

A FONDO

Epigenética en la era postgenoma

María José Barrero Núñez

Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona

La herencia ha sido motivo de reflexión para científicos y filósofos durante años. Aunque hoy sabemos que heredamos el material genético de nuestros padres, estudios generacionales que correlacionan la nutrición y la probabilidad de que la descendencia sufra ciertas patologías metabólicas sugieren que heredamos algo más. La epigenética (por encima del genoma) estudia aspectos que heredan nuestras células al dividirse y que pueden ser heredados incluso a través de las generaciones y que no conllevan cambios en la secuencia de ADN. Mientras que los cambios genéticos (mutaciones, inserciones, translocaciones, etc.) son irreversibles, los cambios epigenéticos son susceptibles de ser revertidos. Esta plasticidad nos ofrece la posibilidad de diseñar fármacos para moldear nuestro epigenoma. Actualmente algunos de estos fármacos ya se están utilizando para el tratamiento del cáncer y prometen ser una herramienta efectiva para el tratamiento de otras enfermedades en el futuro.

Introducción

Hace varias décadas que se conoce que el ADN situado en el núcleo celular no se encuentra desnudo sino que se empaqueta alrededor de proteínas llamadas histonas, para formar la cromatina. Desde un principio se asumió que el papel de las histonas era simplemente estructural y se ignoró la enorme repercusión que esta estructura tiene sobre la expresión de los genes. Durante los años 70 se realizaron los primeros experimentos *in vitro* en los cuales fue posible sintetizar ARN a partir de ADN (transcripción) mediante la enzima ARN Polimerasa II en un tubo de ensayo (Anthony Weil et al., 1979). Sin embargo, el ADN utilizado en estos experimentos de transcripción *in vitro* no estaba empaquetado alrededor de histonas y fue más tarde cuando se descubrió que la presencia de histonas ofrecía una barrera para el avance de la ARN Polimerasa II a través de los genes (Knezetic y Luse, 1986). De manera general, se asume que las zonas del genoma que están fuertemente asociadas a histonas y presentan una estructura compactada son de difícil acceso para la ARN Polimerasa II y otros factores de transcripción, y por tanto los genes embebidos en estas áreas no se expresan (**Fig. 1**). Otras zonas del genoma se asocian con las histonas de manera más laxa permitiendo el acceso de factores de transcripción y la expresión de los genes. ¿Cómo se regula la compactación o accesibilidad del genoma?

