

I Introducción

1.1 Conceptos básicos y descripción

La genética tradicional estableció por mucho tiempo que el único factor de herencia consistía en la secuencia de nucleótidos del ADN y que las variaciones en las características fenotípicas estaban determinadas solamente por mutaciones y por recombinaciones de ésta. Sin embargo, en 1940 el biólogo Conrad Waddington definió por primera vez a la epigenética como las *interacciones entre genes y el ambiente que definen el fenotipo de cada ser vivo* [Waddington 1940]. Posteriormente, en 1975 se propuso que la metilación del ADN podría ser responsable del patrón característico de expresión de ciertos genes durante la mitosis [Riggs 1975; Holliday & Pugh 1975]. La investigación de este tipo de fenómenos continuó hasta lograr desarrollar modelos que explican alteraciones químicas del ADN, y proteínas afines, junto con su influencia sobre las características de la cromatina [Kaput 2004]. Adicionalmente, numerosos estudios han descrito cómo las células modifican sus patrones de expresión de acuerdo a las condiciones ambientales [Kaput 2004; Peaston & Whitelaw 2006; Merrow et al. 2005; Jaenisch 2003] y estados de desarrollo, lo que ha contribuido a darle cierta flexibilidad al concepto de *estar determinado por una composición genética*: se ha demostrado que los factores a los que esté expuesta cada célula contribuyen a la selección de genes que expresa y que silencia.

Por lo tanto, **la epigenética estudia las modificaciones químicas covalentes experimentadas tanto por proteínas con dominios de unión a ADN, como por el mismo ácido nucleico, sin alterar su secuencia de nucleótidos**. Estas alteraciones pueden ser sinérgicas [Kaminsky 2006], potencialmente reversibles y hereditarias. Los cambios de conformación en la cromatina que conllevan influyen en la disponibilidad genética a la transcripción, primer paso de la expresión de genes. A su vez, los patrones de actividad genética resultantes influyen en las características fenotípicas de los individuos como, por ejemplo, la susceptibilidad a desarrollar enfermedades y la maquinaria metabólica disponible para procesar xenobióticos.

Entonces, se podría decir que la *información epigenética* se encarga de dar las instrucciones para expresar los genes (la *información genética*) [Turner 2001]. Es decir, la epigenética se encarga de modular la actividad de las secuencias de ADN y de las características de transmisión de estas instrucciones de control de una generación a otra.

Los estudios epigenéticos realizados sobre diversos organismos, entre los que se encuentran la bacteria *Escherichia coli*, levaduras, ratones, seres humanos y otros animales; han demostrado que la regulación epigenética es crítica para el funcionamiento normal del genoma [Ptak & Petronis 2008]. Las células sólo pueden trabajar normalmente si ambos componentes, la epigenética y las secuencias de ADN, lo hacen de manera apropiada: los genes con una modulación epigenética anómala pueden ser dañinos e inducir enfermedades, aunque la secuencia de ADN esté libre de errores.

1.1.1 Estructuras reguladoras de la cromatina

Todos los organismos almacenan una molécula relativamente larga de ADN dentro de un pequeño espacio celular (Fig. 1). En el caso de las eucariotas, tipo celular correspondiente al enfoque de este trabajo, el núcleo es el compartimiento encargado de almacenar la información genética (alrededor de 3 metros de ADN por núcleo en humanos [Lu et al. 2006]), junto con otras proteínas encargadas de su empaque, ensamblaje, replicación, transcripción, recombinación, modificaciones epigenéticas y reparación de ADN.

La cromatina existe en forma de *heterocromatina* y *eucromatina*. La primera es una región muy condensada, teñible, y compuesta principalmente por secuencias de ADN repetitivas, mientras que la eucromatina es poco condensada, ligeramente teñible y con regiones genómicas de transcripción activa [Bird 2001; Li 2002].

1.1.1.1 Estructura reguladora del gen eucariote

Un *gen* se define como una región operacional del ADN cromosómico que puede ser transcrita para producir un ARN funcional en el tiempo y lugar correcto durante el desarrollo (Fig. 2). Por lo tanto, un gen está compuesto por la región sujeta a transcripción y las regiones reguladoras adyacentes [Griffiths et al. 2002].

No existe un modelo de gen que pueda representar a la totalidad de las configuraciones diferentes que existen, sin embargo, el gen que se describirá a continuación tiene las regiones básicas de ADN involucradas en la regulación de todos los genes susceptibles a la acción de la polimerasa II (PolII)[Turner 2001].

