



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

LA EPIGENÉTICA EN LA REGULACIÓN DE LA
EXPRESIÓN GÉNICA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

VICTOR HUGO SALINAS COLIN

ASESOR: DR. RICARDO VICTOR SANTIAGO DÍAZ



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.

ASUNTO: **VOTO APROBATORIO**

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**



**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **TESIS**

La epigenética en la regulación de la expresión génica

Que presenta el pasante: **Victor Hugo Salinas Colin**

Con número de cuenta: **406059929** para obtener el Título de: **Químico Farmacéutico Biólogo**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 13 de noviembre de 2012.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Ricardo V. Santiago Díaz	
VOCAL	MC. Francisco López Mejía	
SECRETARIO	QFB. Martha Patricia Zúñiga Cruz	
1er SUPLENTE	QFB. Rosalba Bonilla Sánchez	
2do SUPLENTE	Dr. Salvador Fonseca Coronado	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
HHA/pm



AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme vivir ésta gran experiencia y lograr concluir una carrera.

A mis padres por el apoyo incondicional que me brindaron durante el transcurso de esta etapa.

A mis hermanos, Daniel S. C. y Jorge S. C., por su grata compañía, por su ayuda en momentos difíciles de mi vida.

Al Dr. Ricardo Victor Santiago Díaz por el apoyo y la confianza que me brindó para la realización de esta tesis y así culminar ésta, para alcanzar una meta.

A Roberto M., Roberto C., y Nancy A., por haberme dado la oportunidad de conocerlos, por su amistad, por su grata compañía y por todos los buenos momentos que pasamos juntos durante el transcurso de la carrera en la FESC.

A mis compañeros de la FES Cuautitlán, por compartir gratos momentos dentro y fuera de las aulas de ésta gran universidad.

A mis sinodales quienes se dieron a la tarea de revisar este trabajo de tesis, por aportar su valiosa opinión para la mejora de éste.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por haberme abierto las puertas de sus aulas, por darme el privilegio y el orgullo de pertenecer y haber estudiado en ella una carrera.

A los profesores que me formaron como profesionista, por su dedicación, compromiso y empeño al compartir su conocimiento.



DEDICATORIA

A Dios por la enorme bendición de haberme permitido estudiar una carrera en esta gran universidad, la Universidad Nacional Autónoma de México, de la cual me siento muy orgulloso.

A mis padres, Rufina Amalia Colín Ibarra y Pedro Emiliano Salinas Ruíz por apoyarme y animarme en todo momento, por sus consejos, por su paciencia, por creer en mí y que gracias a eso logre disfrutar y transcurrir tranquilamente durante toda mi carrera y así terminar con esta etapa de mi vida.



Epigenética

Índice

Índice de Figuras.....	VIII
Índice de tablas	X
Abreviaturas	XI
INTRODUCCIÓN.....	2
OBJETIVOS.....	4
GENERAL:	4
PARTICULARES:.....	4
1. HISTORIA	5
2. LA EPIGENÉTICA EN LA ACTUALIDAD Y SU CONCEPTUALIZACIÓN	7
3. ORGANIZACIÓN DE LA CROMATINA.....	9
3.1. EMPAQUETAMIENTO DEL DNA.....	9
4. MARCAS EPIGENÉTICAS	13
5. MECANISMOS EPIGENÉTICOS.....	14
6. METILACIÓN DEL DNA EN EUCARIOTAS (MAMÍFEROS)	15
6.1. METILACIÓN DE LA CITOSINA DEL DNA MEDIANTE DNA METILTRANSFERASAS.....	17
6.2. MECANISMO CATALÍTICO DE LA METILACIÓN.....	18
6.3. ISLAS CpG.....	19
6.4. MANTENIMIENTO DE LA METILACIÓN	19
6.5. MAQUINARIA ENZIMÁTICA DE LA METILACIÓN DEL DNA	20
7. SILENCIAMIENTO O INACTIVACIÓN DE GENES MEDIANTE METILACIÓN DEL DNA.....	21
8. HIPERMETILACIÓN E HIPOMETILACIÓN.....	24
9. DESMETILACIÓN	24
9.1. DESMETILACIÓN MEDIANTE MECANISMOS PASIVOS Y ACTIVOS	24
9.1.1. <i>Proteínas TET</i>	26
9.1.2. <i>Proteínas AID/APOBEC</i>	26
9.1.3. <i>Proteínas BER glicosilasas</i>	27



Epigenética

10. MODIFICACIÓN DE HISTONAS	29
10.1. METILACIÓN DE HISTONAS	30
10.1.1. Enzimas con dominio SET: Proteínas Trithorax y Polycomb	30
10.1.2. Metilación	30
10.1.3. Maquinaria enzimática de la metilación de histonas	34
11. ACTIVACIÓN TRANSCRIPCIONAL MEDIANTE LA METILACIÓN DE LA LISINA EN HISTONAS	35
12. SILENCIAMIENTO O REPRESIÓN TRANSCRIPCIONAL MEDIANTE LA METILACIÓN DE LA LISINA EN HISTONAS	38
13. DESMETILACIÓN DE HISTONAS	38
14. ACETILACIÓN DE HISTONAS	43
14.1. MAQUINARIA ENZIMÁTICA DE LA ACETILACIÓN DE HISTONAS	44
14.1.2. Histona acetiltransferasas (HATs)	44
14.1.3. Histona desacetilasas (HDACs)	44
14.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA ACETILACIÓN DE HISTONAS (ACTIVACIÓN)	45
14.3. SILENCIAMIENTO POR DESACETILACIÓN DE HISTONAS	46
15. REMODELACIÓN DE NUCLEOSOMAS Y/O CROMATINA.....	48
16. CROSSTALK EN LAS MODIFICACIONES DE LAS HISTONAS	51
17. IDENTIDAD CELULAR.....	54
18. REPROGRAMACIÓN EPIGENÉTICA EN CÉLULAS GERMINALES PRIMORDIALES (PGCS).....	55
19. RNA DE INTERFERENCIA (RNAi).....	57
19.1. RNA NO CODIFICANTE EN LA REGULACIÓN EPIGENÉTICA	57
19.1.1. RNA no codificante (ncRNA).....	57
19.1.2. RNA de interferencia (RNAi).....	59
19.1.2.1. RNAi en invertebrados	59
19.1.2.2. RNAi en mamíferos	59
19.1.2.3. RNAi en la metilación de histonas	62
20. EL AMBIENTE Y LA EPIGENÉTICA	63
20.1. INFLUENCIA DEL AMBIENTE EN LA EPIGENÉTICA.....	63
21. EL CÁNCER Y LA EPIGENÉTICA.....	64



Epigenética

22. LA EPIGENÉTICA Y LA PREVENCIÓN DEL CÁNCER.....	66
22.1. DROGAS SINTÉTICAS	67
22.1.1. <i>Inhibidores de la metilación del DNA</i>	67
22.1.2. <i>Inhibidores de la HDAC</i>	69
CONCLUSIONES	71
REFERENCIAS	73
REFERENCIAS DE FIGURAS	84
REFERENCIA DE TABLAS	86



Epigenética

Índice de Figuras

Figura 1. Organización de la cromatina.	11
Figura 2. Modificaciones postraduccionales en las histonas.	12
Figura 3. Diferentes tipos de información epigenética.	15
Figura 4. Representación esquemática del metiloma del DNA de mamíferos.	17
Figura 5. Representación esquemática de la vía de reacción basada en el mecanismo propuesto por Wu y santi (1985).	19
Figura 6. Mecanismos para el silenciamiento de genes.	23
Figura 7. Vías de desmetilación del DNA.	25
Figura 8. Un modelo de las funciones de Tet1 en la regulación de la metilación CpG en la eucromatina.	27
Figura 9. Representación esquemática de un nucleosoma y modificaciones de histonas.	29
Figura 10. Las principales marcas de metilación de la lisina.	31
Figura 11. Sitios y estructura de los residuos metilados en los extremos N-terminales de las histonas.	33
Figura 12. La maquinaria enzimática conocida implicada en la metilación de residuos de lisina, arginina y ubiquitinación de los residuos de histonas.	35
Figura 13. Interacción entre la monoubiquitinación de la histona H2B y la metilación de H3.	37
Figura 14. Estructura de LSD1 y CoREST.	39
Figura 15. Mecanismos de desmetilación de lisina por las proteínas LSD1 y JMJC.	40
Figura 16. Complejos de histona desmetilasa.	42
Figura 17. Especificidad de sustrato de histona desmetilasa descrita hasta la fecha.	43
Figura 18. Acetilación de histonas.	46
Figura 19. Desacetilación mediante HDACs reclutadas por MBDs.	47
Figura 20. Características de un dominio de cromatina.	49
Figura 21. Generación de una región libre de nucleosomas a través de la acetilación secuencial de histonas y desplazamiento de histonas.	50
Figura 22. Ejemplo de crosstalk de histonas.	52
Figura 23. Crossregulación entre las modificaciones de histonas.	53



Epigenética

Figura 24. Las dos fases principales de borrado de la metilación en embriones tempranos y en células germinales primordiales del ratón.	56
Figura 25. Los ncRNAs que regulan la estructura de la cromatina.	58
Figura 26. Silenciamiento por ncRNA.....	58
Figura 27. La vía de biogénesis del miRNA.	61
Figura 28. La metilación de citosina por las DNMTs y la inhibición de la metilación con 5-azacitidina.....	69



Índice de tablas

Tabla 1.....	8
Tabla 2.....	28
Tabla 3.....	36
Tabla 4.....	48
Tabla 5.....	65
Tabla 6.....	68



Epigenética

Abreviaturas

5hmC: 5-hidroximetilcitosina

5mC: 5-metilcitosina

5-mdC: 5-metildeoxicitidina

AdoMet: S-adenosil-L-metionina o SAM

AID: Citidina desaminasa inducida por activación (del inglés *Activation-induced cytidine deaminase*)

APOBEC: Apolipoproteína B mRNA edición de polipéptidos catalíticos (del inglés *apolipoprotein B mRNA-editing enzyme, catalitic polypeptide-like*)

BER: Reparación por escisión de base (del inglés *Base excision repair*)

CGI: Islas CpG (del inglés *islands CpG*)

ChiP: Inmunoprecipitación de cromatina (del inglés *Chromatin immunoprecipitation*)

CoREST: Factor de silenciamiento de transcripción RE1 (del inglés *Corepressor for RE1 silencing transcription factor*)

CpG: Dinucleótido CpG (citosina unida mediante fosfato a guanina)

DNMTs: DNA metiltransferasas

DNMT1: DNA metiltransferasa de mantenimiento

DNMTA: DNA metiltransferasa 3A (metiltransferasa *de novo*)

DNMTB: DNA metiltransferasa 3B (metiltransferasa *de novo*)

E(z): Enhancer de zeste

ES: Células madre

ESCs: Células madre embrionarias pluripotentes

H3K4: Histona 3, Lisina 4

H3K4me3: Trimetilación de la histona H3 en lisina (K) 4

H3K56ac: Acetilación de la histona H3 en lisina (K) 56



Epigenética

H3K9: Histona 3, Lisina 9

H3K9ac: Acetilación de la histona H3 en lisina (K) 9

H3K9me3: Trimetilación de la histona H3 en lisina (K) 9

HATs: Histona acetiltransferasas

HDACs: Histona desacetilasas

JMJ2A: Proteína 2 A con dominio Jumonji (del inglés *Jumonji domain protein 2A*)

LSD1: Desmetilasa 1 específica de lisina (K) o KMD1A. (del inglés *Lysine-specific demethylase 1*)

m5CMTasa: Citosina-5-metiltransferasa

MBD: Proteína con dominio de unión a metil (del inglés *Methyl binding domain*)

MBPs: Proteína de unión a metil-CpG (del inglés *Methyl-CpG-binding domain protein*)

MTasa: Metiltransferasa

ncRNA: RNA no codificante

NOG: *N*-oxalilglicina

PcG: Cuerpos del grupo polycomb

PCNA: Antígeno nuclear de células en proliferación (del inglés *Proliferating cell nuclear antigen*)

PGCs: Células germinales primordiales (del inglés *Primordial germ cells*)

PRC2: Complejo 2 represivo polycomb (del inglés *Polycomb repressive complex 2*)

PTMs: Modificaciones postraduccionales (del inglés *Post-translational modifications*)

RISC: Complejo de silenciamiento inducido por RNA (del inglés *RNA-induced silencing complex*)

RNAi: RNA interferente

SAM: S-adenosilmetionina

SET: Su(var)3-9 de *Drosophila*, Enhancer de Zeste [E(z)], Trithorax (del inglés *Drosophila proteins Su(var) 3-9, Enhancer of zeste [E(z)], Trithorax*)



Epigenética

SMUG1: Uracil DNA glicosilasa 1 de una hebra selectiva monofuncional (del inglés *single-strand-selective monofunctional uracil-DNA glycoylase 1*)

SWI/SNF: Complejo remodelador de cromatina switch/sacarosa no fermentable (del inglés *Switch defective/sucrose nonfermentor*)

TDG: Timidina DNA glicosilasa

TEs: Elementos transponibles

TET: Translocación diez-once (del inglés *Ten-eleven translocation*)

TRD: Dominio de represión transcripcional (del inglés *Trnascriptional repression domain*)

TRX: Trithorax

TSA: Tricostatin A

UDG: Uracil DNA glicosilasa

UHRF1: del inglés *Ubiquitin-like containing PHD and RING finger domains 1*



Epigenética

RESUMEN

El presente trabajo de tesis es una revisión general sobre los aspectos básicos de algunos mecanismos de la regulación epigenética, donde previamente también se incluyen aspectos históricos.

