

FORMACIÓN CONTINUADA–ACTUALIZACIÓN EN MEDICINA DE FAMILIA

Estructura y función del ADN y de los genes II. Tipos de alteraciones de la función del gen por procesos epigenéticos

M.L. Martínez-Frías^{a,b,c}

^aDepartamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid, España

^bCentro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC-ECEMC), Servicios de Información Telefónica SITTE y SITE, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, España

^cGrupo del CIAC en el CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), España

Recibido el 7 de diciembre de 2009; aceptado el 7 de diciembre de 2009

Disponible en Internet el 8 de mayo de 2010

PALABRAS CLAVE

Epigenética;
Metilación;
Alteración de la cromatina;
Micro-ARN;
Imprinting;
Histonas deacetilasas;
Diethylstilbestrol

KEYWORDS

Epigenetic;
Methylation;
Chromatin alteration;
Micro-RNA;
Imprinting;
Histone deacetylases;
Diethylstilbestrol

Resumen

El tipo de cambios en la función del gen que vamos a resumir en este artículo, no se deben a alteraciones en la estructura del ADN, en ninguno de sus niveles de resolución (mutaciones, pérdidas y ganancias de material, tanto invisibles como visibles por citogenética). Son cambios producidos por procesos epigenéticos, que sin alterar la estructura de la molécula de ADN, si alteran su función.

© 2009 Elsevier España, S.L. y SEMERGEN. Todos los derechos reservados.

Structure and function of DNA and of the genes II. Types of alterations of the gene function through epigenetic processes

Abstract

The type of changes in the gene function we are going to summarize in this article are not due to alterations in DNA structure, in any of their resolution levels (mutations, material loss and gains, both invisible and visible by cytogenetic). They are changes produced by *epigenetic* processes, which although they do not alter the DNA molecular structure, they do alter its function.

© 2009 Elsevier España, S.L. and SEMERGEN. All rights reserved.

¿Cuál es el significado de la palabra epigenética?

Literalmente la palabra epigenética significa «por encima de la genética» y, en la actualidad, se utiliza para hacer

Correo electrónico: mlmartinez.frias@isciii.es

referencia a los cambios en la expresión de genes, sin que se produzcan modificaciones en la estructura de su secuencia de ADN.

¿En qué consisten los procesos epigenéticos?

La misión de los procesos epigenéticos es, en general, la regulación de la expresión de los genes. Así, mientras que la información genética del genoma humano (y de los seres vivos complejos) es la misma en todas las células del organismo, los procesos epigenéticos (*epigenoma*) controlan la expresión diferencial de los genes en los distintos tipos celulares del individuo. Por tanto, determinan no sólo la expresión o silenciamiento (no expresión) de genes, sino también cuándo y dónde ocurren esos procesos, así como la intensidad de su expresión. En términos moleculares generalmente consiste en modificaciones de la cromatina, y variaciones covalentes de la metilación de la citosina en dinucleótidos CpG del ADN.

¿Cuáles son los mecanismos de los procesos epigenéticos?

En la actualidad son varios los mecanismos epigenéticos conocidos, aunque están apareciendo algunos nuevos, o diferentes acciones de alguno de los conocidos. Entre los más conocidos y generales podemos destacar los siguientes:

- a) *Metilación del ADN*. Consiste en la adquisición de grupos metilo (CH₃), de forma que la metilación se asocia con la represión de la expresión del gen, mientras que la hipometilación permite la expresión del gen.
- b) *Remodelación de la cromatina*. Como expusimos en el capítulo 2 de este curso, la cromatina está constituida por el ADN y un grupo de proteínas (las histonas H2A, H2B, H3, H4). La cadena de ADN se enrolla en un octágono de esas cuatro proteínas constituyendo subunidades que se llaman nucleosomas. Dado que estas histonas están esencialmente compuestas de aminoácidos cargados positivamente, se pueden unir al ADN —que tiene carga negativa— en forma estable. Cada una de las ocho histonas tiene una cola amino-terminal que se extiende fuera del nucleosoma, y que puede ser modificada epigenéticamente. Cuando la cromatina se condensa, se acorta, y los nucleosomas se juntan comprimiendo el ADN. Esta es una situación estructural del ADN en la que no se puede realizar la transcripción del mensaje genético. Por el contrario, cuando se va a transcribir el mensaje de un gen, la cromatina de esa zona se relaja separando los nucleosomas, lo que permite la entrada de los factores de transcripción, activando funcionalmente al gen y transmitiendo el mensaje¹. Por ejemplo, en la *figura 1A* se observa que la acetilación de las histonas neutraliza sus cargas positivas, por lo que se relaja la estructura de la cromatina separando los nucleosomas y permitiendo la transcripción del gen (es decir se activa la función del gen)². En consecuencia, la pérdida de la acetilación tendrá el efecto contrario, concentrando la cromatina y silenciando la función del gen (*fig. 1B*). Existen también otros tipos de modificaciones específicas de las histonas que facilitan

la transcripción³. En general, los procesos epigenéticos se realizan a través de diferentes familias de enzimas como las ADN metiltransferasas, acetiltransferasas, deacetilasas, demetilasas y fosforilasas, entre otras.

