

La epigenética en una cáscara de nuez

Por MVZ. Fernando Cavazos García
Veterinario de Servicio Técnico ABS México S.A. de C.V.

¿Qué es la EPIGENÉTICA?

Seguramente muchos de Ustedes recientemente han escuchado este vocablo en alguna conferencia o lo han leído en algún artículo. Cada vez con mayor frecuencia se oye hablar de este tema ya que es una rama de la ciencia biológica que ha tenido un gran avance en los últimos 15 años (muy notoriamente en la investigación sobre el cáncer) y nos permite conocer procesos muy importantes para el desarrollo de cualquier ser vivo y el mantenimiento de la vida misma.

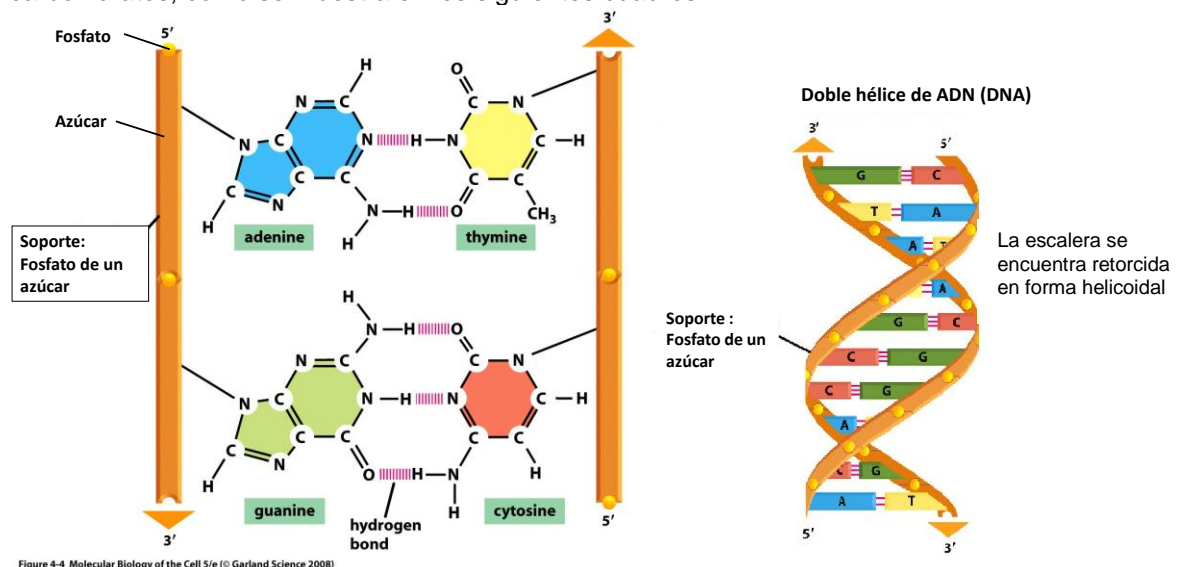
Etimológicamente, el término está formado por el prefijo griego “EPI” que significa “por encima de”; y por la ya conocida palabra GENÉTICA y da a entender algo que está “por encima de la Genética” es decir, por encima de lo que está codificado en los genes (o codificado en el ADN que forma los genes). A continuación dos definiciones aceptadas de **Epigenética** que nos van dando una idea de lo que estudia esta rama de la ciencia:

“Es el estudio de cambios heredables en la expresión de los genes, que ocurren independientemente de cambios en la secuencia primaria del ADN (o DNA)”.

“Epigenética”: Cambios en la transcripción de los genes a través de una modulación ejercida por la cromatina; modulación que **NO es determinada por cambios en la secuencia del ADN”**

Tendremos que comenzar primero por entender qué es la “Cromatina” y cómo está formada.