Aunque la epigenética es un campo relativamente reciente, la idea fue propuesta por Aristóteles con la denominación epigénesis. Con base en este término, tiempo después (1939) Conrad H. Waddington acuña el término “epigenética”, definiéndola como las interacciones causales entre los genes y sus productos que dan lugar al fenotipo, después el término se ha redefinido según los avances tecnológicos en biología molecular.

En los últimos años, gracias al avance de la biología molecular, la epigenética, ha alcanzando una gran relevancia en la investigación, proporcionando así información que relaciona a la epigenética con algunas patologías ya que regula la actividad génica silenciando o activando ciertos genes, dando lugar a algunas enfermedades dentro de las cuales se encuentran ciertos tipos de cánceres, diabetes, esclerosis múltiple, entre otras; también se relaciona con eventos tales como la diferenciación y reprogramación celular.

Dentro de los mecanismos que se abordan de forma generalizada en esta tesis se encuentran la metilación del DNA, metilación y acetilación de las histonas y de manera breve RNAi. Aunque no son los únicos mecanismos que participan en las modificaciones epigenéticas, la metilación del DNA es la principal marca epigenética estudiada.

Los mecanismos antes mencionados están implicados en procesos tales como el silenciamiento o inactivación y la activación transcripcional de ciertos genes.

El ambiente es un factor estrechamente viculado con la epigenética, ya que afecta al epigenoma e influye en las enfermedades, por ejemplo en el cáncer (cáncer colorrectal, cáncer de mama, entre otros), para las cuales se utilizan inhibidores de la metilación e inhibidores HDAC que ejercen actividades terapéuticas, de este modo utilizando este conocimiento de la regulación epigenética para generar tales terapias farmacológicas.



Epigenética

INTRODUCCIÓN

El campo de la epigenética ha sido testigo de una explosión reciente en nuestro conocimiento sobre la importancia de los mecanismos epigenéticos que se avanza en este campo a la vanguardia de la investigación biomédica¹²³.

El término epigenética hace referencia a los mecanismos moleculares que establecen y mantienen patrones mitóticamente de la expresión génica⁶⁸, sin que se produzcan modificaciones en la estructura de la secuencia de DNA. Estos incluyen la metilación de la citosina en dinucleótidos CpG del DNA, modificaciones de la cromatina (metilación o acetilación de histonas), o el RNAi entre otros^{73,76}.

La misión de los procesos epigenéticos es, en general, la regulación de la expresión de los genes⁷³. Una desregulación de los estados epigenéticos está íntimamente ligada a las enfermedades humanas, especialmente el cáncer¹⁰⁵. Por lo tanto, los eventos epigenéticos son decisivos en el control tanto de eventos celulares como eventos asociados con el desarrollo del cáncer y esenciales en la protección contra los genomas virales, y parecen ser críticos para la integración de las señales endógenas y ambientales durante la vida de una célula o un organismo¹²³. Así por ejemplo, a pesar de que tienen genomas idénticos en esencia, los diferentes tipos de células en un organismo multicelular mantienen comportamientos muy diferentes que persisten durante largos períodos⁷⁸, siendo los procesos epigenéticos los que controlan la expresión diferencial de los genes en los distintos tipos celulares⁷³.

Para lograr tal regulación o control en la expresión génica se requiere que el DNA que constituye nuestro genoma sea funcional y accesible para la maquinaria de transcripción, pero también debe estar protegido y empaquetado en un espacio muy pequeño en el núcleo de nuestras células. Para lograr tan dinámico empaquetado de la información genómica¹⁰⁸ de una célula que está codificada en el DNA, éste es empaquetado en torno a un octámero de histonas dentro del núcleo (proteínas histonas: H2A, H2B, H3, H4 y una proteína H1 enlazadora que son los componentes del nucleosoma), formando una estructura dinámica



Epigenética

conocida como cromatina^{35,84,108,135}. La estructura de la cromatina define el estado en que la información genética está organizada en la célula⁷⁷.

El empaquetamiento del DNA no sólo sirve para restringir el genoma dentro del núcleo, sino también para codificar información sobre el estado de actividad del gen. El empaquetamiento limita la accesibilidad de muchos elementos reguladores de secuencia del DNA y es funcionalmente importante en el control de la transcripción⁴³.

Cuando la cromatina se condensa, los nucleosomas se juntan comprimiendo al DNA, lo cual provoca una situación estructural del DNA en la que no se puede realizar la transcripción de genes. Por el contrario, cuando se requiere la transcripción de un gen, la cromatina de esa zona se relaja^{73,96} separando los nucleosomas, lo que permite la entrada de los factores de transcripción, activando funcionalmente al gen y así permitiendo su transcripción⁷³. La acetilación de histonas contribuye a la formación de un entorno transcripcionalmente competente para abrir la cromatina y de este modo permitir a los factores de transcripción acceder al DNA. Por el contrario, la desacetilación de histonas contribuye a un estado cerrado de la cromatina y a una represión transcripcional²³.

El silenciamiento de genes mediado por la epigenética se puede dividir generalmente en tres procesos relacionados: la metilación del DNA, la remodelación de la cromatina y/o la modificación de las histonas. La modificación mejor caracterizada y estudiada es la metilación del DNA especialmente en regiones promotoras de genes que regulan las funciones celulares importantes. Un paso crítico en la metilación del DNA implica a las DNA metiltransferasas (DNMTs)⁵⁵ DNMT1, DNMT3a y DNMT3b^{75,90}.

Las modificaciones químicas del DNA y de sus proteínas asociadas a la cromatina, son marcas epigenéticas³⁸ y una vez que los patrones de estas marcas epigenéticas (p.ej., la metilación del DNA y la acetilación de histonas) han sido establecidas, se propagan de forma autónoma y estable durante muchas generaciones de células, lo cual resulta en una herencia epigenética. La alteración de una de estas dos marcas epigenéticas, inevitablemente, afecta a la otra^{105,123}.



OBJETIVOS

GENERAL:

Recopilar información para aportar una fuente de consulta, que permita a los alumnos del área de ciencias biológicas tener acceso a información actualizada, sobre los aspectos básicos de la epigenética mediante una revisión hemerográfica de prestigio internacional.

PARTICULARES:

- Revisar aspectos históricos sobre la epigenética y su conceptualización, para conocer la evolución y/o progreso del concepto de epigenética.
- Describir dentro de otros mecanismos epigenéticos existentes que regulan la expresión génica, los siguientes:
 - Metilación del DNA
 - Metilación de histonas
 - De manera breve algunos aspectos del RNAi en la epigenética.
- Revisar brevemente las interacciones del ambiente, la epigenética y su influencia y/o relación en los organismos, para poder entender como afecta a tal relación.



Epigenética

1. HISTORIA

La epigenética es un campo relativamente reciente de la biología que en la última década, ha adquirido una notable relevancia, sin embargo su idea de base es muy antigua, ya que fue propuesta por Aristóteles bajo la denominación de epigénesis, en oposición a la concepción biológica preformacionista de Demócrito⁹⁵.

Siglos después, William Harvey (1651), refiriéndose a la generación de animales ovíparos y vivíparos, postuló que en el proceso embriológico las diferentes partes de los animales superiores se formaban consecutivamente mediante un proceso que denominó “epigénesis”, rescatando el término aristotélico. Posteriormente, Kaspar Friedrich Wolff, en su obra “Theoria Generations” (1759), recupera la teoría de la epigénesis defendida por Aristóteles y William Harvey, postulando que los órganos de un ser viviente no estaban preformados en el óvulo y que el embrión se formaba a partir de un fluido homogéneo, una materia indiferenciada que iría adquiriendo forma. En esta línea de pensamiento, hace casi siete décadas, Waddington adoptó el término epigenotipo para representar la complejidad subyacente en las interacciones entre los genes, los productos del gen y el ambiente, que llevan del genotipo al fenotipo^{34,95}.

Conrad Hal Waddington (1905-1975) fue quien acuñó el término “epigenética” de la fusión de las palabras “epigénesis” y “la genética”¹⁸, “epigénesis”, una teoría general primero articulada por Aristóteles para⁵³ explicar los mecanismos por los cuales la información genética es selectivamente utilizada como diferenciador de células en funciones más especializadas²¹. A mediados de 1960, Waddington escribió: “Hace algunos años [es decir, 1947], yo introduje la palabra “epigenética” derivada de la palabra Aristotélica “epigénesis”, que había pasado más o menos en desuso, como un nombre adecuado para la rama de la biología que estudia las interacciones causales entre los genes y sus productos que dan lugar al fenotipo de ser. La teoría aristotélica de la epigénesis hace hincapié en que los cambios evolutivos son graduales y cualitativos. “Epi” significa “sobre o encima” y la parte genética implica que los genes están involucrados, por lo que el término refleja la necesidad de estudiar los eventos “sobre”, o más allá, del gen¹⁸. Waddington (Waddington,



Epigenética

1942) ofrece una definición general de epigenética (por supuesto, los mecanismos eran prácticamente desconocidos en ese tiempo), y relaciona el campo de la epigenética con la biología del desarrollo, evolución, ecología y, por supuesto, genética^{39,53}. El término epigenética, Waddington, la definió como “*el estudio de todos los eventos que llevan al desenvolvimiento del programa genético del desarrollo*” o el complejo “*proceso de desarrollo que media entre genotipo y fenotipo*”⁸.

Antes del surgimiento de la epigenética, la relación genes-ambiente era explicado bajo la visión de un “determinismo genético”. Ambas concepciones, epigenética y determinismo genético, tienen sus ancestros en los conceptos de epigénesis y preformismo que surgieron en los siglos XVII y XIX. Posteriormente, prevaleció la concepción de que tanto el desarrollo como el fenotipo estaban definidos casi exclusivamente por los genes. A comienzos del siglo XX la genética era considerada la ciencia de la herencia y la embriología la del desarrollo. Waddington trató de demostrar que ambas disciplinas estaban estrechamente ligadas entre sí y con la evolución, de manera que la explicación del desarrollo desde el genotipo al fenotipo tendría que necesariamente integrar el conocimiento de ambas ciencias⁸.

En las últimas décadas, sus planteamientos se han retomado en una nueva perspectiva. Actualmente se reconoce el papel fundamental que el ambiente extranuclear, extracelular y social ejercen en la modulación de la actividad genética. Los simples modelos aditivos que sugieren que el fenotipo es la suma de los efectos de los genes y del ambiente, no dan respuesta a la realidad⁸.