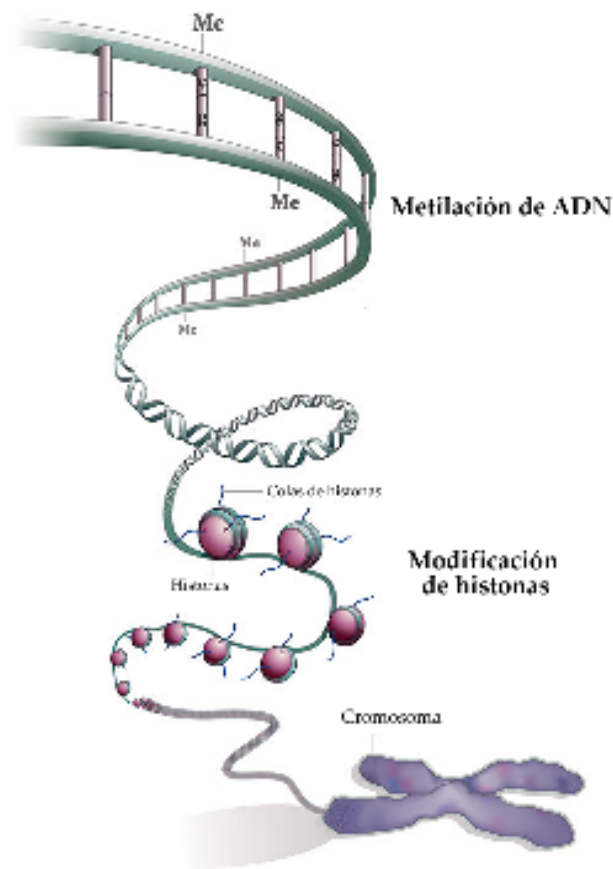


Figura 1. Estructura de la cromatina y algunos niveles susceptibles a modificaciones epigenéticas [Adaptado de Qiu 2006].

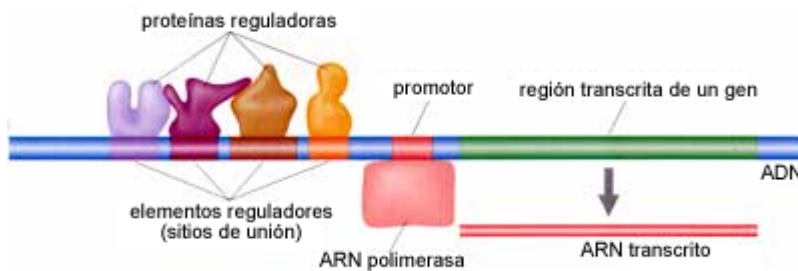


Figura 2. Estructura básica de un gen eucariote y proteínas involucradas en la modulación de la transcripción [Adaptado de Myers 2007].

Los elementos río-arriba de ADN que se unen a ciertas proteínas específicas (factores de transcripción) generalmente son elementos cercanos al promotor, se ubican a ~ 200 pb¹ de la caja

¹ pb = pares de bases nitrogenadas, p.e. -A:T-.

² kb= kilobases nitrogenadas (1 kilobase= 1000 bases)

TATA. Para algunos genes también existen sitios potenciadores, generalmente localizados río arriba a varias kb² del promotor; sin embargo también es posible encontrarlos, con menor frecuencia, río abajo. Los factores de transcripción que se unen a estos sitios interactúan, de manera directa o por medio de proteínas intermediarias, con el complejo ARN polimerasa para formar el complejo de pre-iniciación (PIC) de la transcripción.

Algunos de los sitios promotores proximales están ubicados río-arriba de varios promotores, de manera que los mismos factores de transcripción puedan interactuar con ellos y se module la actividad de varios genes. Otros están restringidos a un número limitado de genes y éstos generalmente median la respuesta hacia un factor ambiental. Así mismo, la transcripción de algunos genes depende totalmente de los potenciadores, los cuales regulan a zonas promotoras.

Las proteínas unidas a sitios río-arriba deben ser capaces de interactuar con el PIC formado alrededor de la caja TATA. La distancia disponible para esto es equivalente a 70 nm (~200 pb) y es suficiente para permitir interacciones entre proteínas sin tener que cambiar la conformación β original del ADN. Sin embargo, es necesario cierto doblamiento del ADN para facilitar las interacciones del PIC con varias proteínas río-arriba; esta manipulación se logra con las *proteínas arquitectónicas* y con la cromatina misma (Fig. 3).

