollo de las células Th1 y Th2⁶. Recientemente se ha descrito acetilación de las histonas en los locus *IL-10* durante la diferenciación de las células-T en células Th2 y Treg⁷.

Enfermedades alérgicas y asma

Estudios de asociación de genes únicos o múltiples han identificado un grupo de genes candidatos con potencial significado biológico para el desarrollo de enfermedades alérgicas y el asma, incluyendo *ORMDL1-3*, *IL-4*, *IL-6*, *IL-13*, *STAT6*, *FOXP3*, *CD14*, *NOS2*, *ADRB2*⁸. Sin embargo, la predisposición genética puede explicar solo una modesta proporción de variantes fenotípicas, un fenómeno conocido como «herencia perdida o escondida». En este contexto la evidencia sugiere que la epigenética, como mecanismo de interacción entre el genoma y el ambiente, desempeña un rol importante en la regulación de la expresión de genes involucrados en la respuesta inmune e inflamatoria a mediano y largo plazo⁹. Este trabajo analizará los diversos factores ambientales relacionados con las modificaciones epigenéticas responsable por la respuesta alérgica y/o inmune según la exposición respectiva.

Factores ambientales y modificaciones epigenéticas

Alérgenos

El efecto de los diferentes alérgenos y las modificaciones epigenéticas resultantes no son muy conocidos. Brand et al.¹⁰ investigaron la hipótesis de cómo la sensibilización alérgica y el desarrollo de la respuesta inmune Th2 están vinculados por la programación epigenética de las células-T *naive* durante el desarrollo del estado efector. Usando ratones BALB/C sensibilizados a ovalbúmina (OVA), y aplicando un protocolo de asma, se reporta que la OVA induce un incremento significativo de la metilación de ADN en el promotor *IFNG* después de realizar test de provocación/sensibilización al alérgeno en las células T CD4+, lo que se correlaciona con una disminución de la expresión de *IFNG*, acompañado de un cambio menor con el locus *cyclophilin/supresor 1* (*CNS1*). Más aún el incremento de la metilación del promotor de *IFNG* es revertido por el inhibidor de las enzimas DNMT, 5-aza-2'-deoxicitidina *in vitro* e *in vivo*, previniendo así el desarrollo de alergia. Este es un ejemplo de un efecto tipo célula-selectivo, ya que solo la célula T CD4+ parece ser afectada y no las células CD8+ o T *natural killer*.

Así mismo el polvo de habitación puede también causar modificaciones epigenéticas en pacientes asmáticos. Pascual et al.¹¹ investigaron la metilación ADN de 3 poblaciones: pacientes con alergia al polvo de habitación, asmáticos con intolerancia a ácido acetilsalicílico y un grupo control. Este estudio enfocado en células CD+19 indica que los cambios ocurren en diferentes loci relevantes para la respuesta inmune. Uno de esos locus es un nuevo gen candidato, citocromo P450 26 A1 (*CYP26A1*), donde se codifica un miembro de la súper-familia de enzimas P450. De manera similar Shang et al.¹², en un modelo de animales alérgicos, ratones crónicamente expuestos al polvo de habitación, reportaron un aumento en la hiperreactividad bronquial e inflamación junto con remodelación en la vía aérea, y en la siguiente generación de ratones hubo metilación del ADN en genes involucrados en la vía de señalización del TGF-beta.

Microbios

Por diversos estudios epidemiológicos se sabe que los niños que crecen en granjas donde existen animales de diverso tipo tienen un menor riesgo de sufrir enfermedades alérgicas. Schuab et al.¹³, en un estudio sobre el efecto de la exposición materna a las granjas, recolectaron sangre del cordón umbilical y estimularon los mononucleares fetales con diferentes agentes microbianos. Demostraron un número elevado de células mononucleares del cordón FOXP3 positivas en los recién nacidos cuyas madres fueron expuestas a las granjas; acompañado de una función de las células Treg más eficiente en los expuestos a las granjas y una demetilación del promotor *FOXP3* en los hijos de madres con exposición a la leche de vaca obtenida de la granja comparado con madres controles. De manera similar Michel et al.¹⁴, usando muestras de sangre de cordón y de sangre obtenida a los 4,5 años de vida, demostraron que al nacer existe una hipometilación en las diferentes regiones del regulador 3 biosíntesis de esfingolípidos (*ORMDL1*) y del transductor de señales y activador de la transcripción 6 (*STAT6*) en aquellos niños que viven en granjas donde existen animales de diverso tipo comparados con niños que no viven en granjas con animales. En contraste, *RAP50* e *IL-13* estaban hipermetilados.