Un avance en la comprensión de la relación entre genes y ambiente se produjo con los descubrimientos de las bases moleculares epigenéticas que controlan la activación y silenciamiento de los genes. Holliday propuso por primera vez en 1987, el posible rol de la epigenética en la herencia de enfermedades. Holliday distinguió funciones de los genes en dos niveles: primero, en la transmisión del material genético de generación en generación, lo que sería el campo de la genética; segundo, cómo ellos funcionan durante el desarrollo de un organismo desde la fertilización del óvulo hasta el adulto, lo que sería el campo de la epigenética⁸.



Epigenética

2. LA EPIGENÉTICA EN LA ACTUALIDAD Y SU CONCEPTUALIZACIÓN

En los últimos 50 años, gracias al progreso tecnológico y la profundización en el conocimiento de los mecanismos moleculares asociados a la regulación de la expresión génica en eucariotas, el término epigenética presenta un cambio drástico de significado. Producto de un cambio conceptual en la biología, el eje de debate ha sido alterado por la identificación del DNA como el portador primario de información genética. Consecuentemente el concepto epigenética es redefinido para distinguir entre los cambios heredables que no son producto de modificaciones en la secuencia de bases del DNA de aquéllos que sí lo son. Desde entonces se ha profundizado en el conocimiento de numerosos procesos biológicos. Sin embargo, los mecanismos epigenéticos que regulan el desarrollo de un organismo a partir de la relación entre su información genética y el ambiente distan de comprenderse⁹⁵.

Mientras que muchos puntos de vista de interés histórico de la epigenética han suplantado a la definición de Waddington en los últimos años, la literatura contemporánea ahora utiliza el término epigenética un tanto libremente, lo que refleja distintas perspectivas ([Tabla 1](#)). Las definiciones más amplias adoptan la palabra epigenética literalmente (“por encima de los genes”), utilizando este término para describir casi cualquier fenómeno no genético. Definiciones algo más restrictivas discuten explícitamente la herencia estable del epigenoma y la falta de cambio en la secuencia de genes como componentes necesarios de la epigenética⁵³.



Epigenética

Tabla 1. Una breve clasificación de las definiciones contemporáneas de la epigenética⁵³.

Definición de epigenética	Enfoque de la definición	Interpretación	Referencia representativa
Regulación de la expresión génica	Visión mecanística del epigenoma	–Usa la etimología literal de “sobre” o “más allá de” la genética –No haciendo especial hincapié en la transferencia transgeneracional	Shukla et al., 2009
Cambios estables en la función de los genes sin cambio en la secuencia del DNA	Función génica	–Estrecha definición de epigenética que considera modificación de la cromatina –No haciendo especial hincapié en la transferencia transgeneracional	Griesemer, 2002; Bird, 2007
Causas genéticas de un fenotipo	Fenotipo	–Se centra en la vinculación de un mecanismo con el resultado (fenotipo) –La transferencia transgeneracional es parte de un conjunto más amplio de resultados, incluyendo la plasticidad del desarrollo	Wolf et al., 2008; Gilbert and Epel, 2009; Krause et al., 2009
Estudio de los cambios heredables en la función génica que ocurren sin un cambio en la secuencia del DNA	Transferencia transgeneracional de la función génica	–Atención explícita a la transferencia transgeneracional (herencia) de la función génica –Se centra en el mecanismo con menor énfasis en el resultado fenotípico o implicaciones evolutivas	Kiefer, 2007; Lemos et al., 2008; Lopez et al., 2009
Estudio del fenotipo heredable sin un cambio en la secuencia del DNA	Transferencia transgeneracional del fenotipo	–Atención explícita a la transferencia transgeneracional (herencia) –Se centra en los resultados fenotípicos e implicaciones evolutivas, con menor atención en el mecanismo	Groothuis and Schwabl, 2008; Youngson and Whitelaw, 2008
Estudio de los procesos que dan lugar a la plasticidad del desarrollo y la canalización	Fenotipo persistente como un resultado de eventos que ocurren durante el desarrollo	–La distinción entre ‘epigenética’, ‘herencia epigenética’ y ‘herencia celular epigenética’ –Se centra en el resultado del fenotipo celular e implicaciones evolutivas, con un mayor enfoque en el mecanismo –Se centra en la transferencia transgeneracional a través de la transmisión genética	Jablonka and Lamb, 2005; Jablonka and Raz, 2009
Alteración de la expresión génica mediante la modificación de la cromatina	Herencia estricta de las marcas epigenéticas tales como genes improntados	–Se centra en la superposición entre la herencia transgeneracional no genómica y la herencia epigenética –Distinción entre la herencia epigenética directa e indirecta	Gluckman et al., 2007



Epigenética

La definición de epigenética más utilizada incluye una serie de mecanismos como la metilación del DNA, fosforilación, acetilación y metilación de histonas que han llevado a la elaboración de términos como código epigenético o programa epigenético⁹⁵ y epimutaciones, donde al igual que las mutaciones alteran el DNA, las epimutaciones alteran la metilación del DNA⁹⁷.

En una reunión que se llevó a cabo en diciembre de 2008 con respecto a la epigenética, organizada por el Centro de Conferencias Banbury y el Laboratorio de Cold Spring Harbor, se llegó a la siguiente definición consensuada de epigenética: “un rasgo epigenético es un fenotipo hereditario resultante de los cambios en un cromosoma sin alteraciones en la secuencia del DNA”. La definición de la epigenética que se propuso, al igual que con la definición clásica (por ejemplo, en la forma propuesta por Conrad Waddington), puede implicar la heredabilidad de un carácter, ya sea difundido a través de la mitosis o la meiosis¹⁰.

De acuerdo con lo anterior, se puede estructurar una definición de epigenética en la cual la epigenética se podría definir como el conjunto de cambios heredables y estables en la expresión génica y/o función de los genes, sin que haya cambios en la secuencia del DNA^{10,53,57,61,76}.

3. ORGANIZACIÓN DE LA CROMATINA

3.1. EMPAQUETAMIENTO DEL DNA

En las células eucarióticas, las moléculas largas de DNA bicatenario se compactan en estructuras llamadas cromosomas, los cuales no sólo caben perfectamente dentro del núcleo sino que también pueden repartirse con facilidad entre las dos células hijas durante cada división. Cada cromosoma consiste en una sola molécula de DNA lineal muy larga, asociada con proteínas que pliegan y condensan el delgado filamento de DNA en una estructura más compacta, de esta manera es empacado en un complejo de DNA, histonas, un número de proteínas no histonas, el cual recibe el nombre de cromatina^{35,118}.



Epigenética

La compleja tarea de compactar el DNA es realizada por proteínas especializadas que se unen al DNA y lo pliegan, generando así una serie de espirales y asas que proveen niveles de organización cada vez más elevados e impiden que el DNA se convierta en una maraña incontrolable¹¹⁸. Este empaquetado no sólo compacta el genoma para caber en el volumen nuclear, sino también tiene secuencias reguladoras en la expresión de genes¹²⁶. El empaquetamiento limita la accesibilidad de muchos elementos reguladores de secuencia de DNA y es funcionalmente importante en el control de la transcripción, replicación, reparación y recombinación³⁵.

Las cadenas de nucleosomas, denominadas fibras de cromatina de 10 nm, constituyen la plantilla del genoma transcripcionalmente activo. La mayoría del genoma se mantiene en un estado silenciado a través de conjuntos de cromatina de orden superior, basado en la fibra de cromatina de 30 nm⁴³.

El primer nivel de organización de un genoma eucariótico consiste en un complejo de nucleoproteína multifacético muy dinámico conocido como el nucleosoma^{5,62,118}, la unidad básica de la cromatina^{5,24} que consiste de ~147 pb de DNA^{26,106} envueltas aproximadamente 1.7 vueltas^{71,136} alrededor de un octamero que consta de dos ejemplares de cada una de las histonas H2A, H2B, y un tetrámero H3-H4^{5,52,69,72,99} (Figura 1) y una proteína H1 enlazadora de ~20-50 pb de DNA que conecta un nucleosoma al siguiente al siguiente en una cadena de subunidades que se repiten, formando así la fibra de cromatina de 10 nm (estructura primaria de la cromatina). En el segundo nivel, la fibra de cromatina de 10 nm se enrolla aun más dando lugar a la fibra de 30 nm (estructura secundaria de la cromatina) y considerada la estructura de cromatina de orden superior^{35,72,121,136} (Figura 1).