1.1.1.2 Nucleosomas

El nucleosoma es la estructura básica de la cromatina. Consiste en un centro proteico, compuesto por un tetrámero de histonas H3-H3-H4-H4 y dos dímeros de H2A-H2B, envuelto por ~146 pb de ADN [Oomen et al. 2005; Lu et al. 2006]. Estas estructuras están estabilizadas por interacciones electrostáticas entre los grupos fosfato del ADN (cargados negativamente) y grupos ϵ -amino (lisina) y guanidino (arginina) de las histonas [Oomen et al. 2005].

Los nucleosomas se conectan entre sí por medio de un fragmento corto de ADN denominado *conector ADN*, que visto en un arreglo lineal se asemejan a cuentas en un collar.



Figura 3. Complejo de transcripción de células eucariotas.

Contiene cuatro componentes:

- Proteínas de unión TATA es un complejo de proteínas que actúan como los primeros factores de transcripción basales que se unen al promotor central
 - Factores de transcripción basales A, B, F, E y H
 - Activadores y represores que regulan a los factores basales
 - Proteínas coactivadoras que comunican a los factores basales y los activadores. Posiblemente también lo hacen con represores, el complejo de proteínas de unión a TATA y los factores de transcripción basales.
- Las proteínas numeradas (de acuerdo a su peso molecular en kDa) son las subunidades de ARN polimerasa II. [Adaptado de Myers 2007].

1.1.1.3 Histonas

El ADN dentro del núcleo de células eucariotas, con un diámetro de ~10 µm, está compactado más de 10.000 veces por unas proteínas altamente alcalinas denominadas *histonas* [Margueron et al. 2005]. Las histonas son proteínas pequeñas, de 11-12 kDa, formadas por un dominio globular C-terminal y una cola flexible N-terminal compuesta de residuos de lisina, arginina, serina y glutamato. Los residuos de aminoácidos en la porción C-terminal son blanco de modificaciones post-traduccionales con influencia importante en la estructura de la cromatina, modulación de la expresión genética, reparación del ADN y condensación mitótica/meiótica [Oomen 2005]. Las histonas forman la parte central del nucleosoma, y los diferentes subtipos de histonas contienen terminaciones amino que sobresalen de la superficie de esta estructura. Hasta hace poco, la mayoría de los estudios se habían enfocado en la alteración de un número de residuos limitado.

Las modificaciones en histonas influyen la estructura de la cromatina al interactuar con otras marcas epigenéticas, como la metilación de ADN y la organización nuclear [Margeron et al. 2005]. Para explicar la función reguladora de estas modificaciones post-traduccionales, Strahl y Allis (2000) propusieron un *código de histonas* que argumenta [Strahl & Allis 2000]:

- a) Las distintas modificaciones en una cola de histona específica, pueden ocurrir secuencialmente o en combinación para formar un *código de histonas* que puede ser leído por proteínas asociadas a la cromatina y así servir como plataforma de señalamiento y enlace para reclutar factores nucleares mediadores de expresión genética.
- b) Los diferentes patrones de modificación en las colas de histonas pueden ser interdependientes.

Por lo tanto, se infiere que las diversas modificaciones en las histonas colaboran para regular procesos biológicos. Además, un tipo de modificación específica puede inducir, o evitar, otros tipos de alteración en la misma región cromosómica o en otras (Fig. 4). No obstante, aún no existe un conocimiento suficiente sobre las histonas y sus modificaciones, por lo que aún no se descifra por completo la información epigenética codificada en ellas [Margeron et al. 2005]. El impacto de las modificaciones en histonas sobre la transcripción, especialmente en organismos eucariotes superiores, apenas está empezando a ser apreciado.

La comprensión completa del código de histonas requerirá un análisis sobre las modificaciones en tiempos y contextos celulares definidos [Margueron et al. 2005]. Entonces, el código de histonas puede ser sólo una parte de un código proteico, un *epiproteoma*, que puede ser uno de los principales responsable de la gran complejidad encontrada en organismos como los mamíferos. Descifrar el lenguaje que permite la expresión genética específica bajo diferentes condiciones es reto base del estudio epigenético.