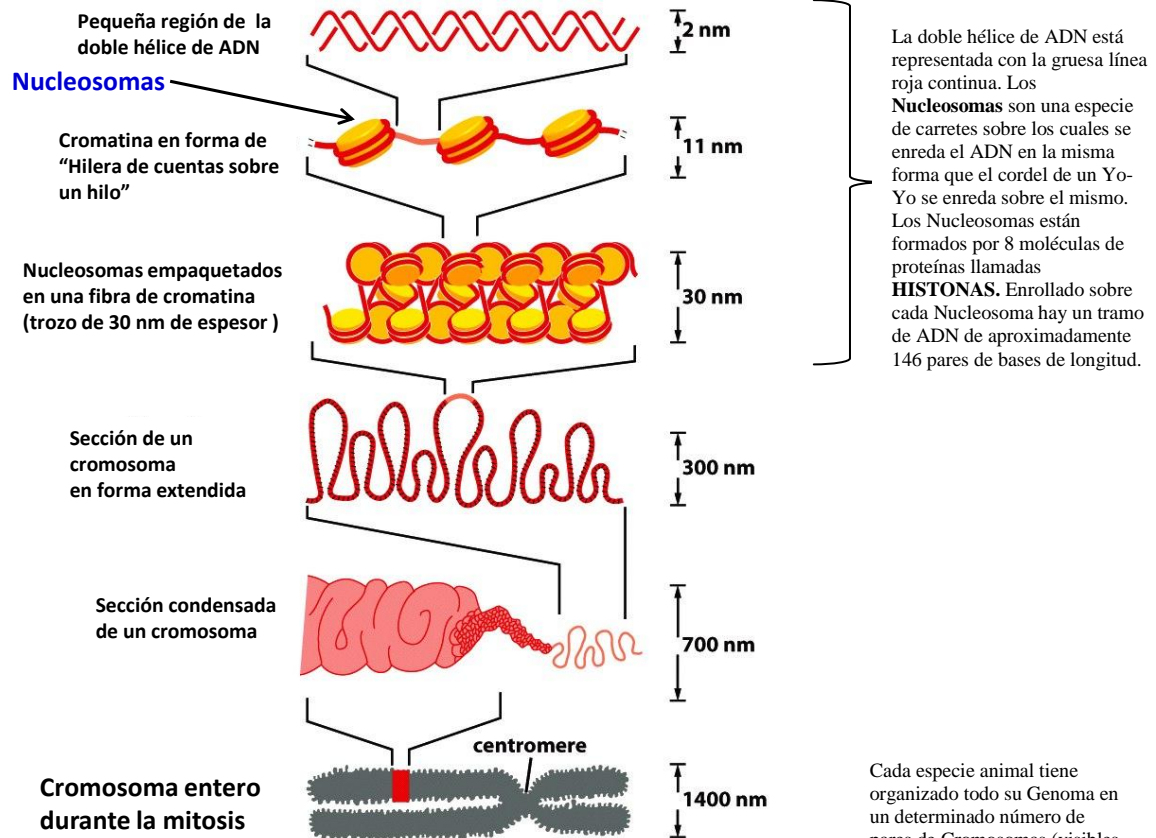
Es ampliamente conocido que, todas las características o rasgos fenotípicos de un individuo, están determinados por un código genético o “Genoma”, constituido por todo el ADN que está en el núcleo de sus células. Dicho ADN está formado por pares de bases unidas a manera de peldaños de una escalera cuyos soportes laterales están hechos con fosfatos de carbohidratos, como se muestra en los siguientes cuadros:



Cada par de bases actúa como una letra y con la combinación secuencial de dichas letras se van formando palabras, párrafos y capítulos al igual que en un libro. Esos párrafos o capítulos formados por las palabras resultantes de la combinación de las bases es lo que conocemos como **genes**, que a su vez codifican el ensamblaje de una determinada proteína que será producida por las células. Todo el genoma completo de un individuo podría compararse a una gran biblioteca con miles de libros y en todo ese conjunto de libros están codificadas todas las características de ese individuo. La Genética estudia cómo es que esas bibliotecas determinan los rasgos fenotípicos del individuo y cómo éste hereda a su descendencia sus características. Para que esa gran biblioteca sea funcional tiene que haber un sistema que organice qué libros o qué capítulos de determinado(s) libro(s) serán leídos e interpretados en un momento dado o en determinada fase de la vida del animal, o en determinado tipo de tejido u órgano. Así como en una biblioteca se cuenta con un “índice” que organiza y clasifica todos los libros

almacenados en sus anaqueles (para facilitar su lectura), así la larga cadena de ADN está empaquetada dentro de un sistema especial llamado “Cromatina” que ayudará a regular qué genes estarán activos o serán copiados y que genes permanecerán silenciados. A esto se le llama la “expresión” o la “transcripción” de los genes para que puedan actuar y manifestarse ya que no estará la totalidad de los genes activos todo el tiempo, unos estarán activos y otros sin transcribir su contenido para la elaboración de proteínas.