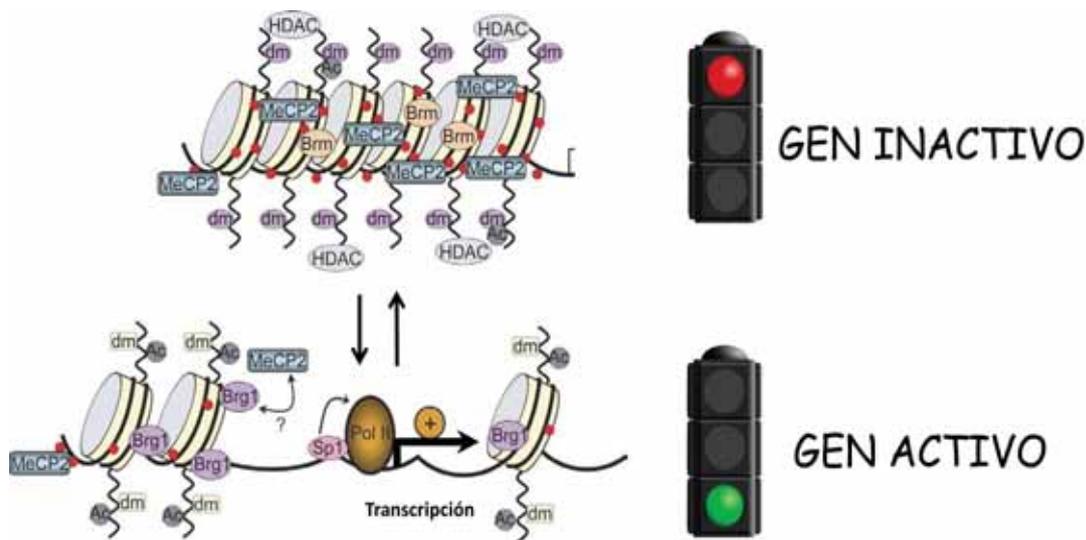


Figura 1. El grado de compactación de la cromatina determina la accesibilidad de factores de transcripción y la RNA Polimerasa II a los genes. Adaptado de Tsukiyama (2002).

Modificaciones de histonas

La asociación del ADN con las histonas es fundamental para su correcta organización dentro del núcleo celular y juega un papel clave en procesos como la reparación y replicación del ADN y el control de la expresión génica. El ADN se empaqueta alrededor de un octámero de histonas que contiene dos copias de cada histona H2A, H2B, H3 y H4. A las estructuras de ADN asociado a histonas se las denomina nucleosomas y se suceden aproximadamente cada 250 pares de bases (**Fig. 2**). A pesar de formar una estructura compacta, los extremos N-terminales de las histonas son relativamente accesibles y pueden ser modificados mediante acetilación, metilación, ubiquitinación, etc. Estas modificaciones las llevan a cabo enzimas especializadas, capaces de reconocer los extremos N-terminales de las histonas. De manera similar, las modificaciones pueden ser eliminadas de forma activa por otras enzimas haciendo que el proceso sea dinámico y reversible. Si tenemos en cuenta que las colas de histonas cuentan con decenas de residuos susceptibles de ser modificados de diferentes maneras, que cada nucleosoma cuenta con ocho histonas y que cada 250 pares de bases encontramos un nucleosoma, aparentemente las posibles combinaciones a lo largo del genoma son innumerables. Sin embargo, hay ciertas modificaciones de histonas que tienden a localizarse juntas en el genoma así como otras que raramente coinciden. Algunas de ellas, como la acetilación, se encuentran en genes que se expresan activamente, mientras que otras solo se encuentran en genes

reprimidos. Estos hechos han llevado a postular la hipótesis del “Código de Histonas” (Jenuwein y Allis, 2001) en el que la co-presencia de ciertas modificaciones nos puede ayudar a predecir el estado de expresión de los genes y la susceptibilidad de ciertos genes a ser activados o reprimidos por un determinado tratamiento. Además, las modificaciones de histonas también se utilizan para mapear la presencia de ciertos elementos funcionales del genoma, tales como exones, intrones, inicios de transcripción y “enhancers” (Heintzman et al., 2009).