Por otro lado, Martino et al.¹⁵, examinado el metiloma de 24 niños al nacer y a los 12 meses de vida, han identificado 92 CpG en las células CD+T que distingue a los niños que van a desarrollar alergia clínica a alimentos a los 12 meses de vida. El patrón diferencial de metilación en estos 92 CpG parece ser estable desde el nacimiento hasta los 12 meses de vida, sugiriendo que los niños llevan esta señal como un cambio epigenético del riesgo a desarrollar una enfermedad que estaría presente desde el nacimiento. Estos mismos autores, usando un puntaje compuesto de metilación, proponen que es posible distinguir entre alergia alimentaria y sensibilización a alimentos en lactantes con un área bajo la curva (AUC) de 0,9774, y entre alérgicos a alimentos y no alérgicos con un AUC de 0,8408¹⁶. Los autores mostraron que esta señal de metilación funcionó mejor en aquellos con IgE para huevo y maní como predictor de alergia clínica. Al evaluar esta predicción en una nueva cohorte de 48 sujetos se logró replicar de forma correcta en 79,2% de ellos. La exposición a la leche de granja también ha sido identificada como un factor adicional independiente a la exposición a la granja, asociándose a una alta demetilación del *FOXP3* en células sanguíneas mononucleares¹⁷, efecto que no solo afectaría a las células T CD4+. Slaats et al.¹⁸, en un estudio realizado en 94 placentas, demostraron una correlación entre metilación de la región promotora de *CD14* y la expresión del mRNA para *CD14*. La metilación del promotor *CD14* es menor en madres que vivían en granjas en comparación con aquellas que no vivían en granjas.

Muchos agentes microbianos se han asociado como protectores en esta relación entre exposición a granjas y enfermedades alérgicas. Brand et al.¹⁹, con la administración prenatal de la bacteria gram negativa *Acinetobacter löffii* F78, lograron prevenir el desarrollo de asma experimental en la descendencia. Este efecto fue dependiente de la inducción IFNG. La producción de IFNG es inducida por la inhibición de acetilación de H4 en la región promotora *IL-4* de los descendientes, y no se observa disminución de

la acetilación en el promotor *IL-5* en la región reguladora intergénica Th2. Más aún, la inhibición farmacológica de la acetilación H4 por la administración de garcinol en los descendientes bloqueó el fenotipo protector de asma. Estos datos indican que la bacteria *A. löffii* F78 promueve protección de asma desde la madre a la descendencia, y que las modificaciones epigenéticas, particularmente en genes de citoquinas, contribuyen a este efecto en los progenitores.

En una cohorte de 298 niños que viven en zona rural, las células Treg están significativamente aumentadas en niños expuestos a la granja después de estimulación de phorbol 12-myristate 13-acetato/ionomicina y lipoglucanos y endotoxina (LPS)¹⁷. LPS es un complejo molecular que consiste en lípidos y un polisacárido compuesto de antígeno O, situado en la membrana externa de las bacterias gram negativas y responsable por la regulación inmune. Una exposición repetida de la mucosa en el modelo de ratón conduce a tolerancia; estos cambios son mediados por modificaciones epigenéticas²⁰. Más aún, la exposición materna a LPS produce IFNG neonatal, pero no IL-4 e IL-2. La sensibilización prenatal a OVA en ratones expuestos a LPS se acompaña de una marcada supresión de IgG, anti-OVA e IgE, sin cambios en IgG_{2a}²¹. Genes antibacterianos como RANTES, lipocalina-2 (LCN2) y prostaglandina E sintetasa (PTGES) median el incremento en los niveles de acetilación de histona H4 y trimetilación de la histona H3K4; ambos marcadores de activación genética, actuando para «cebar» estos genes responsables de la subsecuente estimulación a LPS, lo que resulta en un igual o mayor nivel de expresión génica²².

Tabaco

La exposición al humo de tabaco durante la etapa prenatal y la infancia temprana es un factor de riesgo importante para el desarrollo de asma. Un estudio de biopsias pulmonares y macrófagos de lavados broncoalveolares de 16 sujetos sanos no fumadores y 13 fumadores pareados por edad, demuestra que los fumadores tienen una reducción de la expresión de HDAC-2 y la actividad HDAC en general; y paralelamente presentan un aumento de la expresión de IL1B, inducido por el TNF²³. La expresión reducida de HDAC puede ser el resultado del aumento de la expresión de los mediadores pro-inflamatorios como el GM-CSF, IL-8 y TNF²⁴⁻²⁶. Se ha visto en modelos de ratones que el incremento de los niveles de IgE se asocia con una hipometilación del promotor de *IL-4* y en forma paralela con una hipermetilación de los promotores *IFNG* y *FOXP3*^{27,28}. La exposición *in utero* al tabaco parece producir un aumento de la expresión del citocromo P1A1 placentario (*CYP1A1*) a través de la metilación diferencial en las embarazadas fumadoras versus las no fumadoras²⁹. Por otra parte, niños que han sido expuestos en el periodo perinatal al tabaco presentan diferencias en la metilación global de elementos nucleotídicos dispersos cortos (*short interspersed nucleotide elements* [SINE]) y largos (*long INE* [LINE1]). Estas secuencias corresponden a elementos retrotransposones repetidos a lo largo del genoma, cuya metilación del ADN es representativa del grado de metilación global (epigenoma). Al respecto se ha reportado que niños expuestos al tabaco tienen una disminución de la metilación del ADN en el SINE AluYb8³⁰. Mientras la metilación del ADN en el LINE1 presenta una disminución en un grupo específico de

niños con genotipo nulo para el marcador genético de riesgo de asma *glutathione S-transferase Mu 1* (*GSTM1*)³¹. Estos resultados sugieren que la disminución de la metilación del AluYB8 podría ser un marcador epigenético que indica a aquellas madres fumadoras durante el embarazo³², y a la vez ponen de manifiesto la interacción entre la genética y la presencia de modificaciones epigenéticas (presencia del gen para *GSTM1* vs metilación en LINE1). Un nuevo estudio reveló que la exposición al tabaco durante la gestación se correlacionó con la expresión del miARN-223 en la sangre del recién nacido, y con un efecto en el número de células Treg del cordón y subsecuente riesgo de alergia³³.