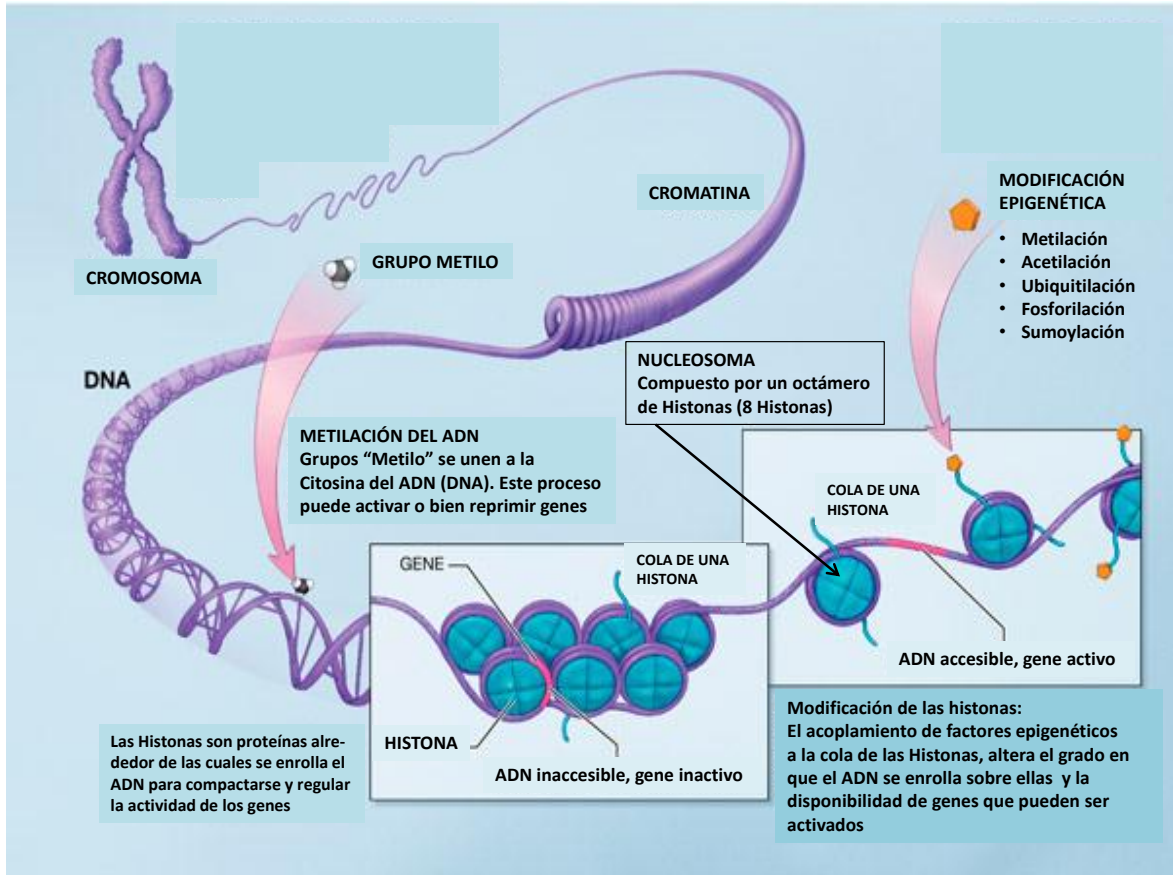
En el cuadro siguiente se describe cómo se va organizando el ADN para formar la Cromatina y cómo ésta a su vez forma los Cromosomas:



RESULTADO NETO: Toda la molécula de ADN ha sido empaquetada dentro de un cromosoma mitótico el cual es 10,000 veces más corto que la longitud total del ADN

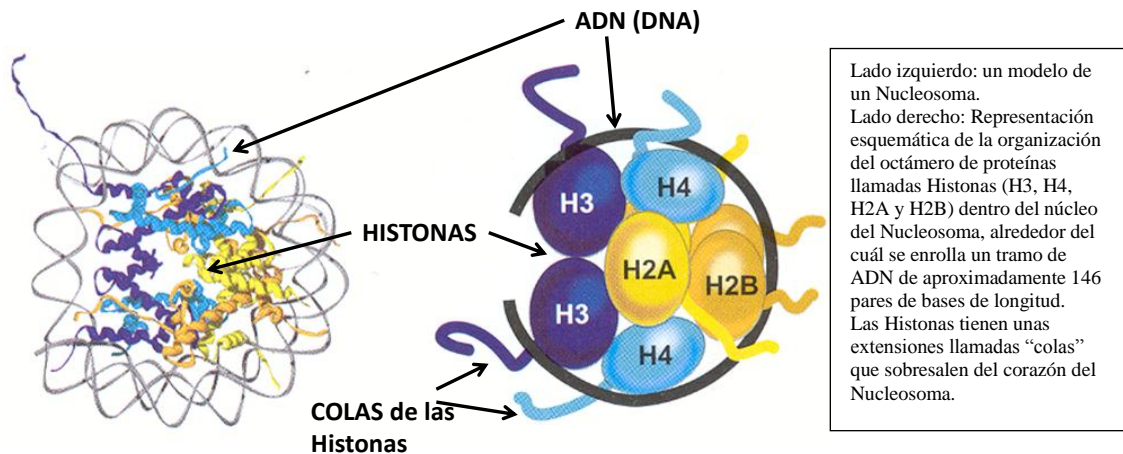
Cada especie animal tiene organizado todo su Genoma en un determinado número de pares de Cromosomas (visibles durante la mitosis de las células)

Quizá el siguiente cuadro sirva para terminar de formar una idea clara de cómo está organizada la **Cromatina**; en él se muestran ya dos de los principales **factores epigenéticos** que regulan la expresión o bien la represión de los genes: 1) La **Metilación del ADN** (de una de sus bases, la Citosina) y 2) **Modificaciones de las Histonas** que forman los Nucleosomas.