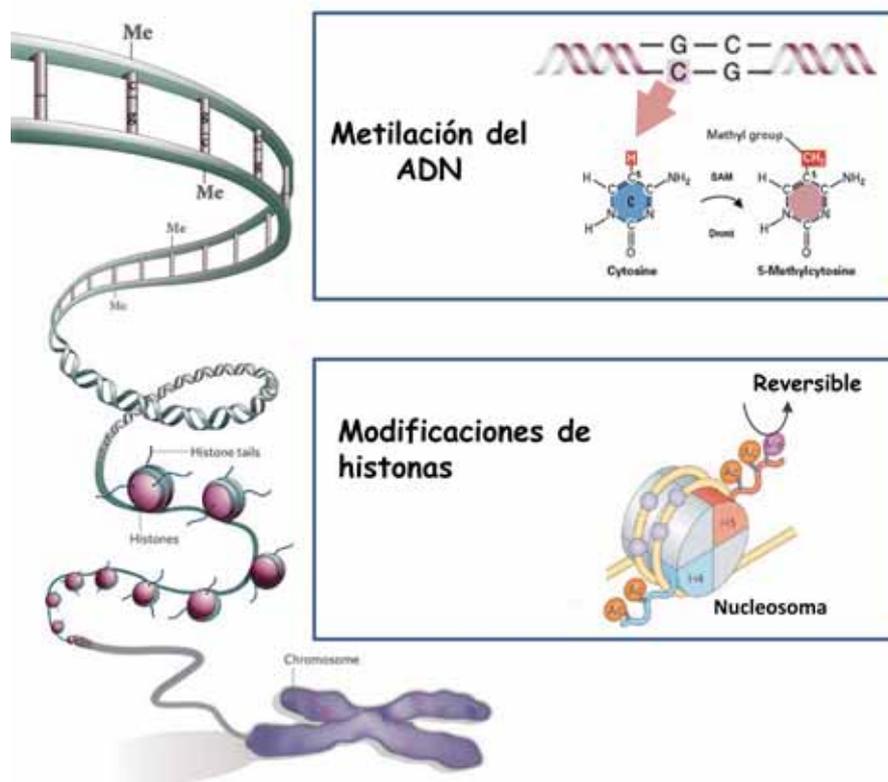


Figura 2. Los dos componentes principales del código epigenético. Adaptado de Qiu (2006).

Metilación del ADN

El DNA es susceptible de ser modificado químicamente mediante la metilación de citosinas (**Fig. 2**). Los residuos citosina susceptibles de ser metilados suelen estar seguidos de residuos guanina. La presencia de ADN metilado en las regiones reguladoras de los genes suele correlacionarse con represión transcripcional. Se conocen varias enzimas metiltransferasas de ADN capaces de transferir residuos metilo a los residuos citosinas. La metilación del ADN es reversible,

pero la existencia de enzimas capaces de demetilar los residuos citosina metilados es controvertida. Opuestamente, la metilación podría perderse de manera pasiva al replicarse el ADN durante la división celular.

La metilación del ADN juega un papel clave en el desarrollo embrionario. Tras la fecundación se suceden fenómenos de demetilación del ADN seguidos de remetilación. Este proceso permite establecer los patrones de metilación adecuados implicados en la inactivación del cromosoma X en las hembras, el silenciamiento de genes con impronta materna o paterna y el silenciamiento de genes tejido específicos.

Mapas epigenéticos

Hace prácticamente una década que el proyecto Genoma Humano nos desveló la secuencia de nuestro ADN. Nos enfrentamos ahora a la ardua tarea de entender su funcionalidad. Las tecnologías recientes como los chips de ADN o la ultrasecuenciación permiten abarcar todo el genoma y elaborar mapas globales precisos de las modificaciones epigenéticas. Teniendo en cuenta los numerosos residuos de los extremos de las colas de histonas que pueden ser modificados, sumado a la potencial presencia de ADN metilado y al hecho de que estas modificaciones son plásticas, modulables por factores externos y específicas para cada tipo celular, la elaboración e interpretación de estos mapas no es tarea fácil. Iniciativas como el proyecto ENCODE (Enciclopedia de Elementos del ADN) reúnen equipos de investigación de todo el mundo con el fin de integrar la información procedente de esos mapas e inferir la funcionalidad de los elementos del genoma.

Los mapas epigenéticos, además de aportar información básica sobre nuestro genoma, pueden ser valiosos para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades. Un ejemplo es el diagnóstico de cánceres de origen primario desconocido, en los que el paciente presenta tumores en diferentes órganos siendo difícil determinar cuál es el tumor de origen y cuáles corresponden a metástasis. Este tipo de cáncer tiene mal pronóstico debido a la imposibilidad de tratar el tumor principal. Cada tipo celular tiene un patrón de metilación del ADN muy particular que lo hace claramente distinguible de otros tipos celulares o tejidos. Aunque este patrón se altera con el cáncer, la mayoría de tumores metastáticos todavía conservan memoria del patrón del tejido de origen haciendo posible determinar con alta probabilidad el tejido u órgano que alberga el tumor principal (Fernández et al., 2012). En este caso, los patrones globales de metilación del ADN actúan a modo de código de barras que nos permite identificar la procedencia de las células tumorales. En otros casos, los mapas epigenéticos nos

pueden aportar información respecto a la plasticidad del genoma del paciente y la probabilidad de que responda al uso de un fármaco u otro, haciéndose así posible la medicina personalizada.