Wang et al.³⁴ han reportado que la metilación del promotor del gen que codifica para *TSLP* se asocia significativamente a la exposición prenatal al tabaco (OR = 3,17) y con dermatitis atópica (OR = 2,32). Un reciente estudio de la cohorte de Tucson demostró en células mononucleares de sangre del cordón de 36 niños (18 no asmáticos y 18 asmáticos a edades entre 2-9 años) la presencia de cientos de regiones metiladas asociadas con asma infantil³⁵.

Otros tóxicos

En uno de los primeros estudios Perera et al.³⁶ demostraron en 20 recién nacidos que la exposición prenatal ambiental a hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) altera la metilación del ADN en el gen *ACSL3*, y se asocia significativamente (OR = 3,9) a tener asma en los primeros 5 años de vida. Fu et al.³⁷, en un estudio en sangre de cordón umbilical, reportaron que el promotor de gen *ACSL3* se encuentra hipermetilado, lo cual se relaciona con un incremento de la exposición materna al PAH. Más aún, el nivel de metilación de ADN varió significativamente con diferentes tipos de contaminación ambiental. Rossnerova et al.³⁸ concluyeron que los niños asmáticos tienen diferentes patrones de metilación, con una mayor expresión genética en aquellos que viven en zonas más contaminadas. Salam et al.³⁹, en 940 niños, han reportado que la exposición al material particulado (PM) por corto tiempo se asocia con menor metilación del gen para *iNOS* (*NOS2*). Así mismo se ha demostrado que la exposición de células epiteliales del árbol bronquial al PM_{10} *in vivo* produce un aumento global de acetilación de las histonas H4, lo que causa un incremento en la producción de mediadores de la inflamación⁴⁰.

Un reporte⁴¹ demostró que la exposición a partículas diésel del tubo de escape de vehículos (DEP) aumenta la expresión de *COX-2*, causando alteraciones en la cromatina vía acetilación de histonas H4. La exposición a DEP puede también alterar la expresión de microARN en células humanas epiteliales en la interface aire-líquido⁴². Recientemente un estudio en 20 lactantes reportó que aquellos que viven cerca de una autopista de alto tránsito vehicular, es decir que estaban más expuestos a bifenyl polichorinato, tenían valores más elevados de mRNA IL-22 que aquellos sujetos que vivían alejados de las autopistas, y esta tendencia era más pronunciada en aquellos con alergia a alimentos mediada por IgE⁴³. Hay evidencia creciente que demuestra que la exposición *in utero* a DEP, tanto en ratones⁴⁴ como en humanos⁴⁵, aumenta la producción de IgE después de sensibilización alérgica, asociado a una hipermetilación de IFNG y una hipometilación del locus *IL-4* en los recién nacidos⁴⁴.

Curtin et al.⁴⁵, en un estudio de 303 muestras de cordón umbilical, revelaron que una elevada metilación del promotor *IL-2* se asoció a un riesgo 1,07 mayor de exacerbaciones severas de asma y a un riesgo 1,12 más de hospitalizaciones por asma durante la edad pediátrica. Recientemente, un estudio en 256 niños demostró que el aumento de síntomas alérgicos está relacionado con el aumento en la exposición a PAH. En ese estudio aquellos niños con elevada exposición a PAH se asociaron significativamente a un fallo en la función Treg, un incremento en la metilación en el locus de *FOXP3* y un aumento de los niveles IgE, junto con una disminución en la expresión de IL-10 y un aumento en IFNG a mayor exposición al PAH. Colectivamente estos datos demuestran que el incremento de la exposición al PAH se asocia a una falla en el sistema inmune y a modificaciones epigenéticas en el locus *FOXP3*, que es un locus clave en la alergia⁴⁶.

Estrés

El estrés es un importante factor de riesgo en el desarrollo de asma infantil. Recientemente Chen et al.⁴⁷ identificaron un aumento en el estado de metilación de la región promotora del gen *ADCYAP1R1*. Dicho incremento se asocia con el desarrollo de asma en niños que experimentaron violencia familiar. Tal observación sugiere que el medio ambiente temprano puede tener un efecto a largo plazo de enfermedades complejas y reprogramar subsecuentes respuestas biológicas al estrés fisiológico.