1.1.2 La epigenética y la nutrición

En el año de 1968, el científico estadounidense Linus Pauling propuso el concepto de *medicina ortomolecular* basado en la idea de que los genes pueden ser regulados de acuerdo a la concentración de un factor alimenticio con el fin de mantener cierto crecimiento, diferenciación y apoptosis celular bajo condiciones de homeostasis [Pauling 1968]. En la actualidad, esta tendencia se orienta hacia el mantenimiento de la salud en general por medio del consumo apropiado de alimentos. En cierta medida, la influencia nutricional sobre mecanismos epigenéticos ha podido corroborar este principio. Para comprender el impacto nutricional sobre la expresión genética, es necesario aclarar algunos conceptos clave.

Inicialmente, los términos *nutrigenética* y *nutrigenómica* se utilizan con frecuencia como sinónimos. Sin embargo, mientras la nutrigenética se enfoca en variaciones simples de genes y sus implicaciones nutricionales asociadas, la nutrigenómica contempla el efecto de los compuestos nutricionales en la expresión de varios genes humanos, proteínas y metabolitos [Korhonen et al. 2006]. Por ejemplo, la nutrigenética se concentra en polimorfismos de enzimas involucradas en el metabolismo de ácido fólico; mientras que la nutrigenómica se enfoca en el impacto de la concentración de esta misma sustancia sobre varios genes. Este documento tratará principalmente sobre la nutrigenómica, por lo que no considerará variaciones en la secuencia genética individual o de cada población.



Figura 4. Factores que interactúan con histonas modificadas.
 Responsables de la regulación epigenética de la transcripción a través del código de histonas [Adaptado de Margeron et al. 2005].

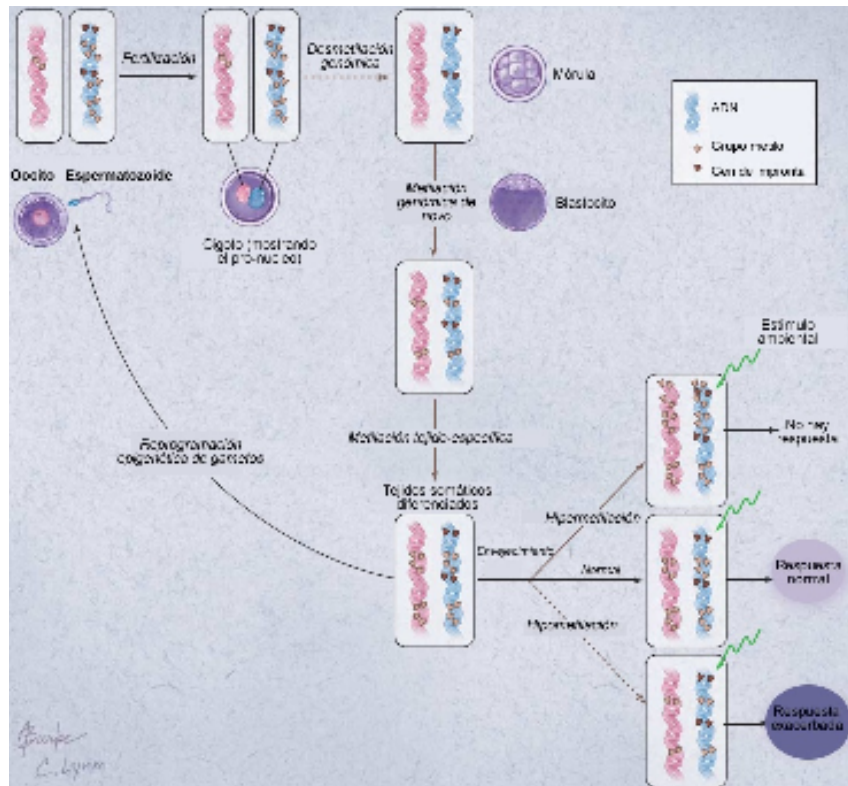


Figura 5. Ciclo de vida del epigenoma.

A diferencia de la secuencia de ADN, el código epigenético cambia durante la vida de individuo en forma específica para cada tipo celular. En la imagen se muestra un espermatozoide que se encuentra altamente metilado, y un óvulo que no lo está. Después de la fertilización, hay una ola de desmetilación que borra las marcas de impronta (café oscuro). Los patrones de metilación específicos de cada tejido emergen posteriormente, durante el desarrollo embrionario. El grado de metilación relacionado con la edad podría impedir o promover la sensibilidad del gen a señales ambientales [Adaptado de Feinberg 2008].