Escritores, borradores, lectores y efectores

Las modificaciones de histonas o del ADN por si solas raramente llevan a cambios estructurales importantes capaces de alterar el grado de empaquetamiento o compactación de la cromatina. Únicamente la acetilación de histonas introduce una carga positiva en el nucleosoma que causa cierta relajación de la cromatina. ¿Cuál es entonces el papel de estas modificaciones? ¿Qué función tiene este complejo código? Los residuos modificados pueden ser identificados por proteínas o complejos proteicos que son atraídos a ciertas zonas del genoma para realizar su función. En muchos casos estos complejos proteicos son capaces de alterar la compactación del ADN e incluso promover la movilización de las histonas para potenciar la compactación o la relajación de la cromatina.

En definitiva nos encontramos ante un código complejo que es escrito por las enzimas modificadoras de histonas o del ADN, que es susceptible de ser borrado por otras enzimas y que finalmente es leído por proteínas capaces de reconocer el código y de atraer complejos efectores capaces de compactar o relajar la cromatina (**Fig. 3**).

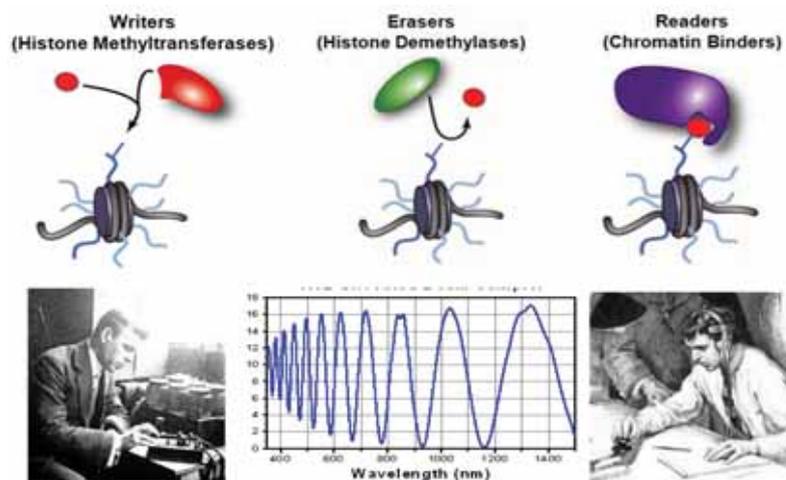


Figura 3. Interpretación del código epigenético. Las modificaciones son insertadas o borradas por los escritores o los borradores y el código es finalmente leído por los lectores. Los tres tipos de proteínas son susceptibles de ser inhibidas por moléculas sintéticas diseñadas con el fin de modular el epigenoma y tratar enfermedades. Adaptado de Constellation Pharmaceuticals <http://www.constellationpharma.com>.

Fármacos para modular el epigenoma

Conocer la estructura de las enzimas que catalizan las modificaciones de las histonas o el ADN, así como de las proteínas capaces de reconocer estas modificaciones, nos permite el diseño de moléculas sintéticas capaces de modular su actividad. En la actualidad se utilizan fármacos que inhiben la actividad de ciertas metiltransferasas de ADN (5-azacitidina) y deacetilasas de histona (ácido valproico) para el tratamiento del cáncer, en especial los que afectan al sistema sanguíneo. Estos fármacos potencian la reactivación de genes que han sido silenciados de manera aberrante, tales como los genes supresores de tumores.