Dieta y metabolismo

Una de las mayores evidencias que han permitido establecer la importancia de los mecanismos epigenéticos en el desarrollo de fenotipos a largo plazo a través de la dieta corresponde al efecto del ácido fólico sobre el color del pelaje en ratones agouti. La dieta rica en donadores de metilo causa cambios drásticos en el color del pelaje de estos ratones, lo cual a su vez se correlaciona directamente con el grado de metilación del gen asociado a esta cepa especial de ratones^{48,49}. Dos de los más prominentes donadores de metilo (el ácido fólico y la vitamina B₁₂) pueden afectar el estado universal de metilación del ADN⁵⁰.

Ácido fólico

Si bien la administración del ácido fólico disminuye el riesgo de defectos del tubo neural en el niño, su suplementación a los ratones durante la gestación resulta en la hipermetilación de genes regulatorios en el tejido pulmonar, favoreciendo el desarrollo de enfermedades alérgicas en las crías⁵¹. En cohorte de humanos, comparando la ingesta de niveles altos y bajos de ácido fólico en el último trimestre del embarazo, se ha observado que las células T CD4+ purificadas de la sangre del cordón umbilical presentan diferencias significativas en la metilación en 7 regiones del genoma. Este efecto es prominente en la región promotora del gen que codifica para la proteína de transcripción cinc 57 (*ZFP57*)^{52,53}, la cual es considerada un regulador de la metilación del ADN durante el desarrollo de muchos tipos celulares.

El nivel de ácido fólico tiene un efecto no solo en la metilación del ADN, sino también en la acetilación de las

histonas. Los niveles de la acetilación de las histonas H3 y H4 en el promotor *ZFP57* en el grupo de folatos altos se asocia a una elevada expresión de mRNA de las células T CD4⁺.⁵⁴ Por otra parte, los niveles de acetilación de H3 en el promotor IL-9 son elevados en el grupo de alto consumo de folato versus el grupo de bajo consumo de folato⁵³. Sin embargo, no es prudente suspender la suplementación de folato en las embarazadas, dado su importancia en la prevención del defecto del tubo neural en el recién nacido.

Aceite de pescado

El consumo de pescado y aceites derivados de estos representan una de las mayores fuentes de ácidos grasos poliinsaturados omega 3 (n-3 PUFA), los cuales son precursores de una larga cadena de mediadores antiinflamatorios, incluyendo defensinas, resolvinas, etc.^{54,55}. En un estudio de cohorte, los niños de aquellas madres con concentraciones elevadas de n6/n3 en sangre a las 34-36 semanas de gestación tenían menor riesgo de eccema. Una disminución del riesgo de eccema en los primeros 7 meses de vida se asocia a un alto nivel de ácido araquidónico⁵⁶. Por otra parte, datos iniciales *in vitro* muestran mecanismos de alteración de la expresión del factor nuclear κ B subunidad p65 (NF κ B-p65) a través de la deacetilación de histonas en los macrófagos, los que actúan a través de la activación de la vía AMPK/SIRT1⁵⁷, afectando una importante vía de regulación de la respuesta inflamatoria.

Además del efecto antiinflamatorio de los n-3PUFA⁵⁸ y de las propiedades protectoras de alergia en niños en los que se suplementó a las madres con aceite de pescado durante la gestación⁵⁹, nuevos estudios^{60,61} sugieren que esto es mediado, en parte, por los efectos antiinflamatorios sobre la placenta. Los mecanismos celulares a través de los cuales los n-3 PUFA ejercen su acción incluyen la habilidad para modificar la producción y acción de un rango distinto de mediadores derivados de lípidos, mitigando los efectos de la inflamación y estrés oxidativo. Estudios recientes identificaron una nueva clase de mediadores derivados de n-3 PUFA conocidos como *specialized proresolving lipid mediators* (SPM), que incluyen resolvinas, protectinas y maresinas⁶². Keelan et al.⁶⁰ han reportado que la suplementación de aceite de pescado durante la gestación incrementa significativamente los precursores SPM, llamados 18-HEPE y 17 HDHA en la placenta y también el DHA placentario. Esto es concordante con reportes de reducción del estrés oxidativo⁶³, y de citoquinas (incluyendo IL-13) en sangre de cordón en madres suplementadas con aceite de pescado⁶⁴. Recientemente se sabe que los efectos observados en n-3 PUFA en la función de las células T neonatales podría ser mediado por cambios epigenéticos en la acetilación de histonas en genes clave, incluyendo IL-13 y proteína cinasa PKC, en patrones asociados a protección de alergia⁶⁵. Otros investigadores han reportado que la suplementación materna de PUFA puede modular epigenéticamente la metilación del ADN y la homeostasis Th1/Th2 en los recién nacidos, particularmente en aquellos hijos de madres fumadoras, las cuales tienen una fuente importante de estrés oxidativo fetal⁶⁶.