Cuando se analizan los diferentes estímulos ambientales y su influencia sobre mecanismos epigenéticos, es importante considerar que las marcas sobre el ADN y la cromatina constituyen el vínculo entre el genotipo y el fenotipo de un organismo [Feil 2006]. Por ejemplo, aunque todas las células de un mismo individuo comparten la misma secuencia de ADN, los diferentes tipos celulares que se encuentran en él se originan a partir de patrones de activación e inactivación genética específicos: dependiendo del tipo celular y la etapa del desarrollo, la cromatina cambia su conformación para activar genes o reprimirlos (Fig. 5). Esto también se puede apreciar entre organismos de la misma especie: aunque en esencia compartan la misma secuencia genética (p.e. ~99% variación en seres humanos), existen variaciones fenotípicas entre individuos [Vickaryous & Whitelaw 2005]. Por lo tanto, el *epigenotipo* determina qué genes se mantienen en determinado estado (silenciado/activado), y participa en la definición del fenotipo adquirido cuando el organismo nace.

Se ha observado que los factores intrínsecos y las condiciones ambientales, como las derivadas de la nutrición, pueden tener un impacto sobre los patrones de modificación epigenética que se mantengan a través de la vida del organismo (Tabla 1). Cuando se presentan efectos ambientales aberrantes, el epigenotipo puede verse alterado, y por lo tanto, el fenotipo también [Feil 2006].

Los estudios en roedores han aportado pistas importantes sobre la influencia nutricional sobre el epigenotipo (Fig. 6). Por ejemplo, un estudio que utilizó ratas alimentadas con una dieta baja en proteínas mostró una reducción de peso progresiva, durante doce generaciones, en el peso al nacer. Una vez que se reestableció una dieta balanceada, los valores de peso no regresaron a la normalidad hasta tres generaciones después [Stewart et al. 1975; Zamenhof et al. 1971]. Además de mostrar una disminución en el peso, las crías F2 expuestas a una dieta baja en proteínas mostraron variaciones en el contenido de ADN en los hemisferios cerebrales y una disminución en el peso de órganos [McLeod et al. 1972]. Además, las crías hembra F2 mostraron una presión arterial elevada, disfunción endotelial [Torrens et al. 2002] y una resistencia a la insulina incrementada [Zambrano et al. 2005a]. Los efectos observados se relacionan con estados patológicos, lo que infiere una influencia nutricional en características clínicas a nivel transgeneracional.

En poblaciones humanas se han reportado casos donde los abuelos pueden tener un impacto en el fenotipo de sus nietos sin una explicación basada en mutaciones genéticas, por lo que podrían tener un trasfondo epigenético [Lumey 1992; Vadlamudi et al. 1995; John & Surani 1999; Kaati et al. 2002; Pembrey 2002]. Un ejemplo es el efecto de la hambruna padecida en los Países Bajos a finales de la segunda guerra mundial (1944-1945) sobre su progenie y las generaciones posteriores.

Los hijos de las mujeres que estuvieron embarazadas durante este periodo de escasez fueron, como se esperaba, pequeños; sin embargo, los nietos de estas mujeres también fueron más pequeños que el promedio anteriormente registrado para esta población. Adicionalmente, las hijas de estas mujeres expuestas a restricción calórica y estrés psicológico durante el embarazo mostraron, además de bajo peso al nacer, mayor riesgo a desarrollar resistencia a la insulina [Stein & Lumey 2000; Painter et al. 2005].

Por lo tanto, las observaciones en humanos y roedores indican que las modificaciones epigenéticas no siempre son estables, y que pueden ser influenciadas por el ambiente y la ingesta nutricional. Cuando se desarrollan patrones epigenéticos aberrantes, pueden alterar la expresión genética y el fenotipo del organismo. Además se ha observado que estos efectos epigenéticos pueden ser transmitidos, en algunas ocasiones, a través de varias generaciones [Feil 2006].

Los seres vivos estamos expuestos permanentemente a factores alimenticios, por lo que es importante conocer más sobre las implicaciones que estos tienen sobre el organismo. Este documento pretende demostrar la plasticidad de la expresión genética y enfatizar que no necesariamente los genes determinan cómo seremos y de qué nos enfermaremos, sino que también el ambiente y el estilo de vida tienen una influencia importante sobre nuestras características y, posiblemente, las de las siguientes generaciones.

1.2 Objetivos

1.2.1 General

Realizar una revisión bibliográfica sobre el conocimiento actual del impacto de la epigenética en la salud de los seres humanos

1.2.2 Específicos

- Recopilar información que englobe los datos más trascendentes hasta el momento sobre:
 - Los mecanismos de modificación de ADN e histonas en mamíferos.
 - La implicación de los diferentes patrones epigenéticos en el desarrollo de diferentes enfermedades.
 - Los compuestos, de uso farmacológico y nutricional, conocidos hasta el momento con actividad sobre las marcas epigenéticas.
- Apoyar en la creación de una consciencia responsable sobre el impacto que tiene nuestro estilo de vida en la expresión genética y el desarrollo de la enfermedad.