Epigenética

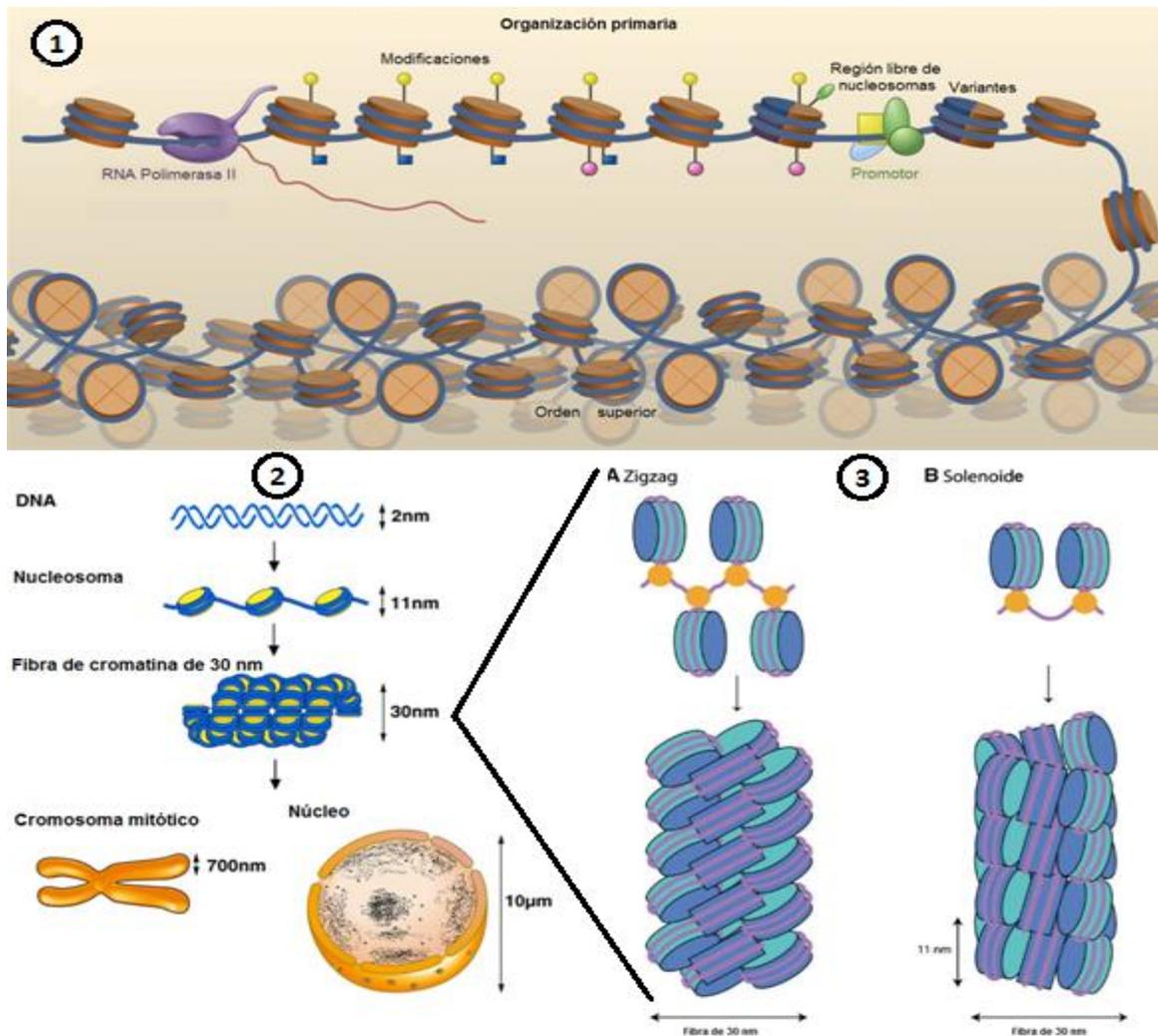


Figura 1. Organización de la cromatina. 1) La estructura primaria de la cromatina puede ser considerada como “perlas en una cadena” con arreglos uniformemente espaciados de nucleosomas en una distancia fija rio abajo de los sitios de inicio transcripcional. Con la excepción de situaciones específicas reguladoras, los nucleosomas intactos generalmente evitan la región promotora del núcleo, donde la maquinaria de transcripción ensambla. Estas regiones libres de nucleosomas proporcionan una oportunidad para regular la expresión génica en etapas más allá del acceso simple del promotor, por ejemplo, mediante el control de la elongación de la RNA polimerasa II. La proteína del núcleo de los nucleosomas están compuestos de histonas, que a menudo contienen modificaciones postraduccionales en aminoácidos específicos y pueden ser remplazados por variantes de histonas vinculadas a la transcripción (azul oscuro y violeta)¹³⁶. 2) Una molécula de DNA con un diámetro de 2 nm se envuelve alrededor de un octámero de histonas (H2A, H2B, H3 y H4), y forma un “nucleosoma” con un diámetro de 1 nm. Se presume desde hace tiempo que el nucleosoma se dobla en fibras de cromatina de 30 nm antes de que la organización de orden superior de los cromosomas mitóticos o núcleos en interfase se produzca⁷¹. 3) Un esquema de la fibra de 30 nm (300 Å). Modelo de alternancia de nucleosomas contras solenoide adyacente. El octamero de histonas se muestra adyacente. El octamero de histonas se muestra en dos tonos azul y el DNA en color magenta. La histona H1 enlazadora se muestra en amarillo. A) El aspecto alternante de nucleosomas adyacentes crea un patrón en zig-zag de empaquetado⁶². En el modelo de zigzag, la fibra en una hélice doble de inicio con el DNA enlazador entretejido entre las filas adyacentes de nucleosomas¹⁰⁶. B) La disposición consecutiva de seis nucleosomas en un giro de una hélice puede formar un solenoide con un campo de 11 nm⁶².

Epigenética

Las histonas tienen un dominio básico N-terminal llamado cola N-terminal de las histonas, las cuales emergen de dichas histonas en todas direcciones y no están implicadas en el mantenimiento de la integridad estructural del nucleosoma, sin embargo son esenciales para la condensación de la cromatina¹¹³. Estos dominios de las histonas N-terminales contienen una gran cantidad de modificaciones postraduccionales, que juegan papeles claves en la regulación de la replicación del DNA, recombinación, reparación y transcripción. Estas modificaciones incluyen la acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinación, sumoilación y la ADP ribosilación (Figura 2). Las modificaciones pueden alterar la estructura del nucleosoma y también servir como una plataforma para el ensamblaje de múltiples complejos de proteínas que modifican la cromatina^{80,136}.

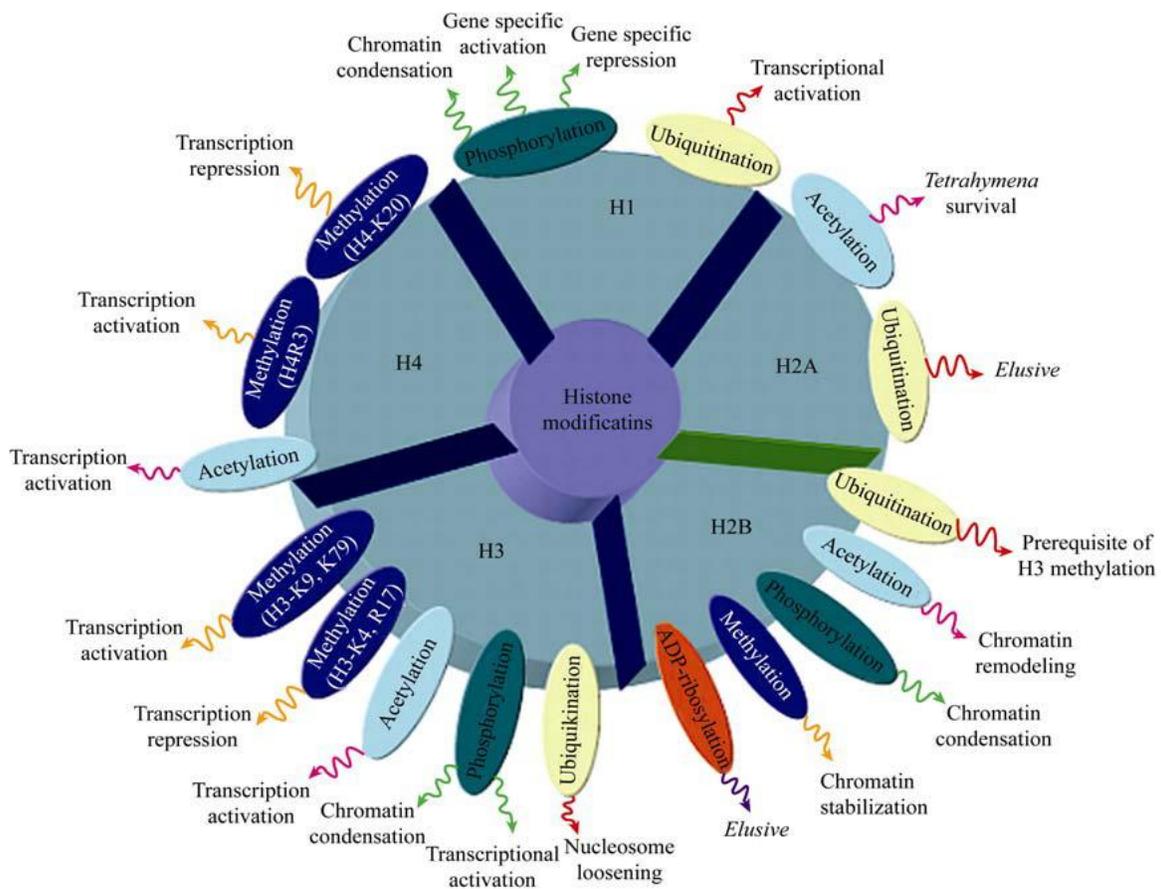


Figura 2. Modificaciones postraduccionales en las histonas⁸¹.



Epigenética

4. MARCAS EPIGENÉTICAS

Las marcas epigenéticas son modificaciones químicas del DNA y de sus proteínas asociadas a la cromatina mediadas por enzimas. A pesar de que no alteran la secuencia primaria del DNA, también contienen información heredable y juegan un papel clave en la regulación de la función del genoma. Tales modificaciones –incluyendo la metilación de la citosina, modificaciones postraduccionales de los residuos N-terminal de las histonas (colas de histonas), y el posicionamiento de nucleosomas (histonas octaméricas envueltas con DNA)– influyen en el estado transcripcional y otros aspectos funcionales de la cromatina³⁸, y pueden alterar la expresión génica en respuesta a señales ambientales y de desarrollo⁵⁶. Por ejemplo, la metilación del DNA y en determinados residuos N-terminal de la histona H3 [p. ej., H3 lisina 9 (H3K9)]³⁸, (que conllevan a cambios en la conformación de la cromatina)¹⁰³ son importantes para el silenciamiento transcripcional de genes y la función de la cromatina³⁸. Dado que la cromatina está estabilizada por las uniones covalentes entre el DNA y las histonas y otras proteínas básicas del núcleo celular, las modificaciones postraduccionales (marcas epigenéticas) de las histonas dan lugar a cambios de afinidad en su unión con el DNA, generando una conformación cerrada o abierta de la cromatina (hetero o eucromatina respectivamente)¹⁰³. Tales marcas son esenciales para la regulación de la estructura de la cromatina y la expresión de genes implicados en procesos tales como la inactivación del cromosoma X, imprintación, embriogénesis, gametogénesis y el silenciamiento de secuencias no génicas (incluyendo transposones, pseudogenes, secuencias repetitivas y virus integrados) que podrían ser perjudiciales para las células si se expresan y por lo tanto se activan. El silenciamiento epigenético del gen es también importante en el desarrollo de fenómenos tales como impronta en plantas y mamíferos, así como en la diferenciación celular y reprogramación^{38,46,48}. Las aberraciones en la metilación de citosinas pueden jugar un papel en la enfermedad genética humana⁶³.



5. MECANISMOS EPIGENÉTICOS

Los principales mecanismos epigenéticos son la metilación del DNA, modificaciones covalentes postraduccionales de proteínas histonas, y el silenciamiento de genes mediado por RNA. Diferentes tipos de modificaciones epigenéticas están estrechamente vinculadas y actúan a menudo en una forma de auto refuerzo en la regulación de diferentes procesos celulares¹²³.

La información epigenética que cumple el criterio de la heredabilidad se puede clasificar en tres tipos: la **metilación del DNA**, **modificaciones de histonas** y **RNAs no codificantes**¹⁰⁵ (Figura 3).

Epigenética

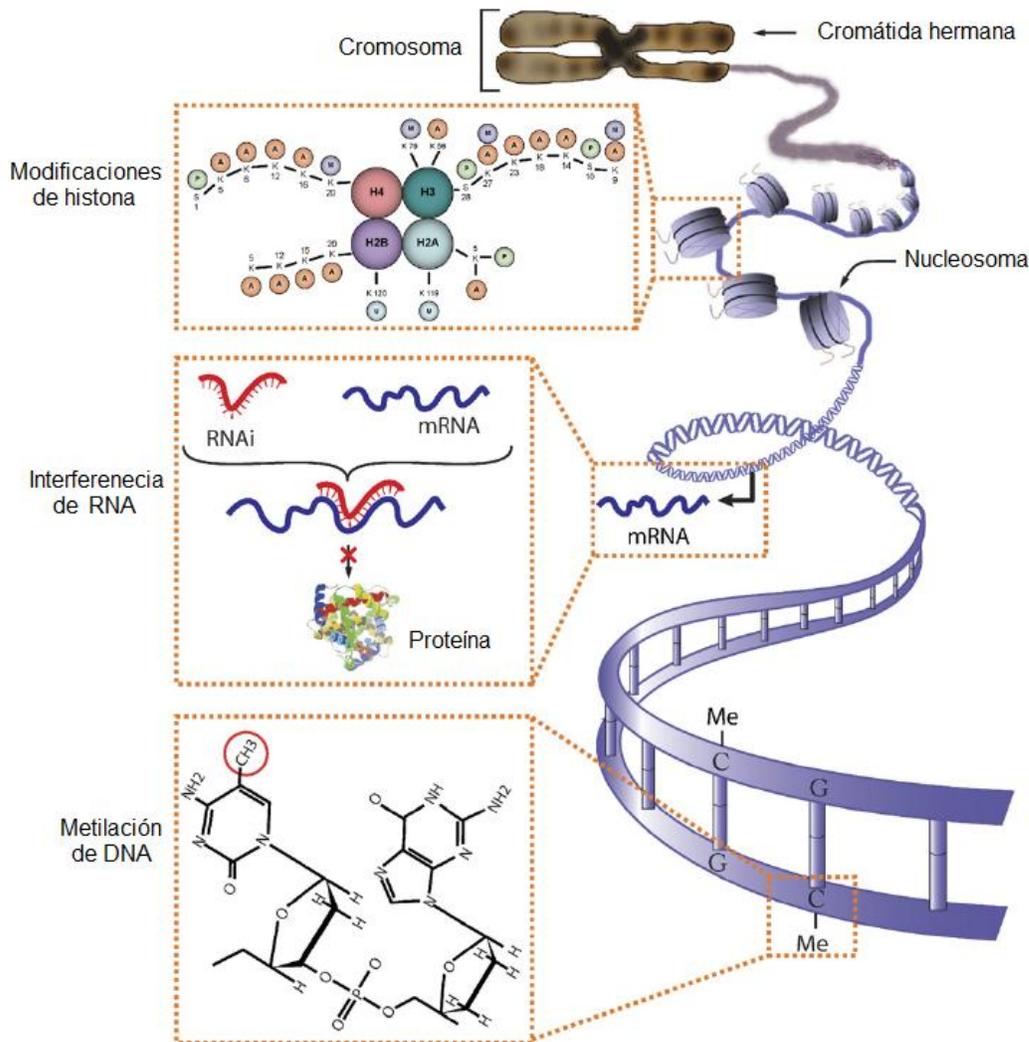


Figura 3. Diferentes tipos de información epigenética. La metilación del DNA, modificación de histonas, y silenciamiento de genes mediado por RNA constituye tres mecanismos distintos de regulación epigenética. La metilación del DNA es una modificación covalente de la citosina (C) que se localiza en 5' unida a guanina (G) en un dinucleótido CpG. Las modificaciones de histona se refiere a modificaciones covalentes postraduccionales de las colas N-terminal de las cuatro histonas (H3, H4, H2A, y H2B). El mecanismo más reciente de herencia epigenética implica RNAs, ya sea en la forma microRNA o Xist que pueden alterar los estados de expresión génica en una forma heredable¹⁰⁵.