Fibra en la dieta

El rol de la fibra en la dieta ha emergido recientemente como un factor inmunomodulador importante a través de

efectos antiinflamatorios de los metabolitos de ácidos grasos de cadena corta. La microflora del colon fermenta la fibra de la dieta y produce ácidos grasos de cadena corta (SCFA) (acetato, butirato y propionato), los cuales han demostrado que median efectos inmunomoduladores protectores de las bacterias comensales⁶⁷⁻⁶⁹. Una dieta rica en fibra incrementa significativamente los metabolitos SCFA en heces y suero⁷⁰, con una supresión sistémica de las respuestas alérgicas de vía aérea. Estudios demuestran que estos metabolitos derivados de bacterias de las dietas ricas en fibra (butirato) inducen tolerancia génica en células dendríticas y diferenciación Treg, a través de cambios epigenéticos que incluyen modificaciones de la cromatina en el locus FOXP3^{67,68}. Un estudio reciente⁷¹ sugiere que los suplementos prebióticos durante la gestación y lactancia alteran la expresión en la leche materna y aumentan significativamente las citoquinas inmunomoduladoras (IL-27), tanto en el calostro como en la leche materna. Así, intervenciones de aumentar fibra a dieta materna temprano durante el embarazo, cuando la respuesta fetal se está recién iniciando, es probable que sean más eficaces dada la importancia del microbioma materno durante la gestación para la homeostasis metabólica e inmune.

Obesidad

La obesidad es uno de los factores de riesgo para el asma infantil, ya sea obesidad de la madre durante la gestación, como el desarrollo de obesidad en el niño. Rsatogi et al.⁷² han reportado en niños asmáticos obesos una diferencia en la metilación en varios loci de genes de metilación del promotor de *CCL5*, *IL-2RA* y T-box factor de transcripción (*TBX21*) que se asocian a una polarización a Th1. Además de un incremento de la metilación del promotor para *TGFB1*, que codifica una citoquina asociada a la actividad antiinflamatoria y función de celular Treg; y metilación del promotor del gen *FCER2*, que es un receptor de baja afinidad para la IgE. El índice de masa corporal (IMC) materno antes y durante el embarazo afecta la metilación del ADN en las células de sangre periférica del recién nacido. Un reciente estudio sugiere que el IMC pregestacional de la madre se correlaciona inversamente con los niveles de metilación en general de sangre del cordón; los mayores cambios ocurrieron en genes asociados al cáncer (*WNT16*) y diabetes (*BT3A1*)⁷³. Por otra parte, alteraciones en la metilación del ADN en PBMC circulantes en niños de madres obesas pueden tener un impacto en la expresión génica, y consecuencias en la función inmune. Por ejemplo, reducción de metilación del ADN en los genes asociados a activación de células T pueden causar una producción aberrante de citoquinas e inflamación⁷⁴. Nuestro grupo está actualmente investigando, en una cohorte de 300 niños nacidos (la mitad de las madres en el momento de la gestación tuvieron obesidad [ICM > 30] y la otra mitad fueron madres eutróficas) si la obesidad materna durante la gestación incrementa el riesgo de desarrollar asma en el niño mediante programación epigenética de la respuesta inflamatoria en los monocitos (mayor expresión de IL-2, TNF-alfa, IL-6, IL-1B y menor expresión de mediadores antiinflamatorios IL-10, IL-4) que ocurrirían debido a cambios en el estado de metilación de la región promotora de estos genes de respuesta inmune.

Conclusiones

Las modificaciones epigenéticas desempeñan un importante papel en la regulación de diferentes funciones celulares, incluyendo respuestas inflamatorias/alérgicas, reparación de ADN y proliferación/diferenciación celular. Algunas de esas modificaciones son potencialmente reversibles y podrían ser blancos para el desarrollo de terapias futuras, incluyendo el asma/alergia. Varios factores ambientales (por ejemplo exposición a alérgenos, tabaco, bacterias, componentes microbianos, dieta, obesidad y estrés) han demostrado que tienen una influencia epigenética, desde el periodo intra-uterino, en la génesis de enfermedades alérgicas y el asma. Sin embargo, aún falta por esclarecer el papel de los diferentes mecanismos de regulación epigenética presentes. Son necesarios estudios clínicos para aclarar el mecanismo exacto de las modificaciones epigenéticas y el rol en la génesis de las enfermedades alérgicas y el asma.

Glosario

Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga: lípidos que se componen de ácidos grasos omega-3 y omega-6 que se cree que son instrumentos en la prevención de la neurodegeneración e inflamación.

Complejo mayor de histocompatibilidad II: presenta antígeno procesado que es derivado de proteínas extracelulares a receptores de células T. *Cromatina:* complejo de ADN, proteínas y ARN que compacta fuertemente el ADN para que quepa dentro de la célula.

Gen silenciador: regulación epigenética que previene la expresión del gen.

Factor de transcripción: proteínas que se unen a secuencias específicas de ADN y controlan la tasa de transcripción de información genética del ADN al mRNA.

Histonas: componente proteico de la cromatina responsable de compactar el ADN.

Regulación epigenética: modificaciones de la expresión génica que no son causados por cambios en la secuencia de ADN, sino por modificación en las histonas, metilación del ADN y otros mecanismos.

Regiones promotoras del gen: regiones específicas de ADN que inician la transcripción de un gen particular.