- c) *Por la acción de los micro-ARN*. Recientemente se ha identificado un gran número de ARN pequeños, que generalmente provienen de zonas no codificantes, llamados micro-ARN. Aunque para muchos de ellos su función aún no es completamente conocida, se sabe que algunos tipos de micro-ARN tienen una importante contribución en la regulación de la expresión génica durante el desarrollo prenatal, incluyendo la formación de las células germinales⁴.

Es claro que las modificaciones epigenéticas que regulan la expresión de los genes, son esenciales para que el funcionamiento del desarrollo embrionario y fetal sea normal. Esa regulación se hace, en general, mediante dos mecanismos fundamentales: 1) por factores regulatorios que activan o silencian la expresión de genes. Por ejemplo, los que activan los promotores de los genes específicos de desarrollo de un tejido, y desactivan los que no son específicos de ese tejido. 2) Los que silencian genes que están sujetos a variaciones de su expresión, por ejemplo los de los cromosomas X (que deben silenciarse en las mujeres para compensación de la dosis, y activarse en los hombres), los promotores de los transposones, y los sometidos a *imprinting*⁵.

¿En qué consiste el *imprinting*?

El *imprinting* genómico, cuya traducción sería «impronta» o «marca», es un tipo especial de modificación epigenética. Consiste en que ciertos genes autosómicos (esto es, genes que se encuentran en todos los cromosomas menos en la pareja de cromosomas sexuales), y ciertas regiones de algunos cromosomas, tienen una expresión haploide. Es decir, que sólo se expresa el gen (o región cromosómica) de uno de los progenitores (el de la madre o el del padre), mientras que el del otro permanece silenciado (con *imprinting*, o marca) mediante un mecanismo epigenético. Es, pues, un mecanismo que va a permitir que ese gen (o región cromosómica) se exprese o no, dependiendo del sexo del progenitor del que proviene, y se debe mantener siempre activa o inactiva en el mismo sexo a lo largo de las generaciones. Por ejemplo, tenemos un gen *A* que tienen *imprinting* materno, es decir, que no se expresará cuando se hereda de la madre, por lo que sólo se va a manifestar el efecto del alelo (gen) que se recibe del padre (*fig. 2*). Sin embargo, para que el sistema funcione, todos los gametos maternos tienen que tener el gen con la marca materna (*imprinting*), mientras que todos los espermatozoides deben tener el gen activo. Por ello, al ser un proceso epigenético, y por tanto reversible, como se indica en *figura 2*, durante la formación de los gametos maternos se modifica la expresión del gen que la madre recibió de su padre, para que adquiera el *imprinting* de la madre. Igualmente, en los gametos paternos se activa el gen que él recibió de su madre, de forma que el 100% de sus gametos tengan ese gen activo. De esta forma, esos genes y regiones cromosómicas con