6. METILACIÓN DEL DNA EN EUCARIOTAS (MAMÍFEROS)

Las modificaciones epigenéticas se dividen en dos categorías principales: la metilación del DNA y las modificaciones de histonas (p. ej., metilación, acetilación, entre otras). En los vertebrados, la metilación del DNA se produce casi exclusivamente en el contexto de dinucleótidos CpG y la mayoría de estos en el genoma están metilados¹¹. La característica



Epigenética

más llamativa de los patrones de metilación del DNA en vertebrados es la presencia de las islas CpG, es decir, regiones ricas en GC no metiladas que poseen una alta relación con la densidad de dinucleótidos CpG y están situados en los extremos 5' de muchos genes estructurales¹⁵ y pueden extenderse a las regiones de codificación de los exones⁵⁴.

En eucariotas, el DNA puede ser metilado en las citosinas, siendo la metilación de éstas una modificación epigenética esencial en los genomas de mamíferos, la cual ocurre solamente en el contexto de dinucleótidos CpGs^{114,128}.

La metilación del DNA en dinucleótidos CpG es la modificación epigenética mejor conocida del genoma en eucariotas^{59,126}, que generalmente está asociada con el silenciamiento epigenético de la transcripción^{54,59} de tal modo que afecta las funciones biológicas básicas, tales como la expresión de genes y el desarrollo celular. A nivel genético, una de las funciones de la metilación es regular la expresión génica¹²⁵. La metilación también se requiere para la expresión alelo-específica de genes improntados y para la inactivación del cromosoma X en hembras⁸⁶.

Los cambios en los patrones de metilación juegan un papel fundamental en el desarrollo, diferenciación y enfermedades tales como esclerosis múltiple, diabetes, esquizofrenia, y diferentes formas de cáncer (p. ej., cáncer colorrectal)¹³.

Un requisito previo para la comprensión de la función de la metilación del DNA es el conocimiento de su distribución en el genoma ([Figura 4](#)). En animales, el espectro de los niveles y patrones de metilación es muy amplio. La metilación en vertebrados está dispersa en gran parte del genoma, en un patrón denominado metilación global. La variedad de los patrones de metilación del DNA en animales destaca la posibilidad de que diferentes distribuciones reflejan las diferentes funciones del sistema de metilación del DNA⁸⁴.

Epigenética

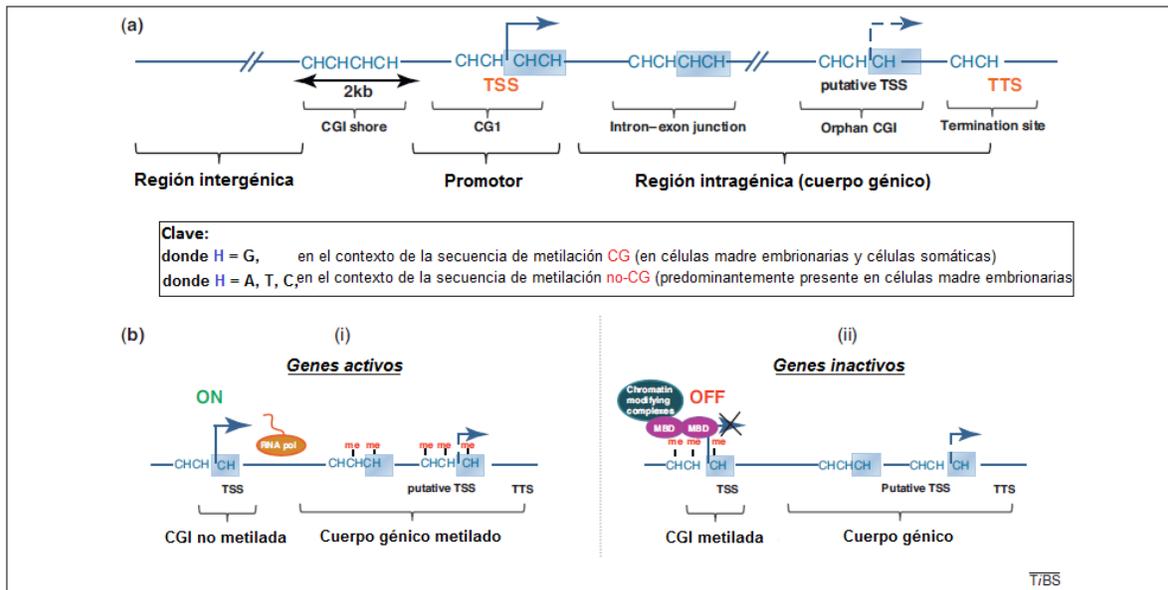


Figura 4. Representación esquemática del metiloma del DNA de mamíferos. La distribución media de la metilación del DNA se asigna a un modelo de DNA del gen que indica distintos patrones de metilación. La relación de la metilación del DNA para la transcripción en el promotor y cuerpo génico ha sido ampliamente corroborada y también destacada. (a) El modelo genómico indica características genómicas anotadas en las proximidades de los genes entre ellos un promotor, la región intragénica (cuerpo génico) y región intergénica. TSS indica el sitio de inicio transcripcional y TTS, sitio de terminación transcripcional. Para delinear las regiones con características sutiles de metilación: los promotores de las islas CpG (CGI), las orillas de las CGI, que están hasta 2 kb de distancia de un promotor, CGIs huérfanas y las uniones intrón-exón están representadas. Las orillas de las CGIs se caracterizan principalmente por la metilación diferencial en la mayoría de los tejidos, y por lo tanto da lugar a la expresión génica diferencial. (b) el impacto predominante de la metilación del DNA en la transcripción de genes; “me” denota la metilación, ON indica la expresión génica y OFF indica la represión génica. (i) En genes activos, los promotores CGI están normalmente no metilados, lo que facilita la transcripción. La metilación en el cuerpo génico está positivamente correlacionado con la expresión génica, por lo que podría impedir la iniciación falsa de la transcripción. (ii) En genes inactivos, la metilación de los promotores CGI está principalmente asociada con la represión génica a través del reclutamiento de proteínas con dominio de unión a metilo (MBD) y complejos asociados a cromatina; la intensidad de la represión transcripcional es determinada por el contenido general del promotor CG. El desafío pendiente será la de exponer los diferentes tipos de contextos de secuencia en tejidos y células y la maquinaria responsable para estas diferencias⁸⁴.

6.1. METILACIÓN DE LA CITOSINA DEL DNA MEDIANTE DNA METILTRANSFERASAS

La metilación del DNA es la adición covalente de un grupo metilo a la posición del carbono cinco (C5) de la base citosina en dinucleótidos CpG¹²³ formando 5-metilcitosina³ (5mC)⁸⁶. La metilación del dinucleótido CpG es tan frecuente que la 5mC ha sido referida como el quinto nucleótido, por lo tanto el análisis del contenido total de la 5mC es un paso inicial en la evaluación del papel que ésta marca epigenética puede tener en el desarrollo o la enfermedad en el organismo³.



Epigenética

La metilación se limita a la adición de un grupo metilo a los residuos de citosina predominantemente en las islas CpG. Esta metilación del DNA a los promotores que contienen las islas CpG lleva a la inactivación de genes¹²⁶.

La metilación de citosina se lleva a cabo por dos tipos de DNA metiltransferasas (DNMTs): las metiltransferasas *de novo* (DNMT3A y DNMT3B) y de mantenimiento (DNMT1)¹²³ que consisten en tres clases principales de DNA MTasas de las cuales dos llevan a cabo la metilación de nitrógenos exocíclicos para convertir la adenina a N8-metiladenina o la citosina a N4-metilcitosina, la tercera, llamada citosina-5-metiltransferasa (m5CMTasa) modifica el carbono 5 de la citosina al catalizar la transferencia de un grupo metilo de la S-adenosil-L-metionina (AdoMet) a la posición C5 de la citosina para producir 5-metilcitosina^{22,63}.

6.2. MECANISMO CATALÍTICO DE LA METILACIÓN

Todas las m5CMTasas comparten un conjunto de dominios primarios bien conservados que se cree reflejan las funciones comunes requeridas para la metilación del DNA. Tal como fue originalmente propuesto por Wu y Santi en 1985, el mecanismo catalítico de m5CMTasas implica un ataque nucleofílico en el C6 de la citosina por un residuo de cisteína conservado para generar un intermediario covalente⁶³ (Figura 5), esto activa al carbono C5 de la citosina como un carbanión estabilizado por resonancia que entonces puede iniciar un ataque nucleofílico en el grupo de AdoMet, dando como resultado la adición de un metilo en la posición C5 del anillo de pirimidina seguida de la eliminación del proton C5 y liberación del intermediario covalente proteínico²².

Epigenética

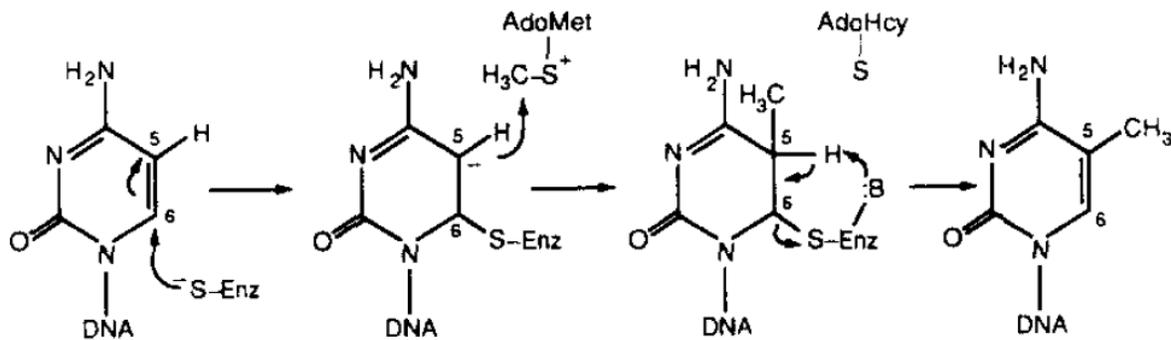


Figura 5. Representación esquemática de la vía de reacción basada en el mecanismo propuesto por Wu y Santi (1985).

6.3. ISLAS CpG

Las islas CpG (CGIs) son secuencias cortas²⁸ (500-2000 pb)³⁷ intercaladas en el²⁸ DNA genómico enriquecido por el dinucleótido 5'-CpG-3', el cual es el sustrato para la metilación por³⁷ las DNA metiltransferasas⁸⁸, estos dinucleótidos se caracterizan por un alto contenido de G+C y CpG. Las islas CpG cubren aproximadamente el 0.7% del genoma humano, pero contienen un 7% de los dinucleótidos CpG¹¹, así mientras que aproximadamente el 60 al 90% de todas las secuencias CpG dispersas en el genoma humano están metiladas⁹⁹, las islas CpG están generalmente no metiladas en el tejido normal^{37,28}. Aproximadamente el 70% de los promotores de los genes están asociados con una CGI, lo cual evidencia que las CGIs actúan como promotores y por lo tanto son estructuras reguladoras importantes donde la metilación del DNA juega un papel regulador. La mayoría, sino es que todas las CGIs son sitios de iniciación de la transcripción²⁸.