El enrollamiento o embobinado del ADN (DNA) sobre los Nucleosomas es un proceso dinámico, la cadena de ADN se recorre sobre los Nucleosomas permitiendo que ciertos genes sean accesibles, se puedan expresar y permanezcan activos; mientras que otros genes quedan enrollados sobre los Nucleosomas y no pueden expresarse. Complejas reacciones bioquímicas controlan ese deslizamiento sobre los Nucleosomas.

Los siguientes dibujos muestran cómo están formados los Nucleosomas:



Las Histonas pueden sufrir **modificaciones epigenéticas** tanto en su cola como en su parte globular que está dentro del corazón del Nucleosoma.

Mecanismos Epigenéticos

Se han descubierto varios mecanismos epigenéticos, pero los más estudiados han sido los siguientes:

- **Metilación del ADN**
- **Modificaciones covalentes de las Histonas**
- **Modificaciones no-covalentes de las Histonas**
 - **Incorporación de Variantes de Histonas**
 - **RNA no codificante, incluyendo los “micro RNA” (miRNAs)**

Cabe mencionar que todos estos mecanismos se ponen en práctica gracias a la intervención de enzimas especiales que catalizan cada una de esas reacciones.

La importancia de estos mecanismos radica en que **regulan el funcionamiento del genoma**: Alteran la dinámica estructural local de la Cromatina, haciendo variar su nivel de compactación y por ende la accesibilidad a la información genética (controlan qué genes van a actuar y cuales permanecerán inactivos).

La otra cuestión importante con respecto a ellos es que **pueden verse afectados por**:

- ✓ El Desarrollo que tuvo el individuo (ya sea en la vida intrauterina o los primeras etapas de su vida)
- ✓ Substancias químicas del medio ambiente.
- ✓ Drogas o medicamentos
- ✓ Envejecimiento
- ✓ La dieta que consuma el individuo. (Somos lo que comemos, como suele decirse)

Por otro lado, los desajustes graves en estos mecanismos epigenéticos tienen consecuencias graves para la salud. En el ser humano por lo menos se ha encontrado que tienen estrecha relación con: **Cáncer, Enfermedades Autoinmunes, Desórdenes mentales y Diabetes.**

La interacción de todos estos mecanismos crea una especie de “Paisaje Epigenético” que regula la forma en que el Genoma se manifiesta a sí mismo, ya sea en diferentes tipos de células del organismo o en distintos estados del desarrollo, así como en estados de enfermedad como es el caso del Cáncer.

Metilación del ADN

Es un mecanismo estable para silenciar genes. Se lleva a cabo principalmente en los dinucleótidos que contienen la base Citosina (dinucleótidos CpG):

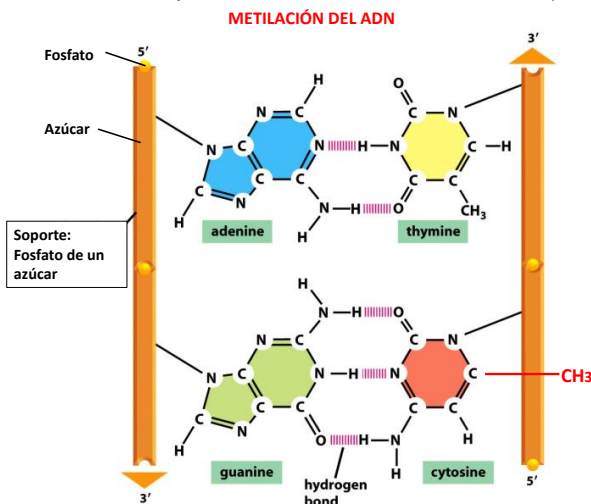


Figure 4-4 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Las enzimas Metiltransferasas catalizan la reacción por medio de la cual un grupo Metilo (CH₃) se une a la base Citosina. Los dinucleótidos con Citosina (CpG) se encuentran repartidos por todo el ADN pero abundan mucho más en unas áreas del ADN llamadas “islas CpG” formando ahí como el 60% de los promotores de genes. Esas islas de dinucleótidos CpG generalmente no están metiladas, en cambio el resto de los dinucleótidos CpG repartidos por el genoma sí suelen estar metilados.

La metilación de las “Islas CpG” da como resultado, por ejemplo, la inactivación de uno de los cromosomas X en las hembras, que es un proceso normal de compensación. Existe otro proceso llamado “Huella genómica” (Genomic Imprinting) en el que se inactiva un determinado gen aportado por uno de los progenitores (el padre) lo cuál es el resultado de la metilación del ADN en ese determinado gen.