1.3 Método

Revisión bibliográfica de artículos científicos y libros relacionados con el tema. Se revisaron alrededor de 1,600 artículos, de los cuales se seleccionaron alrededor de 940 referencias que tuvieran una relación directa con epigenética, técnicas de investigación, enfermedades complejas con trasfondo epigenético comprobable y compuestos químicos con actividad sobre el nivel de metilación del ADN y la modificación de histonas.

Inicialmente se leyeron revisiones y, a partir de éstas, se obtuvo bibliografía más específica que contribuyó a recalcar algunos aspectos del trabajo.

Agente ambiental	Mecanismos epigenéticos implicados	Genes afectados
Humo de tabaco	Unión preferencial de Hidrocarburos aromáticos policíclicos del tabaco a CpGs metilados	CDKN2A, MGMT
Níquel	Inhibición de acetilación de histonas, daño en histonas del centro nucleosomal	CDKN2A (gen p15), CDKN2B, MLH1
Radiación ionizante	Silenciación epigenética mediada por metilación de ADN de moduladores celulares clave	p16
Radiación UV	Hipometilación global del ADN	-
Bacteria (<i>Helicobacter pylori</i>)	Metilación <i>de novo</i> asociada con inflamación crónica y proliferación celular	-
Virus: Papiloma humano Epstein-Barr Hepatitis	Metilación del genoma vital, unión de proteínas virales a genes del huésped, hipermetilación de genes huésped, cambios en patrones de modificación de cromatina, reclutamiento de HDACs	-

Tabla 1. Factores ambientales y de estilo de vida, no relacionados con la dieta, con impacto sobre patrones epigenéticos [Adaptado de Herceg 2007].

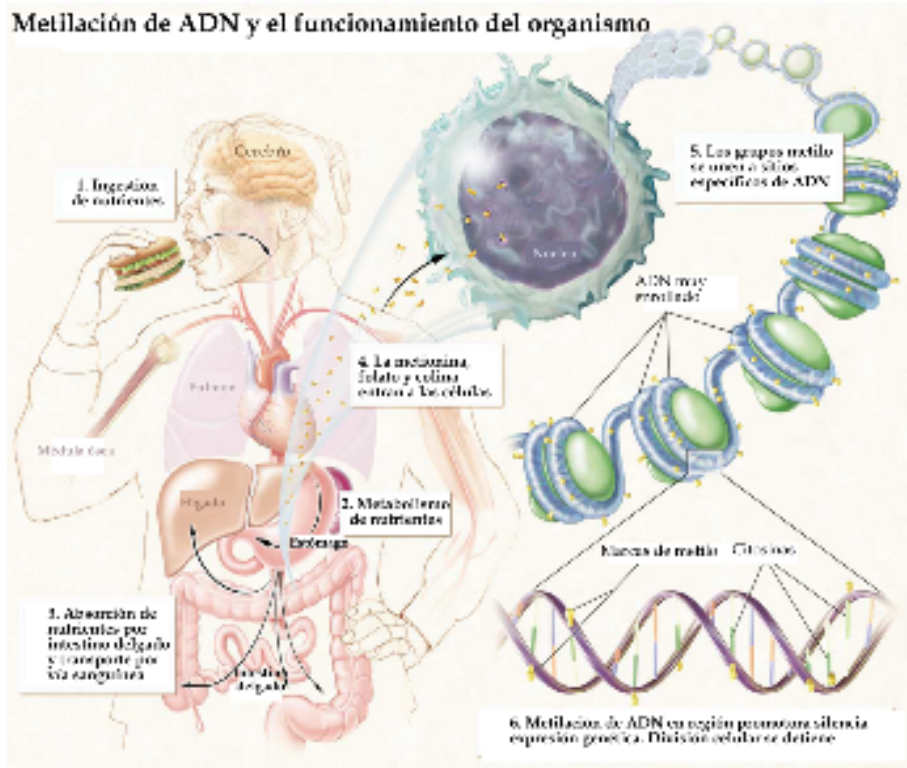


Figura 6. Factores alimenticios y su impacto en la modulación de la metilación de ADN [Adaptado de Trujillo et al. 2006].