De manera todavía experimental, y gracias a los avances en el conocimiento de la estructura de las proteínas, hoy en día es posible diseñar moléculas específicas que inhiben el reconocimiento de las histonas modificadas por los lectores. Un ejemplo es la molécula JQ1 capaz de inhibir los dominios BET (Bromodomain and Extra Terminal) que reconocen histonas acetiladas, y que se ha demostrado efectiva en el tratamiento de leucemias en animales de experimentación (Filippakopoulos et al., 2010). Si además las proteínas diana están presentes solo en ciertos tejidos, podemos limitar la acción de los fármacos específicamente a estos tejidos. Este es el caso del lector de histonas acetiladas BRDT (Bromodomain Testis-specific), que se expresa únicamente en testículo, y cuya inhibición mediante el uso de moléculas específicas previene la fertilidad en ratones de manera completa y reversible (Matzuk et al., 2012).

Perspectiva

La ciencia de la epigenética nos desvela que lo que somos no es solo el resultado de nuestros genes, sino que existe la posibilidad de modularlos. Los factores externos como la nutrición y nuestro estilo de vida pueden condicionar nuestro epigenoma y el de nuestra descendencia. Además, el estudio de los factores que lo regulan nos permite el diseño de fármacos específicos capaces de modularlo, y que se han demostrado útiles para el tratamiento del cáncer. Finalmente, la elaboración de mapas epigenéticos nos permitirá el avance hacia la medicina personalizada.

Bibliografía

- Fernández, A.F., et al. 2012. A DNA methylation fingerprint of 1628 human samples. *Genome Research*. 22:407-419.
- Filippakopoulos, P. et al. 2010. Selective inhibition of BET bromodomains. *Nature*. 468:1067-1073.

- Heintzman, N.D. et al. 2009. Histone modifications at human enhancers reflect global cell-type-specific gene expression. *Nature*. 459:108-112.
- Jenuwein, T. y Allis, C.D. 2001. Translating the histone code. *Science*. 293:1074-1080.
- Knezetic, J. A. y Luse, D. S. 1986. The presence of nucleosomes on a DNA-template prevents initiation by RNA polymerase-II. *In vitro Cell*. 45:95-104.
- Matzuk, M.M. et al. 2012. Small-molecule inhibition of BRDT for male contraception. *Cell*. 150:673-684.
- Qiu, J. 2006. Epigenetics: Unfinished symphony. *Nature*. 441:143-145.
- Tsukiyama, T. 2002. The in vivo functions of ATP-dependent chromatin-remodelling factors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 3:422-429.
- Weil, P.A., Luse, D.S., Segall, J. y Roeder, R.G. 1979. Selective and accurate initiation of transcription at the AD2 major late promotor in a soluble system dependent on purified RNA polymerase-II and DNA. *Cell*. 18:469-484.



La Dra. María José Barrero se licenció en Biología en la Universidad de Barcelona. Sus estudios han abarcado diversos aspectos de la expresión génica y en especial se han centrado en los mecanismos de regulación transcripcional mediada por receptores nucleares. Realizó su tesis doctoral en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona. Su trabajo, se centró en el estudio de la regulación de la expresión de genes implicados en el metabolismo de los ácidos grasos y la cetogénesis.

En el 2003 se incorporó al grupo de investigación del Dr. Robert G. Roeder en la Rockefeller University de Nueva York, donde disfrutó de una beca postdoctoral Fulbright para estudiar el papel de diversos coactivadores en la transcripción mediada por el receptor de hormona tiroidea. Seguidamente trabajó con el Dr. Sohail Malik y recibió una beca postdoctoral de la Rockefeller University Woman and Science.

En el 2007 la Dra. Barrero se incorporó al Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona como investigador Ramón y Cajal. Su investigación se centra en el papel de las enzimas modificadoras de histonas en la pluripotencia y la diferenciación de las células madre y en la reprogramación de células somáticas a pluripotencia.