6.4. MANTENIMIENTO DE LA METILACIÓN

El mantenimiento de la metilación describe los procesos que producen los patrones de metilación del DNA entre generaciones de células. El mecanismo más simple concebible para el mantenimiento depende del copiado semiconservativo del patrón de metilación de la cadena parental en la cadena del DNA progenie. De acuerdo con el modelo¹⁵, la enzima de metilación DNMT1²⁰ prefiere metilar CpGs nuevos cuyos patrones en la cadena parental ya llevan un grupo metilo¹⁵ (o dicho de otra manera, la DNMT1 reconoce DNA



Epigenética

hemimetilado)⁹⁴. Por lo tanto un patrón de CpGs metilado y no metilado a lo largo de una cadena de DNA tiende a ser copiado y esto proporciona una manera de pasar la información epigenética entre generaciones de células. La idea de que los patrones de metilación del DNA de mamíferos¹⁵ se establecen en el desarrollo temprano por las metiltransferasas *de novo* DNMT3A y DNMT3B^{15,123} y luego son copiados a células somáticas por la DNA metiltransferasa de mantenimiento DNMT1 es elegante y simple, pero no puede explicar completamente la persistencia de los patrones de metilación durante la proliferación celular¹⁵.

Aunque los patrones detallados de la metilación no pueden mantenerse a nivel de un único nucleótido CpG, el estado de la metilación de los dominios de DNA parece ser fielmente reproducido durante el desarrollo. Las islas CpG, por ejemplo, mantienen su estado no metilado en general (o metilado) extremadamente estable a través de múltiples generaciones de células. La DNMT1 es en parte responsable de esta estabilidad, pero es probable que haya otro componente aun desconocido para el proceso de mantenimiento¹⁵.

Aún no se entiende como el DNA hemimetilado es reconocido por la DNMT1, pero estudios recientes sobre DNMT1 indican que no funciona sola²⁰, ya que hay evidencia de que la metilación de la isla CpG se mantiene estable incluso en la aparente ausencia de la DNMT1¹⁵, más bien es probable que trabaje como parte de un gran complejo que incluye otros factores esenciales tales como Np95 (UHRF1 –del inglés *Ubiquitin-like containing PHD and RING finger domains 1*–)²⁰.

6.5. MAQUINARIA ENZIMÁTICA DE LA METILACIÓN DEL DNA

Se han identificado en mamíferos cuatro DNA metiltransferasas (DNMTs) que comparten un dominio DNMT. El miembro fundador, es la DNMT1 la cual mantiene la metilación del DNA durante la replicación, al propagar con extrema fidelidad los patrones de metilación del DNA, al copiar estos, de la cadena antigua de DNA en la nueva cadena sintetizada, produciendo patrones de metilación y sitios CpG no metilados entre generaciones de células^{123,128}. La metilación en CG se mantiene mediante DNMT1 y por un cofactor que reconoce DNA hemimetilado en el inicio de la replicación, llamado UHRF1³⁸. Las DNA



Epigenética

metiltransferasas DNMT3A y DNMT3B, son responsables de la metilación *de novo*, ya que establecen los patrones de metilación del DNA durante el desarrollo temprano, al dirigirse a sitios CpG no metilados. También cooperan con DNMT1 para propagar los patrones de metilación durante la división celular. La DNMT2 tiene sólo una débil actividad DNA metiltransferasa *in vitro* y recientemente se ha demostrado que hasta metila eficientemente un tRNA^{46,123,128}.

La DNMT3L es homóloga a la DNMT3A y DNMT3B en la región reguladora N-terminal y altamente expresada en células germinales. Aunque catalíticamente inactiva, DNMT3L regula a DNMT3A y DNMT3B estimulando su actividad catalítica *in vivo* y tanto DNMT3L como DNMT3A se requieren para el establecimiento de improntas genómicas^{38,46} (marcaje genómico por metilación del DNA, lo que hace que algunos genes se expresen de acuerdo a su origen parental)^{15,18}.

Las DNA metiltransferasas son requisitos indispensables para que ocurra la metilación, pero la metilación del DNA también requiere los remodeladores de cromatina ATPasas dependientes, DDM1 y DRD1 y las proteínas de unión a metilcitosina VIM1, VIM2 y VIM3. El gen HOG1 se requiere para la metilación normal del DNA debido a un efecto indirecto en las reacciones que implican el sustrato normal para la metilación (S-adenosil-L-metionina)⁴².

Las secuencias de señales que dirigen a las metiltransferasas a regiones específicas del genoma son en gran parte desconocidas, pero los patrones de metilación se transmiten por herencia mitótica en plantas y animales⁸⁶.

7. SILENCIAMIENTO O INACTIVACIÓN DE GENES MEDIANTE METILACIÓN DEL DNA

Como se ha mencionado anteriormente, el silenciamiento de genes mediado por la epigenética está relacionado con tres procesos, de los cuales, la modificación mejor caracterizada y estudiada es la metilación del DNA especialmente en regiones promotoras de genes que regulan las funciones importantes⁵⁵.



Epigenética

El silenciamiento génico mediado por metilación juega un papel importante en la etiología de las enfermedades humanas, por ejemplo la metilación de los promotores de genes supresores de tumores contribuye a la progresión de algunos cánceres tales como el cáncer colorrectal¹⁴. El silenciamiento de genes supresores de tumores y otros genes relacionados con el cáncer se han asociado a la hipermetilación de las islas CpG¹²³

La metilación del DNA generalmente se asocia con un estado reprimido de la cromatina e inhibición de la actividad promotora¹²⁸. Las propiedades de las proteínas de unión a metil-CpG están demostrando ser la clave para interpretar la relación entre la metilación del DNA y el silenciamiento transcripcional¹⁴. Actualmente se han descrito cinco miembros de la familia con un dominio conservado de unión al DNA metilado (MBD). Entre ellos, MeCP2, MBD1, MB2 y MBD3 pueden estar implicados en la represión de la transcripción mediada por metilación⁸², de estos el principal miembro de estas proteínas es MeCP2, que consta de un solo polipéptido que contiene un dominio de unión a metil-CpG (MBD) y el dominio de represión transcripcional (TRD). MeCP2 es capaz de unirse simétricamente a un sólo CpG metilado en el DNA desnudo y dentro de la cromatina, mientras que el TRD confiere represión cuando se encuentra enlazado a un dominio de unión al DNA del factor Gal4¹⁴.

Aunque está bien establecido que la consecuencia predominante de la metilación es la represión transcripcional, no es claro si ésta es mediada directa o indirectamente¹²³. Se ha propuesto dos modelos de represión para el silenciamiento: primero, la inhibición directa de la transcripción mediante la metilación de citosina puede ser a través del bloqueo de la unión de los factores de transcripción a los promotores que contienen sitios CpG metilados, y segundo, la represión indirecta mediante metilación del DNA puede afectar los estados de la cromatina a través del reclutamiento de proteínas de unión a CpG metilado (MBPs) tales como MeCP2 que se unen específicamente al DNA metilado a través de un dominio de unión a metil-CpG (MBD) (Figura 6). Las proteínas que contienen MBD se cree que median la represión transcripcional mediante reclutación de la actividad HDAC al DNA metilado, resultando en una estructura de la cromatina desacetilada represiva^{28,123,128}.

Epigenética

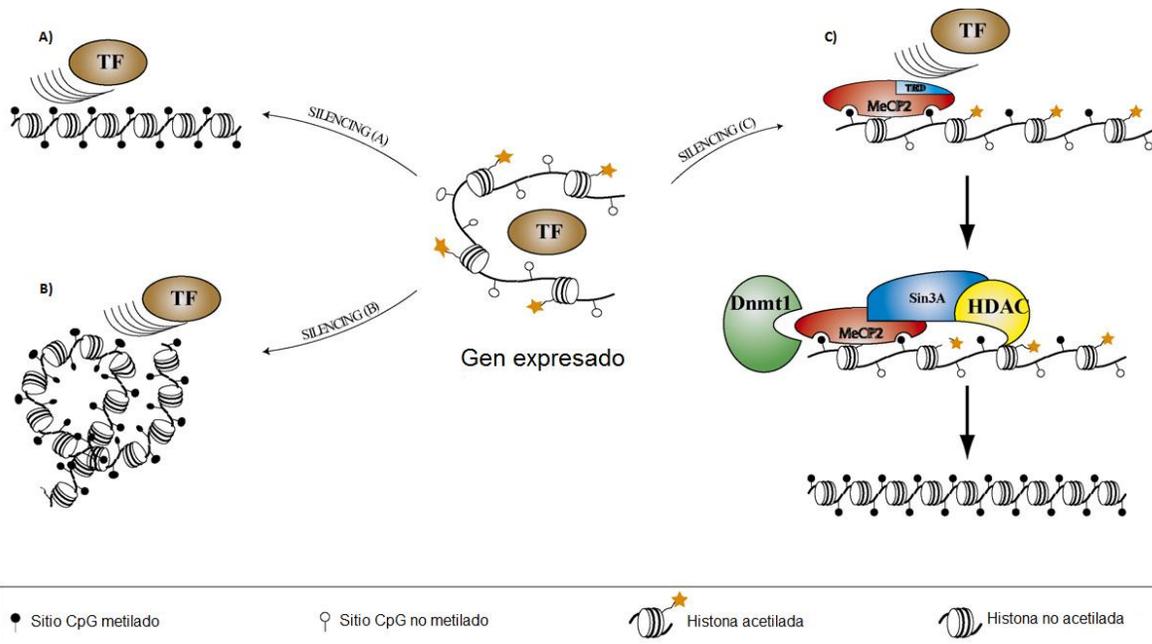


Figura 6. Mecanismos para el silenciamiento de genes. Los promotores que tienen los sitios CpG metilados directamente inhiben la transcripción de genes mediante el bloqueo de la unión de los factores de transcripción (TF) a la región promotora (A). La formación de heterocromatina asociada con el DNA metilado y las histonas desacetilasas puede impedir el acceso de los factores de transcripción al DNA (B). El silenciamiento de un gen puede ser resultado de la unión de proteínas de unión a metilo (p. ej., MeCP2) a la citosina metilada que recluta histonas desacetilasas (HDAC) conduciendo al estado de la cromatina no permisiva que impide a un TF unirse a su promotor blanco (C)¹²³.

Así, aunque se sabe que las modificaciones tales como la metilación del DNA y la desacetilación de las histonas (descrita mas adelante), silencian genes, no se conoce con exactitud la jerarquía mediante la cual ocurre este silenciamiento y metilación del promotor del gen. Así, hay la posibilidad de que las MBD, sean las efectoras de las modificaciones de las histonas, silenciando la expresión de este gen y, posteriormente, dando un orden de metilación de su promotor a través de las DNA metiltransferasas. No obstante, también podría ser que la metilación del DNA fuese la que iniciara el resto de la cascada que conlleva la silenciación del gen⁴⁵.



Epigenética

8. HIPERMETILACIÓN E HIPOMETILACIÓN

La abundancia de grupos metilo (hipermetilación) en la región promotora de un gen está asociada con el llamado “silenciamiento” o la inactivación de dicho gen. Por el contrario, los genes que son transcripcionalmente activos tienen un déficit de grupos metilo (hipometilación) en sus regiones promotoras. El papel de la metilación del DNA en la regulación de la expresión génica no es sencillo, tanto la hipometilación global de DNA genómico y la hipermetilación de promotores de genes específicos han sido implicados en la carcinogénesis³, por ejemplo las islas CpG que están regularmente no metiladas en células normales se hipermetilan en células tumorales¹²³.