Sitio CpG: regiones de ADN donde el nucleótido de citosina está junto a un nucleótido de guanidina, separados por solo un fosfato. Las islas de CpG son regiones donde hay alta frecuencia de sitios CpG. La metilación de una citosina dentro de un gen puede silenciar al gen.

Financiación

Financiado por Fondecyt Regular: #1141195 (JACR), #1130801 (BJK) y #1120928 (PC).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses relacionado con el presente manuscrito.

Referencias

- Krause B, Castro-Rodríguez JA, Uauy R, Casanello P. Conceptos generales de epigenética: proyecciones en pediatría. *Rev Chil Pediatr.* 2016;87:4–10.
- Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. 1986. *J Immunol.* 2005;175:5–14.
- White GP, Watt PM, Holt BJ, Holt PG. Differential patterns of methylation of the IFN-gamma promoter at CpG and non-CpG sites underlie differences in IFN-gamma gene expression between human neonatal and adult CD45RO- T cells. *J Immunol.* 2002;168:2820–7.
- Fields PE, Kim ST, Flavell RA. Cutting edge: Changes in histone acetylation at the IL-4 and IFN-gamma loci accompany Th1/Th2 differentiation. *J Immunol.* 2002;169:647–50.
- Makar KW, Wilson CB. DNA methylation is a nonredundant repressor of the Th2 effector program. *J Immunol.* 2004;173:4402–6.
- Singh SP, de Camargo MM, Zhang HH, Foley JF, Hedrick MN, Farber JM. Changes in histone acetylation and methylation that are important for persistent but not transient expression of CCR4 in human CD41 T cells. *Eur J Immunol.* 2010;40:3183–97.
- Saraiva M, Christensen JR, Tsytsykova AV, et al. Identification of a macrophage-specific chromatin signature in the IL-10 locus. *J Immunol.* 2005;175:1041–6.
- Melen E, Pershagen G. Pathophysiology of asthma: Lessons from genetic research with particular focus on severe asthma. *J Intern Med.* 2012;272:108–20.
- Barnes PJ. Targeting the epigenome in the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc.* 2009;6:693–6.
- Brand S, Kesper DA, Teich R, et al. DNA methylation of TH1/TH2 cytokine genes affects sensitization and progress of experimental asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129, 1602 10.e6.
- Pascual M, Suzuki M, Isidoro-García M, et al. Epigenetic changes in B lymphocytes associated with house dust mite allergic asthma. *Epigenetics.* 2011;6:1131–7.
- Shang Y, Das S, Rabold R, Sham JS, Mitzner W, Tang W. Epigenetic alterations by DNA methylation in house dust mite-induced airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013;49:279–87.
- Schaub B, Liu J, Hoppler S, et al. Maternal farm exposure modulates neonatal immune mechanisms through regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123, 774 82.e5.
- Michel S, Busato F, Genuneit J, et al. Farm exposure and time trends in early childhood may influence DNA methylation in genes related to asthma and allergy. *Allergy.* 2013;68:355–64.
- Martino D, Joo JE, Sexton-Oates A, et al. Epigenome-wide association study reveals longitudinally stable DNA methylation differences in CD4+ T cells from children with IgE-mediated food allergy. *Epigenetics.* 2014;9:998–1006.
- Martino D, Dang T, Sexton-Oates A, et al. HealthNuts Study Investigators. Blood DNA methylation biomarkers predict clinical reactivity in food-sensitized infants. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;135:1319–28, e1-12.
- Lluis A, Depner M, Gaugler B, et al. Increased regulatory T-cell numbers are associated with farm milk exposure and lower atopic sensitization and asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133, 551 9.e10.
- Slaats GG, Reinius LE, Alm J, Kere J, Scheynius A, Joerink M. DNA methylation levels within the CD14 promoter region are lower in placentas of mothers living on a farm. *Allergy.* 2012;67:895–903.
- Brand S, Teich R, Dicke T, et al. Epigenetic regulation in murine offspring as a novel mechanism for transmaternal asthma protection induced by microbes. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128, 618-25.e7.
- Molina-Martínez LM, Gonzalez-Espinosa C, Cruz SL. Dissociation of immunosuppressive and nociceptive effects of fentanyl, but not morphine, after repeated administration in mice: Fentanyl-induced sensitization to LPS. *Brain Behav Immun.* 2014;42:60–4.