Los seres humanos tenemos genes “Supresores de Tumores” cuya acción evita que se desarrollen tumores malignos. Si estos genes sufren una hiper-metilación en su ADN, dejan de funcionar porque su información genética ya no puede ser copiada debido a que esos metilos

entorpecen el proceso. Eso puede ser el inicio de un cáncer en el ser humano, así de fácil nos podemos sacar el fatídico “premio” en la ruleta del cáncer. Substancias contaminantes del medio ambiente u otras como las del cigarro podrían actuar de esta forma (metilando el ADN) ocasionando cambios epigenéticos en las células, facilitando el desarrollo de procesos cancerosos.

Modificaciones Covalentes de las HISTONAS:

Estas se llevan a cabo generalmente en “la cola” de las Histonas, las cuales pueden sufrir: Metilación, Acetilación, Ubiquitilación, Sumoylación o bien Fosforilación. (Todo ello por medio de reacciones enzimáticas)

Estas modificaciones regulan procesos celulares clave como la Transcripción, Replicación y la Reparación. En su conjunto, estas modificaciones crean una especie de “Memoria Epigenética” de la célula, en forma de un “Código de las Histonas”, que determina la estructura y actividad de diferentes regiones de la Cromatina.

Estas modificaciones covalentes en la cola de las Histonas inter-actúan también con los mecanismos de Metilación del ADN para la regulación epigenética de la expresión de los genes.

Modificaciones No-Covalentes de las HISTONAS:

I. **Remodelación de los Nucleosomas (reposicionamiento):** Aparte de servir como módulos básicos para el “empaquetado” del ADN dentro de la célula, los Nucleosomas regulan la expresión de los genes permitiendo o no que los “factores de transcripción” tengan acceso a las secuencias del ADN. Se ha observado que los Nucleosomas se encuentran localizados cerca de los “promotores de genes” del ADN. En las regiones o tramos de ADN entre un Nucleosoma y otro, se lleva a cabo la transcripción de los genes. Si un Nucleosoma tapa o estorba en un promotor de un gen, ese gen se puede inactivar.

Hay mecanismos para “recorrer” o “deslizar” los Nucleosomas o bien provocar su eyección y así regular la expresión o bien la inactivación de los genes. Esos mecanismos son llamados “Complejos Remodeladores de Cromatina”.

II. **Incorporación de Variantes de Histonas:** Aparte de las 4 histonas básicas (H3, H4, H2A, H2B) que forman los Nucleosomas, existen otras dos variantes: la H3.3 y la H2A.Z; que pueden entrar a remplazar a las histonas básicas. La incorporación de estas variantes también influye en la ocupación de los Nucleosomas por parte del ADN y por ende en la actividad de los genes.

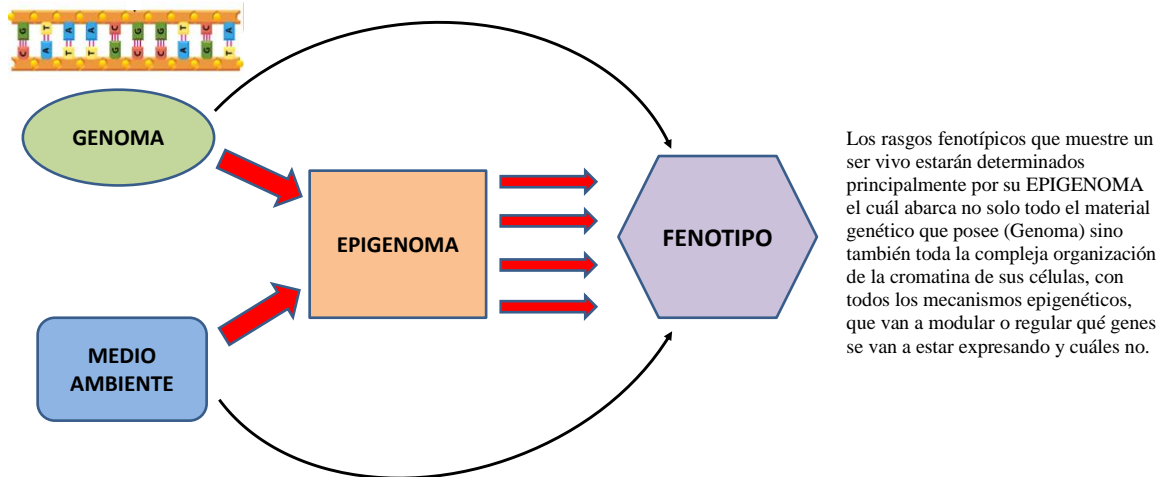
Micro RNA (mi RNAs):

Son cadenas cortas de RNA de unos 22 nucleótidos que van y se unen a determinado “RNA mensajero” (mRNA), producido a su vez por la acción de un gen. Actúan ahí como un agente bloqueador de ese mRNA degradándolo o impidiendo su traducción en la célula. De esa manera indirecta, ello equivale a silenciar el gen que codificaba la formación del mRNA.

La expresión de estos **microRNAs** puede ser regulada también por los mecanismos epigenéticos ya mencionados más arriba; pero a su vez, estos microRNAs pueden modular la acción de los mecanismos epigenéticos porque pueden tener como blanco de acción a las enzimas responsables de la Metilación del ADN o bien de las modificaciones de las Histonas.