La conexión entre la hipometilación del DNA y la inestabilidad del genoma está bien documentada en el contexto del cáncer. Muchas células cancerosas muestran hipometilación de su genoma, que ha sido vinculado causalmente a un aumento de la inestabilidad cromosómica y progresión tumoral¹²⁸. La hipometilación génica es responsable de la activación de oncogenes, como *S100A4* en el cáncer colorrectal, en tanto la hipermetilación en genes supresores de tumores (Tabla 5), reduce o elimina la expresión de estos de modo que no pueden desarrollar su función represora de ciclo celular, conduciendo al desarrollo de cáncer^{9,45}.

9. DESMETILACIÓN

9.1. DESMETILACIÓN MEDIANTE MECANISMOS PASIVOS Y ACTIVOS

Existen dos posibles procesos para remover un grupo metilo del DNA metilado⁸², estos implican a mecanismos pasivos y activos de desmetilación del DNA mediante la proteína de traslocación diez-once (TET) y familias de enzimas AID/APOBEC¹². En el mecanismo pasivo, la metilación no se mantiene durante la replicación del DNA, debido a que es bloqueada la metilación del DNA recién sintetizado, mientras que en el mecanismo activo es catalizado por una desmetilasa^{82,86}.

Epigenética

La hidroximetilación de la citosina mediante la 5-hidroximetilcitosina (5hmC) sugiere un medio de desmetilación de DNA, en donde la 5hmC puede servir como un intermediario para la remoción de citosinas metiladas, ya sea pasivamente a través de la presencia de la 5hmC, lo cual afecta la remetilación por las DNMTs cuando se dividen las células o mediante la sustitución activa de las citosinas modificadas a través de la reparación del DNA en la ausencia de división celular¹² (Figura 7).

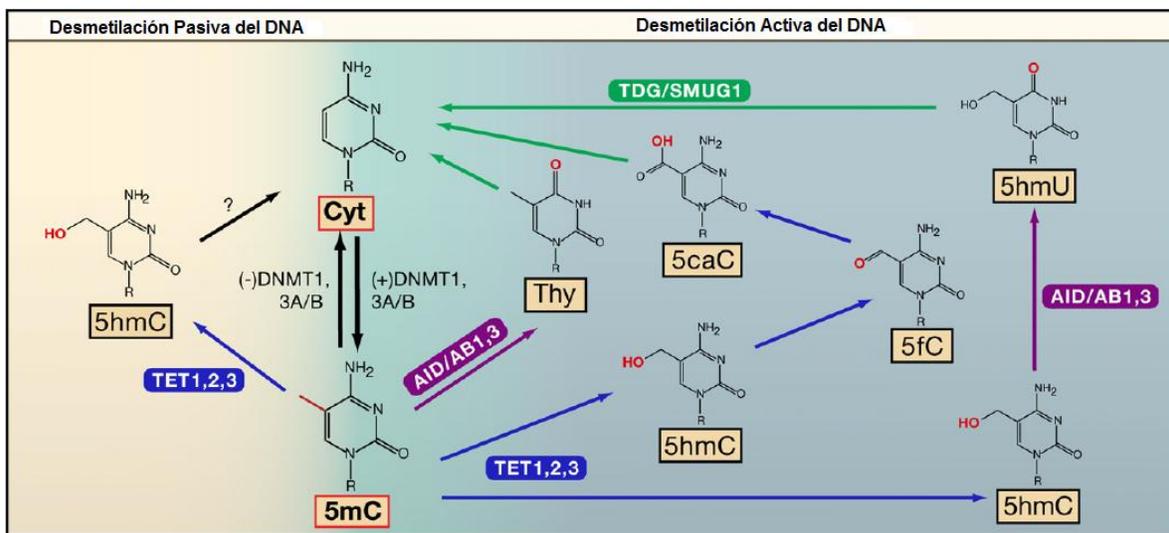


Figura 7. Vías de desmetilación del DNA. La desmetilación pasiva del DNA se sabe desde hace tiempo que ocurre por una reducción en la actividad o la ausencia de DNA metiltransferasas (DNMTs). DNMT3A y 3B son responsables de la metilación de novo del DNA, mientras que la DNMT1 mantiene los patrones de metilación del DNA a través de sucesivas rondas de división celular. Recientemente, tres familias de enzimas han sido implicadas en la desmetilación activa del DNA vía reparación del DNA. (1) La 5-metilcitosina (5mC) puede ser hidroxilada por la familia de enzimas (azul) de traslocación diez-once (TET) para formar 5-hidroximetilcitosina (5hmC) o posteriormente oxidada a 5-formilcitosina (5fC) y 5-carboxilcitosina (5caC). (2) La 5mC (o 5hmC) puede ser desaminada por los miembros de la familia AID/APOBEC (violeta) para formar 5-metiluracilo (5mU) o 5-hidroximetiluracilo (5hmU). (3) La sustitución de estos intermediarios (es decir, 5mU, 5hmU, o 5caC) es iniciada por la familia de glicosilasas UDG (verde) de reparación por escisión de base (BER) como TDG o SMUG1, culminando en la sustitución de citosina y desmetilación del DNA¹².

Lo anterior conecta a tres familias de desmetilación activa del DNA: la familia de proteínas TET, de las 5mC-hidroxilasas que modifican citosinas metiladas, primero por hidroxilación y luego por la posterior oxidación para convertir la 5mC a 5-hidroximetilcitosina (5hmC), y finalmente, una familia de glicosilasas de reparación por escisión de base (BER), que median la reparación del DNA^{12,131} (Figura 7).



Epigenética

9.1.1. *Proteínas TET*

Las proteínas TET son una familia de enzimas que modifican las citosinas modificadas convirtiendo la 5mC a 5hmC, contienen un dominio 5mC hidroxilasa y un dominio conservado CXXC, éste último permite la modificación de histonas o la metilación del DNA¹³¹. Las proteínas TET, TET1, 2 y 3, se han descubierto recientemente en células de mamíferos pertenecientes a una familia de DNA hidroxilasas que poseen una actividad enzimática hacia la marca metilo en la posición 5 de la citosina (5mC), que catalizan la conversión de 5mC a 5hmC. La 5hmC es poco reconocida por la Dnmt1 y puede conducir a la desmetilación pasiva dependiente de la replicación^{12, 129}.

TET1 se une fuertemente al DNA rico en CpG no metilado a través de su dominio CXXC de unión al DNA lo cual le proporciona una capa adicional de protección para limitar la accesibilidad de las DNMTs ([Figura 8](#)). TET1 también se puede unir a la 5hmC en CpG del DNA, con lo cual puede permanecer en estos sitios después de la conversión de la 5mC a 5hmC y con ello limitar aun más la accesibilidad de las DNMTs o MBDs¹³¹.

9.1.2. *Proteínas AID/APOBEC*

La citidina desaminasa inducida por activación (AID), se ha implicado en la desmetilación del DNA; las APOBECs, a diferencia de las AID se identificaron como RNA editores. AID media la desaminación de residuos de citosina a uracilos, que luego son reparados mediante BER (reparación por escisión de base)^{12,65} ([Figura 7](#)).

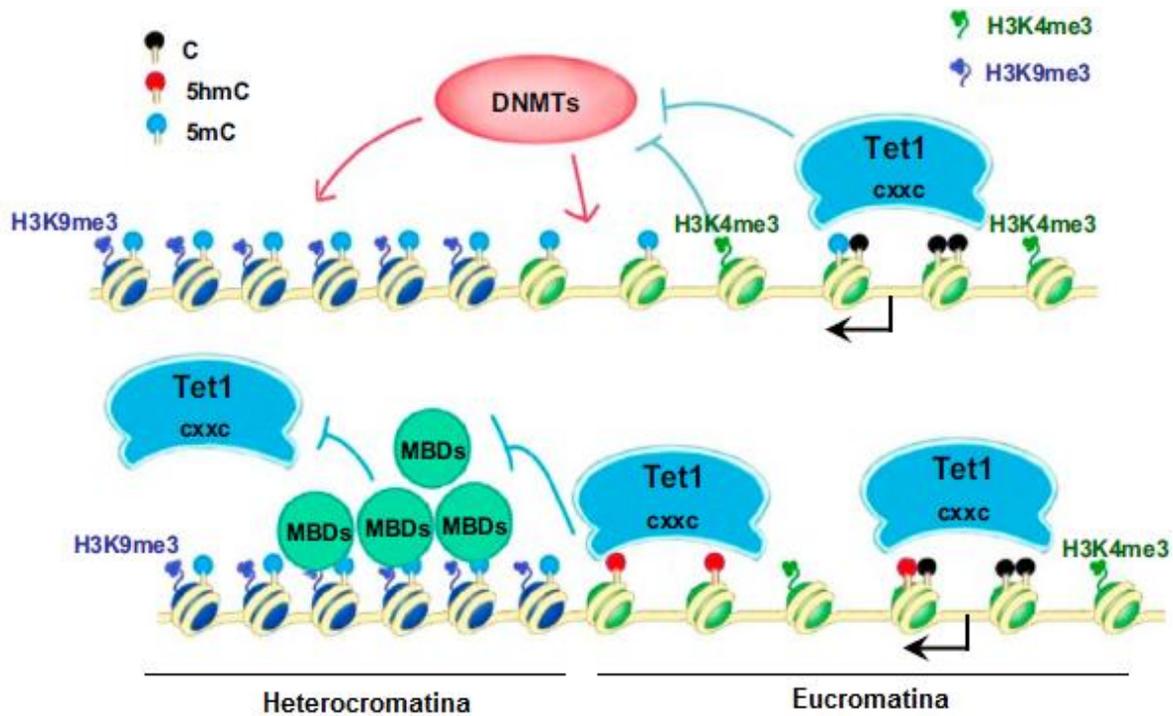


Figura 8. Un modelo de las funciones de Tet1 en la regulación de la metilación CpG en la eucromatina. Tet1 se une fuertemente a regiones ricas en CpG no metiladas (tales como promotores génicos, CGIs) a través de su dominio CXXC, lo que limita la accesibilidad de las DNMTs. Tet1 también se une a CpGs dispersamente metilados en la eucromatina (que se muestra en color verde) y convierte 5mC a 5hmC. Las 5hmC recién generadas pueden limitar aun más la unión de proteínas de unión a metilo (MBDs) o DNMTs. Sin embargo, CpGs densamente metilados pueden reclutar MBDs, que posteriormente reclutan modificadores represivos de histonas tales como las H3K9me3 metiltransferasas para establecer un estado de heterocromatina (que se muestra como nucleosomas azul oscuro), haciendo inaccesible Tet1 a estos sitios hipermetilados y previniendo la conversión de 5mC a 5hmC¹³¹.

9.1.3. Proteínas BER glicosilasas

La familia de glicosilasas implicadas en la vía BER (reparación por escisión de base) son miembros de la familia uracil DNA glicosilasas (UDG) que incluye a la timina DNA glicosilasa (TDG), la cual es capaz de convertir 5hmU a citosina¹².

La proteína MBD4 (proteína 4 con dominio de unión a metil-CpG) tiene la misma función de TDG, es capaz de unirse al DNA metilado, preferentemente a los desajustes de T:G en los sitios CpG (desajustes causados por la desaminación de CpGs metilados, donde hay una transición de C a T), además tiene un dominio glicosilasa y es capaz de reparar estos desajustes mediante la eliminación de la timina del DNA⁶⁵.



Epigenética

En resumen, las BER glicosilasas, junto con las TET y las enzimas AID/APOBEC median la desmetilación del DNA vía reparación del DNA por escisión de base (BER)¹².

Tabla 2. Resumen de mecanismos de metilación del DNA^{12,28,82,123,128}.