21. Blumer N, Herz U, Wegmann M, Renz H. Prenatal lipopolysaccharide-exposure prevents allergic sensitization and airway inflammation, but not airway responsiveness in a murine model of experimental asthma. *Clin Exp Allergy*. 2005;35:397–402.
22. Foster SL, Hargreaves DC, Medzhitov R. Gene-specific control of inflammation by TLR-induced chromatin modifications. *Nature*. 2007;447:972–8.
23. Klingbeil EC, Hew KM, Nygaard UC, Nadeau KC. Polycyclic aromatic hydrocarbons, tobacco smoke, and epigenetic remodeling in asthma. *Immunol Res*. 2014;58:369–73.
24. Adcock IM, Ito K, Barnes PJ. Histone deacetylation: An important mechanism in inflammatory lung diseases. *COPD*. 2005;2:445–55.
25. Adcock IM, Tsaprouni L, Bhavsar P, Ito K. Epigenetic regulation of airway inflammation. *Curr Opin Immunol*. 2007;19:694–700.
26. Ito K, Lim S, Caramori G, Chung KF, Barnes PJ, Adcock IM. Cigarette smoking reduces histone deacetylase 2 expression, enhances cytokine expression, and inhibits glucocorticoid actions in alveolar macrophages. *FASEB J*. 2001;15:1110–2.
27. Liu F, Killian JK, Yang M, Walker RL, Hong JA, Zhang M, et al. Epigenomic alterations and gene expression profiles in respiratory epithelia exposed to cigarette smoke condensate. *Oncogene*. 2010;29:3650–64.
28. Kohli A, Garcia MA, Miller RL, Maher C, Humblet O, Hammond S, et al. Secondhand smoke in combination with ambient air pollution exposure is associated with increased CpG methylation and decreased expression of IFN-g in T effector cells and Foxp3 in T regulatory cells in children. *Clin Epigenetics*. 2012;4:17.
29. Suter M, Abramovici A, Showalter L, Hu M, Shope CD, Varner M, et al. In utero tobacco exposure epigenetically modifies placental CYP1A1 expression. *Metabolism*. 2010;59:1481–90.
30. Wilhelm-Benartzi CS, Houseman EA, Maccani MA, Poage GM, Koestler DC, Langevin SM, et al. In utero exposures, infant growth, and DNA methylation of repetitive elements and developmentally related genes in human placenta. *Environ Health Perspect*. 2011;120:296–302.
31. Breton CV, Byun HM, Wenten M, Pan F, Yang A, Gilliland FD. Prenatal tobacco smoke exposure affects global and gene-specific DNA methylation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180:462–7.
32. Sharma S, Litonjua A. Asthma, allergy, and responses to methyl donor supplements and nutrients. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:1246–54.
33. Herberth G, Bauer M, Gasch M, et al. Lifestyle and environmental factors and their influence on newborns allergy risk study group. Maternal and cord blood miR-223 expression associates with prenatal tobacco smoke exposure and low regulatory T-cell numbers. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:543–50.
34. Wang IJ, Chen SL, Lu TP, Chuang EY, Chen PC. Prenatal smoke exposure, DNA methylation, and childhood atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy*. 2013;43:535–43.
35. DeVries A, Wlasiuk G, Miller SJ, et al. Neonatal epigenetic predictors of childhood asthma map to immunoregulatory and pro-inflammatory pathways. *Am J Resp Crit Care Med*. 2015;191:A3524.
36. Perera F, Tang WY, Herbstman J, et al. Relation of DNA methylation of 5'-CpG island of ACSL3 to transplacental exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and childhood asthma. *PLoS One*. 2009;4:e4488.
37. Fu A, Leaderer BP, Gent JF, Leaderer D, Zhu Y. An environmental epigenetic study of ADRB2 5'-UTR methylation and childhood asthma severity. *Clin Exp Allergy*. 2012;42:1575–81.
38. Rossnerova A, Tulupova E, Tabashidze N, et al. Factors affecting the 27K DNA methylation pattern in asthmatic and healthy children from locations with various environments. *Mutat Res*. 2013;741-742:18–26.
39. Salam MT, Byun HM, Lurmann F, et al. Genetic and epigenetic variations in inducible nitric oxide synthase promoter, particulate pollution, and exhaled nitric oxide levels in children. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129:232–9, e1 7.
40. Gilmour PS, Rahman I, Donaldson K, MacNee W. Histone acetylation regulates epithelial IL-8 release mediated by oxidative stress from environmental particles. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003;284:L533–40.
41. Cao D, Bromberg PA, Samet JM. COX-2 expression induced by diesel particles involves chromatin modification and degradation of HDAC1. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007;37:232–9.
42. Bollati V, Marinelli B, Apostoli P, et al. Exposure to metal-rich particulate matter modifies the expression of candidate microRNAs in peripheral blood leukocytes. *Environ Health Perspect*. 2010;118:763–8.
43. Tsuji M, Kawamoto T, Koriyama C, Matsumura F. IL-22 mRNA expression in blood samples as a useful biomarker for assessing the adverse health effects of PCBs on allergic children. *Int J Environ Res Public Health*. 2012;9:4321–32.
44. Liu J, Ballaney M, Al-alem U, et al. Combined inhaled diesel exhaust particles and allergen exposure alter methylation of T helper genes and IgE production in vivo. *Toxicol Sci*. 2008;102:76–81.
45. Curtin JA, Simpson A, Belgrave D, Semic-Jusufagic A, Custovic A, Martinez FD. Methylation of IL-2 promoter at birth alters the risk of asthma exacerbations during childhood. *Clin Exp Allergy*. 2013;43:304–11.
46. Hew KM, Walker AI, Kohli A, et al. Childhood exposure to ambient polycyclic aromatic hydrocarbons is linked to epigenetic modifications and impaired systemic immunity in T cells. *Clin Exp Allergy*. 2015;45:238–48.
47. Chen W, Boutaoui N, Brehm JM, et al. ADCYAP1R1 and asthma in Puerto Rican children. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187:584–8.
48. Shorter KR, Anderson V, Cakora P, et al. Pleiotropic effects of a methyl donor diet in a novel animal model. *PLoS One*. 2014;9:e104942.
49. Dolinoy DC. The agouti mouse model: An epigenetic biosensor for nutritional and environmental alterations on the fetal epigenome. *Nutr Rev*. 2008;66 Suppl:S7.
50. Sharma S, Litonjua A. Asthma, allergy, and responses to methyl donor supplements and nutrients. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:1246–54.
51. Hollingsworth JW, Maruoka S, Boon K, et al. In utero supplementation with methyl donors enhances allergic airway disease in mice. *J Clin Invest*. 2008;118:3462–9.
52. Amarasekera M, Martino D, Ashley S, et al. Genome-wide DNA methylation profiling identifies a folate-sensitive region of differential methylation upstream of ZFP57-imprinting regulator in humans. *FASEB J*. 2014;28:4068–76.
53. Prescott SL, Clifton V. Asthma and pregnancy: Emerging evidence of epigenetic interactions in utero. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2009;9:417–26.
54. Calder PC. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: effects, mechanisms and clinical relevance. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1851:469–84.
55. Fischer R, Konkell A, Mehling H, et al. Dietary omega-3 fatty acids modulate the eicosanoid profile in man primarily via the CYP-epoxygenase pathway. *J Lipid Res*. 2014;55:1150–64.
56. Notenboom ML, Mommers M, Jansen EHJM, Penders J, Thijs C. Maternal fatty acid status in pregnancy and childhood atopic manifestations: KOALA Birth Cohort Study. *Clin Exp Allergy*. 2011;41:407–16.
57. Xue B, Yang Z, Wang X, Shi H. Omega-3 polyunsaturated fatty acids antagonize macrophage inflammation via activation of AMPK/SIRT1 pathway. *PLoS One*. 2012;7:e45990.
58. Calder PC. n-3 Fatty acids, inflammation and immunity: new mechanisms to explain old actions. *P Nutr Soc*. 2013;72:326–36.
59. Palmer DJ, Sullivan T, Gold MS, et al. Effect of n-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy on