Importancia práctica de los mecanismos epigenéticos.

De todo lo anterior se puede deducir que el Genoma no lo es todo, ya que existen sistemas que modulan o regulan la expresión de los innumerables genes que se encuentran en el Genoma. Esos sistemas son en gran parte los mecanismos epigenéticos ya mencionados. En la actualidad se ha comprobado que el siguiente esquema, que habla ya de un **EPIGENOMA**, es correcto:



El siguiente ejemplo con **gemelos idénticos humanos** puede ayudar a aclarar lo anterior:



Estos dos gemelos tienen exactamente el mismo Genoma puesto que son gemelos provenientes del mismo cigoto, pero fueron separados desde temprana edad y criados en diferentes medio ambientes.
¿Por qué tienen un Fenotipo tan diferente? Porque el diferente medio ambiente en el que fueron criados desde temprana edad influyó para que su EPIGENOMA fuese diferente y por lo tanto tienen, hasta cierto punto, un diferente conjunto total de genes que están siendo expresados en sus células.

Figure 7-87 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

En estos casos se ha encontrado que estos seres humanos tienen un EPIGENOMA muy similar en los primeros meses de vida, pero posteriormente, debido al diferente medio ambiente en el que se han desarrollado, presentan grandes diferencias en el grado de metilación de su ADN (contenido y distribución de 5-metil-Citosinas) así como en la cantidad de Histonas acetiladas que hay en su Epigenoma. **Esto significa que el medio ambiente puede llegar a tener influencia en la expresión de los genes, a través de la modificación de los mecanismos epigenéticos.**

Diversos factores ambientales pueden contribuir a la variación del Epigenoma, pero hay dos bien reconocidos y comprobados científicamente:

1. **La Dieta:**

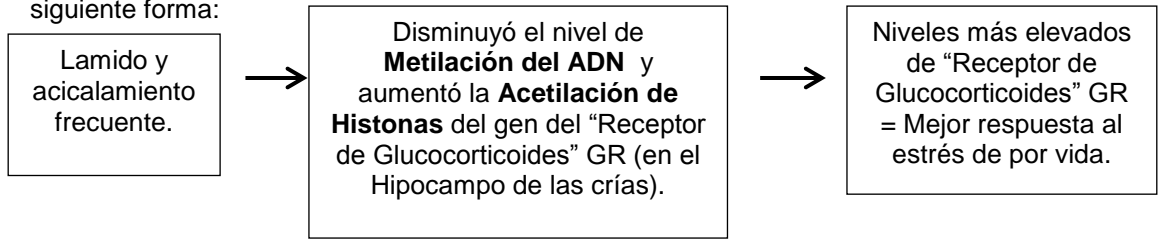
- a. Contribuye al **status global de metilación del ADN en el Epigenoma.**

Ese **status** también es dependiente de la **edad de la persona**: a mayor edad, menor metilación global pero con hiper-metilación en sitios específicos.

- b. Suplementación de la dieta materna con **Ac. Fólico, B12 y betaina, cambia el epigenotipo y el fenotipo** de las crías de ratonas “*augouti*”
c. Es factible que, el hecho de que un mayor consumo de **Ac. Fólico** en mujeres embarazadas, disminuya el riesgo de defectos en el tubo neural del bebé; se deba a efectos mediados por cambios epigenéticos como metilación del ADN o de las Histonas.

2. **Experiencias Tempranas en la vida:** Un estudio reveló que un mejor comportamiento materno en ratas (lamiendo y acicalando mejor a sus crías al nacer) afectaba de por vida en sus crías la regulación de los niveles de

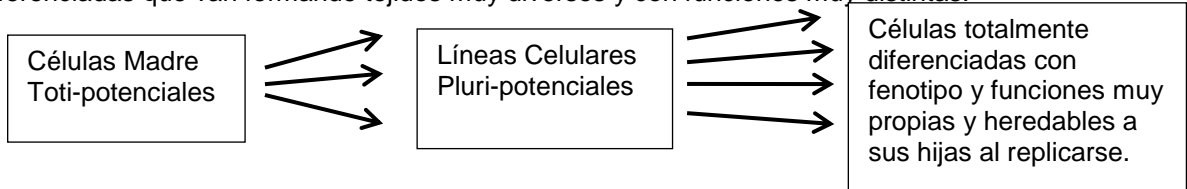
hormona del estrés y su respuesta al estrés. ¿Cómo es posible esto? De la siguiente forma:



Esto ha despertado la inquietud de investigar el papel que pueden jugar en humanos las experiencias tempranas en la modulación de los epigenotipos y el eventual riesgo de desórdenes psiquiátricos.