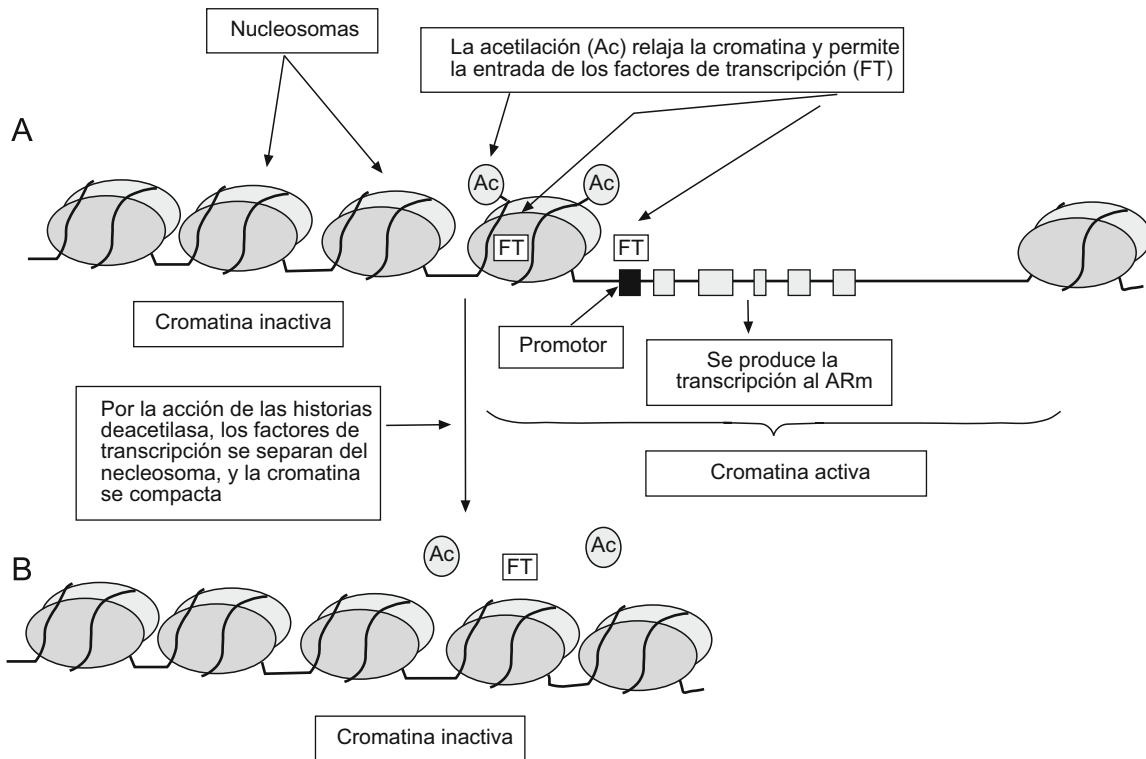
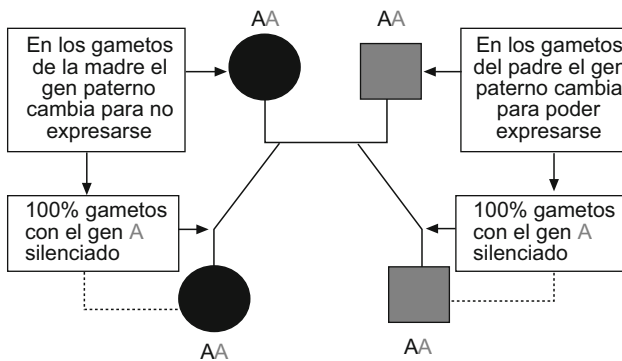


Figura 1 Remodelación de la cromatina: A) Cuando las histonas de los nucleosomas se acetilan (Ac), la cromatina se relaja y deja pasar a los factores de transcripción (FT). Es decir, que se activa la función del gen y se transcribe el mensaje al ARNm. B) Cuando actúan las histonas deacetilasas, se pierde la acetilación, la cromatina se compacta y se impide la transcripción.



De esta forma los hijos siempre reciben el A de la madre y el A del padre

Figura 2 Concepto de *imprinting* Es una forma de expresión génica haploide. Por ejemplo el alelo A tiene *imprinting* materno. Es decir, que solo se expresa el alelo del cromosoma paterno (A).

imprinting siempre mantienen la expresión sólo materna, o sólo paterna.

Factores que pueden alterar estos procesos

Como ya hemos expuesto, sabemos que la expresión y la regulación de la función de los genes están relacionadas a través de modificaciones epigenéticas, y que estas son altamente dependientes de las condiciones ambientales.

Sin embargo, también sabemos que esa regulación es el resultado de una compleja red funcional del ADN que tiene un alto grado de plasticidad para producir una amplia variedad de respuestas adecuadas a los cambios ambientales. No obstante, cambios anormales de ciertos agentes ambientales, pueden alterar la plasticidad del ADN y modificar la expresión de genes en todas sus formas de expresión, sea génica (mutaciones) o epigenética.

Existen evidencias experimentales y también en los seres humanos, sobre distintos factores que afectan a los procesos epigenéticos causando diferentes tipos de alteraciones en: a) las células primordiales de los gametos durante el desarrollo embrionario y fetal; b) Los procesos epigenéticos de las células somáticas durante el desarrollo embrionario y fetal, y c) Los procesos que ocurren durante la maduración de los gametos (tanto del hombre como de la mujer) desde la pubertad.