- infants' allergies in first year of life: randomised controlled trial. *Brit Med J*. 2012;344:e184.
60. Keelan JA, Mas E, D'Vaz N, et al. Effects of maternal n-3 fatty acid supplementation on placental cytokines, pro-resolving lipid mediators and their precursors. *Reproduction*. 2015;149:171–8.
 61. Jones ML, Mark PJ, Mori TA, et al. Maternal dietary omega-3 fatty acid supplementation reduces placental oxidative stress and increases fetal and placental growth in the rat. *Biol Reprod*. 2013;88:37.
 62. Serhan CN, Chiang N. Resolution phase lipid mediators of inflammation: agonists of resolution. *Curr Opin Pharmacol*. 2013;13:632–40.
 63. Barden AE, Mori TA, Dunstan JA, et al. Fish oil supplementation in pregnancy lowers F-2-isoprostanes in neonates at high risk of atopy. *Free Radical Res*. 2004;38:233–9.
 64. Dunstan JA, Mori TA, Barden A, et al. Maternal fish oil supplementation in pregnancy reduces interleukin-13 levels in cord blood of infants at high risk of atopy. *Clin Exp Allergy*. 2003;33:442–8.
 65. Khan TK, Palmer DJ, Prescott SL. In-utero exposures and the evolving epidemiology of pediatric allergy. *Clin Opin Allergy Clin Immunol*. 2015;15:402–8.
 66. Lee HS, Barraza-Villarreal A, Hernandez-Vargas H, et al. Modulation of DNA methylation states and infant immune system by dietary supplementation with omega-3 PUFA during pregnancy in an intervention study. *Am J Clin Nutr*. 2013;98:480–7.
 67. Arpaia N, Campbell C, Fan XY, et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature*. 2013;504:451.
 68. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. 2013;504:446.
 69. Fukuda S, Toh H, Hase K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature*. 2011;469:U543–791.
 70. Thorburn AN, Macia L, Mackay CR. Diet, metabolites, and 'western-lifestyle' inflammatory diseases. *Immunity*. 2014;40:833–42.
 71. Kubota T, Shimojo N, Nonaka K, et al. Probiotic consumption in pregnant and lactating women increases IL-27 expression in human milk. *Br J Nutr*. 2014;111:625–32.
 72. Rastogi D, Suzuki M, Grealley JM. Differential epigenome-wide DNA methylation patterns in childhood obesity-associated asthma. *Sci Rep*. 2013;3:2164.
 73. Liu X, Chen Q, Tsai HJ, et al. Maternal preconception body mass index and offspring cord blood DNA methylation: Exploration of early life origins of disease. *Environ Mol Mutagen*. 2014;55:223–30.
 74. Wilson RM, Messaoudi I. The impact of maternal obesity during pregnancy on offspring immunity. *Mol Cell Endocrinol*. 2015;418(Pt2):134–42.