La Epigenética en el desarrollo Embrionario:

Es fascinante observar cómo, a partir de las dos primeras células resultantes de la división del cigoto, va surgiendo luego con el desarrollo embrionario, una gran gama de células diferenciadas que van formando tejidos muy diversos y con funciones muy distintas:

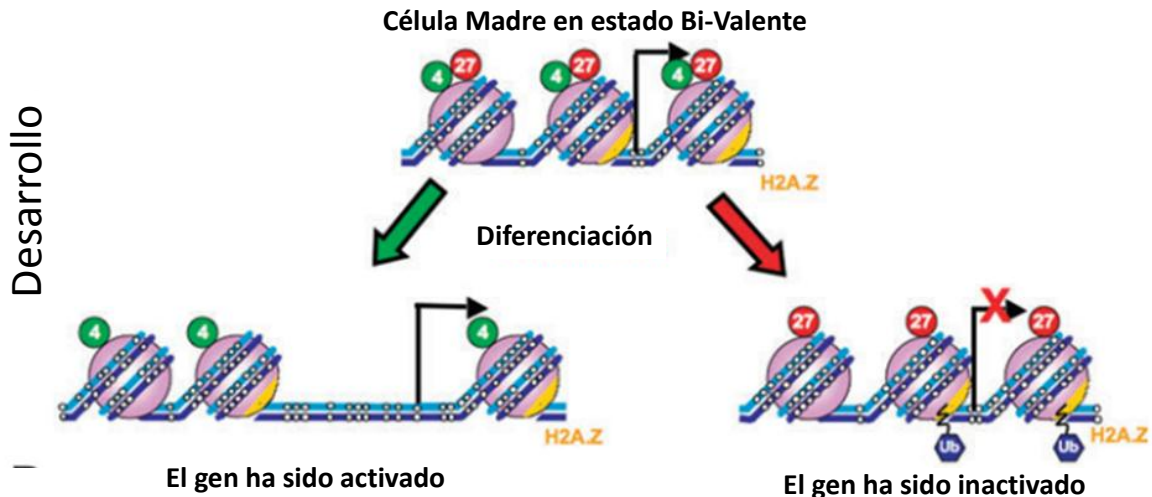


La formación de diversos linajes de células, cada uno con su propio fenotipo y funciones muy particulares, se logra también a través de estos mismos mecanismos epigenéticos que van conformando las características y marcas epigenéticas en la cromatina de cada tipo de célula, dándole su identidad y características al definir qué genes van a estar siendo copiados (para cumplir las funciones de la célula) y qué otros genes no van a estar activos debido a que ese tipo de célula en especial no requiere ponerlos en funcionamiento.

El siguiente cuadro nos permite ver un ejemplo de cómo, las células Madre Toti-potenciales tienen unas características epigenéticas bivalentes que les permiten la opción de que un determinado gen sea o no activado durante el proceso de diferenciación:

El cuadro nos muestra una porción de ADN enrollada sobre 3 Nucleosomas, las líneas azules sobre los Nucleosomas representan la doble hélice de ADN. La flecha negra indica el sitio donde se encuentra el promotor de un determinado gen.

El lado izquierdo (flecha verde) muestra el proceso por el cual ese gen en particular es activado si la célula diferenciada lo requiere para sus funciones. Nótese cómo se han separado los Nucleosomas para permitir que esa parte del ADN pueda ser copiada. Por el contrario, el lado derecho (flecha roja) muestra el proceso de silenciamiento de un gen que no será requerido.



Obsérvese que la Célula Madre, para contar con plasticidad epigenómica posee tanto los círculos verdes (con el 4) que representan una Metilación llamada H3K4 de la Histona H3, la cual tiende a ser “activadora”; como también posee los círculos rojos (con el 27) que representan una Metilación llamada H3K27 de la misma histona, la cual tiende a ser “represora”. Véase lo que sucede con estos círculos verdes y rojos en cada lado del cuadro. Ahora se explicarán porqué son tan comunes actualmente los tratamientos a base de células madre para ciertos padecimientos pues tienen esa llamada plasticidad epigenómica.