Entre los factores de los que se tienen evidencias que alteran procesos epigenéticos, porque actúan como inhibidores de la acetilación, la metilación y otros procesos epigenéticos, podemos enumerar los siguientes: hormonas sintéticas, como el dietilestilbestrol y equivalentes, sustancias químicas que sean disruptores endocrinos (una inmensa cantidad de sustancias), alcohol, tabaco, ciertos fármacos, deficiencias nutricionales graves, entre otros⁶⁻¹². Por ejemplo, el ácido valproico (AVP)⁶, es un fuerte inhibidor de las histonas deacetilasas, cuyo efecto va a impedir que se separen los grupos acetilos de los nucleosomas, produciendo una hiperexpresión génica (fig. 1A). De hecho, este mecanismo se ha considerado como la base de

los efectos teratogénicos del AVP. Otro ejemplo importante se refiere a las deficiencias nutricionales, sobre todo graves. Una de las más estudiadas ha sido la hambruna holandesa y sus consecuencias¹⁰, que produjo efectos tanto sobre los recién nacidos como un incremento de problemas de salud durante la vida, incluyendo efectos en los descendientes de la siguiente generación (efecto transgeneracional). En relación con la alimentación, uno de los agentes más importantes que es necesario para el buen funcionamiento del genoma, es el ácido fólico^{11,13}. Además, hay otros productos que causan una hipometilación general como, por ejemplo, los fármacos procainamida (antiarrítmico), y la hidralacina (antihipertensivo), que producen una hipometilación global de las células T por inhibición de la metilación del ADN¹⁴. Esto produce unos síntomas similares a los observados en el lupus eritematoso sistémico (LES), en el que se ha detectado una hipometilación de las células T¹⁵.

A modo de resumen, considerando todos los procesos epigenéticos que actúan durante el desarrollo embrionario y fetal, cualquier agente ambiental que modifique alguno de ellos, puede dar lugar a los diferentes tipos de alteraciones antes mencionados, como: alterando el desarrollo de las células germinales de los gametos durante los periodos embrionario y fetal, e interfiriendo con la maduración de los gametos (tanto del hombre como de la mujer) desde la pubertad (2 tipos de alteraciones que se transmitirán a la descendencia). Modificando los procesos que participan en la progresión del desarrollo embrionario, dando lugar a abortos muy precoces (en los que la mujer no llega a saber que estuvo embarazada), abortos más tardíos, y nacimientos de niños con cualquier tipo de defectos congénitos. Incluso, pueden afectar ciertos procesos que implicarán tener distintos grados de susceptibilidad para desarrollar enfermedades durante la infancia, o a lo largo de la vida adulta; por ejemplo, algunos tipos de cáncer, enfermedades autoinmunes, diabetes tipo 2, entre otras. Esta relación se ha denominado como *bases fetales de las enfermedades de adulto*^{7,8}.

Sin embargo, estos conocimientos permiten también establecer medidas de prevención, tanto primaria como secundaria¹³, que se resumirán en el último capítulo de este curso.

Bibliografía

1. Zamudio NM, Chong S, O'Bryan MK. Epigenetic regulation in male germ cells. *Reproduction*. 2008;136:131–46.
2. Shahbazian MD, Grunstein M. Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation. *Annu Rev Biochem*. 2007;76:75–100.
3. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*. 2007;128:693–705 Review.
4. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet*. 2008;9:102–14.
5. Horsthemke B, Buiting K. Genomic imprinting and imprinting defects in humans. *Adv Genet*. 2008;61:225–46 Review.
6. Gurvich N, Berman MG, Wittner BS, Gentleman RC, Klein PS, Green JB. Association of valproate-induced teratogenesis with histone deacetylase inhibition in vivo. *FASEB J*. 2005;19:1166–8.
7. Block K, Kardana A, Igarashi P, Taylor HS. In utero diethylstilbestrol (DES) exposure alters Hox gene expression in the developing müllerian system. *FASEB J*. 2000;14:1101–8.
8. Akbas GE, Song J, Taylor HS. A HOXA10 estrogen response element (ERE) is differentially regulated by 17 beta-estradiol and diethylstilbestrol (DES). *J Mol Biol*. 2004;340:1013–23.
9. Nilsson EE, Anway MD, Stanfield J, Skinner MK. Transgenerational epigenetic effects of the endocrine disruptor vinclozolin on pregnancies and female adult onset disease. *Reproduction*. 2008;135:713–21.
10. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105:17046–9.
11. Dolinoy DC, Huang D, Jirtle RL. Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:13056–61.
12. Szyf M, McGowan P, Meaney MJ. The social environment and the epigenome. *Environ Mol Mutagen*. 2008;49:46–60.
13. Martínez-Frías ML. Can our understanding of epigenetics assist with primary prevention of congenital defects? *J Med Genet*. 2010;47:73–80.
14. Cornacchia E, Golbus J, Maybaum J, Strahler J, Hanash S, Richardson B. Hydralazine and procainamide inhibit T cell DNA methylation and induce autoreactivity. *J Immunol*. 1988;140:2197–200.
15. Balada E, Ordi-Ros J, Serrano-Acedo S, Martínez-Lostao L, Vilardell-Tarrés M. Transcript overexpression of the MBD2 and MBD4 genes in CD4+ T cells from systemic lupus erythematosus patients. *J Leukoc Biol*. 2007;81:1609–16.