La Epigenética en el Cáncer

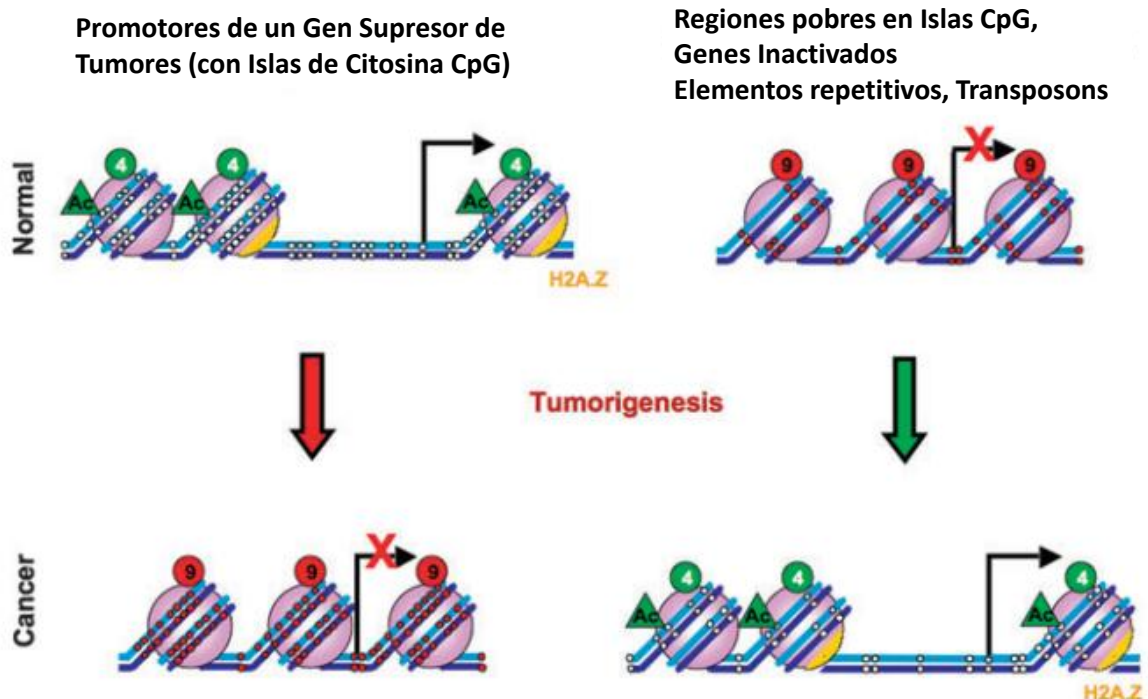
Es innegable que el cáncer puede ser originado por causas netamente genéticas, es decir, por alteraciones en las secuencias de las bases del ADN, como es el caso de las mutaciones de determinados genes; y hasta hace algunos años se pensaba que solo así se generaban estos procesos patológicos. Sin embargo, en los últimos 15 años se ha ido descubriendo que los mecanismos epigenéticos juegan un papel muy importante en todo esto ya que existen en nuestras células tanto genes considerados como “oncogénicos” (si son activados); como genes “Supresores de Tumores” (que conviene que estén activos). La activación y/o silenciamiento de unos y otros se da por medio de los mecanismos epigenéticos aquí tratados.

El cuadro mostrado más abajo sirve para ilustrar estos procesos:

Al igual que en el cuadro anterior, se muestra un tramo de ADN enrollado sobre 3 Nucleosomas.

En el lado izquierdo del cuadro (con la flecha roja, que denota represión) se muestra el proceso por el cual se inactivan genes deseables “Supresores de Tumores”; que al quedar inactivos dejan desprotegido al organismo incrementándose el riesgo de cáncer. En el lado derecho del cuadro (con la flecha verde, que denota activación) se muestra la activación de genes con características oncogénicas.

Lado izquierdo: Obsérvese que cuando los genes “Supresores de Tumores” están activos (área Normal del cuadro) tienen marcas epigenéticas peculiares: 1) El ADN no se encuentra metilado (circulitos pequeños blancos sobre el ADN), 2) los Nucleosomas están separados para permitir que sea copiada la información genética del gen, 3) Hay metilación del tipo H3K4 en las Histonas, que tiende a ser activadora (círculos verdes con el 4), y también hay Acetilación de las Histonas (Triángulo verde Ac) y 4) Los Nucleosomas tienen una variante de Histonas llamada H2A.Z (en amarillo).





Lo que provoca que estos genes benéficos se inactiven es la pérdida de la Metilación tipo H3K4 (los círculos verdes desaparecen) y también de la Acetilación de las Histonas (desaparecen los triángulos verdes). El ADN aparece ahora hiper-metilado (circulitos rojos pequeños sobre el ADN) y hay un nuevo tipo de metilación de las Histonas, la H3K9 (círculos rojos con 9). Los Nucleosomas se han juntado y se ha perdido la variante H2A.Z de las Histonas.

Lado derecho: Muestra cómo, por medio de un proceso inverso al que se acaba de describir para el lado izquierdo; son activados ahora genes indeseables con características oncogénicas. Hay diversos factores ambientales, contaminantes del medio ambiente, substancias que podemos ingerir sin darnos cuenta, productos tóxicos como los del tabaco, que pueden desencadenar procesos de este tipo.

Es por ello que al Cáncer se le ha definido de la siguiente forma:

El cáncer es, en última instancia, una enfermedad de la “expresión de los genes”, en la cual se desordenan las complejas redes que gobiernan la homeostasis en los organismos multicelulares, permitiéndole a las células multiplicarse sin tomar en cuenta las necesidades del organismo como un todo.

También se ha dicho que el Cáncer:

Es causado por la desregulación heredable de los genes que controlan cuándo las células deben dividirse, morir o moverse de una parte del cuerpo a otra.