Metilación del DNA	Hipometilación e Hipermetilación del DNA	Desmetilación
<ul style="list-style-type: none"> • Es la adición covalente de un grupo metilo a la posición del carbono cinco (C5) de la base citosina en dinucleótidos CpG formando 5-metilcitosina (5mC). • La metilación de citosina se lleva a cabo por DNA metiltransferasas. • La metilación del DNA se asocia con un estado reprimido de la cromatina e inhibición de la actividad promotora. • La inhibición directa de la transcripción mediante metilación de citosina puede ser a través del bloqueo de la unión de los factores de transcripción a los promotores que contienen sitios CpG metilados; la represión indirecta, puede afectar los estados de la cromatina a través del reclutamiento de proteínas de unión a CpG metilada, que se unen específicamente al DNA metilado. 	<ul style="list-style-type: none"> • Hipermetilación. Abundancia de grupos metilo en la región promotora de un gen, se asocia con el silenciamiento o inactivación de tal gen. • Hipometilación. Déficit de grupos metilo en regiones promotoras de un gen, se asocia con genes transcripcionalmente activos. • Ambos estados (hipometilación e hipermetilación), se asocian con la carcinogénesis. La hipometilación génica es responsable de la activación de oncogenes, en tanto la hipermetilación reduce o elimina la expresión de genes supresores de tumores. 	<ul style="list-style-type: none"> • Remueve grupos metilo del DNA metilado. • La hidroximetilación de citosina, sugiere un medio de desmetilación y activación de genes.

10. MODIFICACIÓN DE HISTONAS

Las histonas que forman el nucleosoma están sujetas a más de 100 modificaciones diferentes covalentes postraduccionales, incluyendo acetilación, metilación, fosforilación y ubiquitinación. Estas modificaciones se producen principalmente en posiciones específicas en residuos de lisina (K) de los extremos N-terminales de las histonas, ayudando a modular una variedad de procesos celulares basados en el DNA^{40,72,91}. Estos extremos que sobresalen del polímero de la cromatina, comprenden del 25 al 30% de la masa de las histonas individuales, proporcionando así una superficie expuesta para las posibles interacciones con otras proteínas^{109,124} (Figura 9).

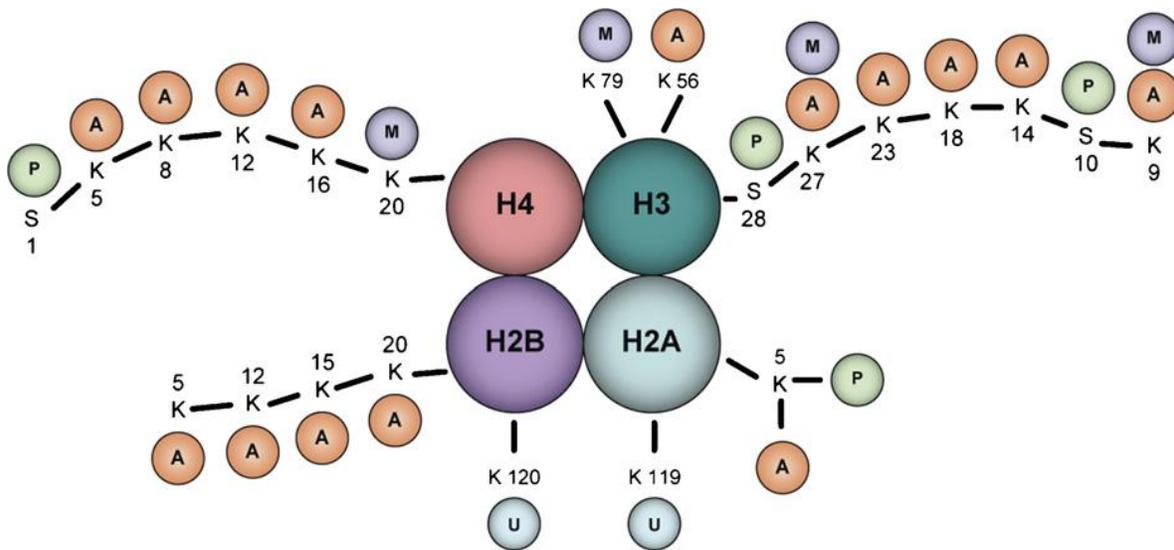


Figura 9. Representación esquemática de un nucleosoma y modificaciones de histonas. Las modificaciones postraduccionales de las histonas ocurren principalmente en los residuos de lisina (K) de los extremos N-terminal de las histonas del core (H2A, H2B, H3 y H4) e incluyen la acetilación (A), metilación (M), fosforilación (P) y ubiquitinación (U). Se observa que varias lisinas (p.ej., lisina 9) puede ser ya sea acetilada o metilada¹⁰⁹.

Aunque la gran mayoría de estas modificaciones se conocen bien, en los últimos años se ha visto un progreso considerable en la comprensión de la acetilación y metilación de lisina¹¹ y arginina¹¹⁶. Estas alteraciones no sólo regulan la accesibilidad (mediante la alteración de la estructura del nucleosoma o ensamblaje de la cromatina) para la unión de proteínas al



Epigenética

DNA, si no también crean marcas o señales de reconocimiento para proteínas efectoras^{80,91,116}. Hay varios dominios de proteínas que reconocen histonas modificadas, cuando estos dominios están contenidos en proteínas que se encuentran en complejos modificadores de las histonas, puede ocurrir el “*crosstalk*” entre las modificaciones de histonas, esto es cuando la presencia o ausencia de una modificación influye en la aparición de otra modificación de histonas¹¹⁶.

10.1. METILACIÓN DE HISTONAS

10.1.1. Enzimas con dominio SET: Proteínas Trithorax y Polycomb

Se ha demostrado que dos familias de proteínas, el grupo trithorax (TRX) y el grupo Polycomb (PcG), juegan papeles opuestos (activación y represión) en estos procesos^{107,137}.

Las proteínas PcG existen en complejos que funcionan como represores transcripcionales y contrarrestan los activadores del grupo Trithorax^{93,116}. Los complejos de silenciamiento PcG consisten de tres complejos proteicos separados PcG, PRC1 (complejo 1 Pc represivo), PRC2 (complejo 2 Pc represivo) y PhoRC (complejo Pho-represivo)^{115,116,132}.

Estas dos clases de proteínas asociadas a cromatina funcionan por activación y represión de la transcripción, respectivamente. Ambas clases de proteínas contienen unos 130 a 140 motivos de aminoácidos llamados el dominio SET. Este dominio toma su nombre de las proteínas Su(var)3-9 de *Drosophila*, Enhancer de Zeste [E(z)] y trithorax, también se ha demostrado que está implicado en la metilación de histonas en la cromatina^{107,137}. El dominio SET se encuentra en una variedad de proteínas asociadas a cromatina. Los genes que codifican estas proteínas también pueden mutar y/o translocar para formar funciones con otras proteínas, resultando en la patogénesis de enfermedades malignas hematológicas^{1,107}.

10.1.2. Metilación

La metilación de las histonas ha demostrado ser una modificación compleja, ya que no sólo los distintos residuos de lisina de las histonas tienen diferentes, y a veces opuestas funciones, cuando se metilan, sino también diferentes grados de metilación (mono, di o trimetilación) en el mismo residuo, los cuales pueden tener muchas funciones diferentes. Además, las histonas también pueden ser metiladas en residuos de arginina, una

Epigenética

modificación que también juega ya sea un papel positivo o negativo en la transcripción. Hasta la fecha, más de 20 marcas metilo en los residuos de lisina han sido identificados y los cinco residuos de lisina en los extremos N-terminal de las histonas que han recibido la mayor atención son H3K4, H3K9, H4K20, H3K27 y H3K36⁸⁰ (Figura 10).

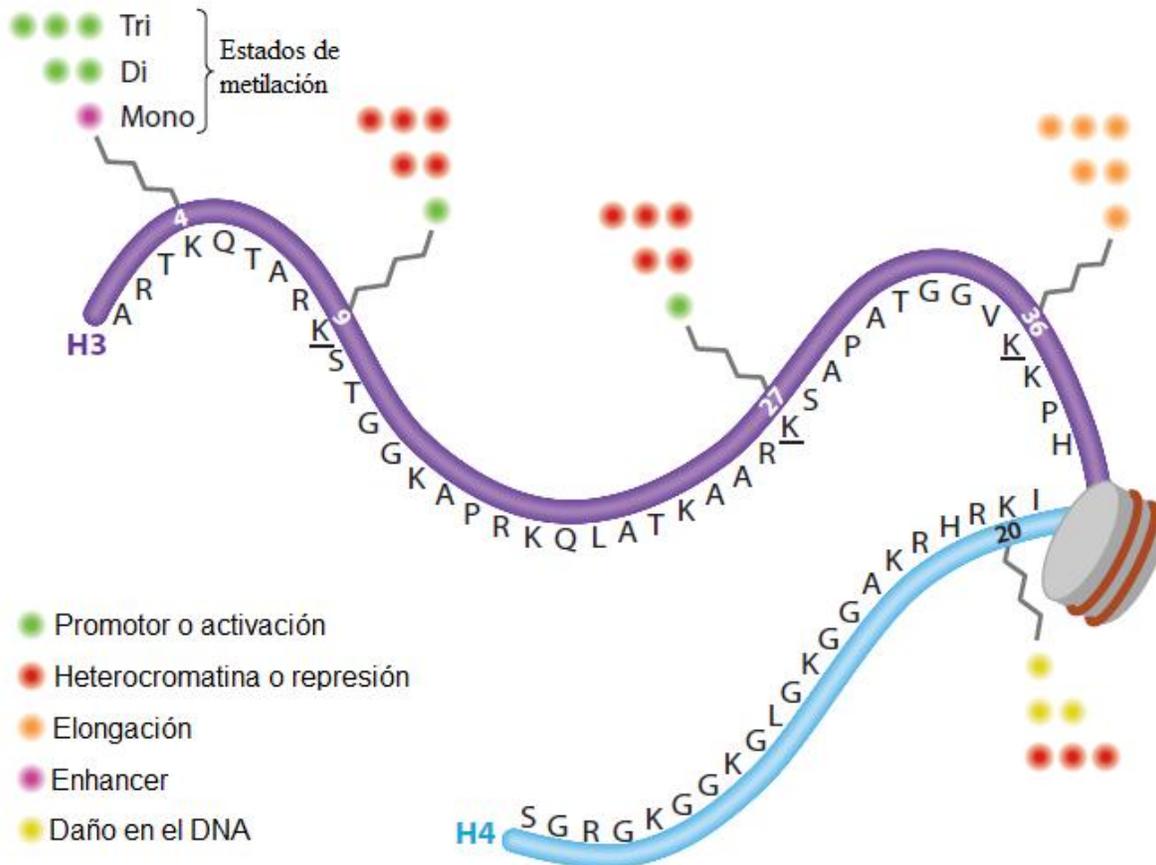


Figura 10. Las principales marcas de metilación de la lisina. Las principales marcas de metilación del residuo de lisina (K) en el extremo amino-terminal de la histona H3 (*púrpura*) y H4 (*azul*). Los números incrustados se refieren a los residuos de aminoácido metilado en cada histona. La función general de cada estado mono, di y trimetilado se representan con puntos de colores distintos como se muestra en la figura clave⁸⁰.

Las cadenas laterales básicas de aminoácidos de residuos de arginina y lisina en las histonas pueden ser metiladas por histona metiltransferasas (HTMTs), como se mencionó anteriormente la mayoría de los residuos modificados se encuentran en las colas N-terminal de las histonas H3 y H4⁹¹ (Figura 11a). Los residuos de arginina pueden ser, ya sea mono o dimetilados (metilación simétrica o asimétrica), mediante miembros de la familia de proteínas arginina metiltransferasas (PRMT) (Figura 11c), mientras que los residuos de



Epigenética

lisina pueden ser mono, di o trimetilados (Figura 11b) en el ϵ -amino ya sea por el dominio SET o dominio no SET que contiene lisina histona metiltransferasa (KHMTasa)^{2,60,107,122}. El estado de metilación precisa de un determinado extremo N-terminal de histona, en un gen determinado, que puede cambiar durante el proceso de activación de la transcripción. Si se toma en cuenta que a partir de la figura 11a, hay al menos nueve posiciones diferentes en las histonas que pueden ser metiladas (una estimación conservadora), entonces se puede esperar una complejidad de 262144 combinaciones, en donde cada uno de estos estados diferentes de combinación pueden dictar un nivel distinto de regulación transcripcional y por supuesto no todos estos estados es probable que sean las alternativas disponibles para un determinado gen².

Epigenética

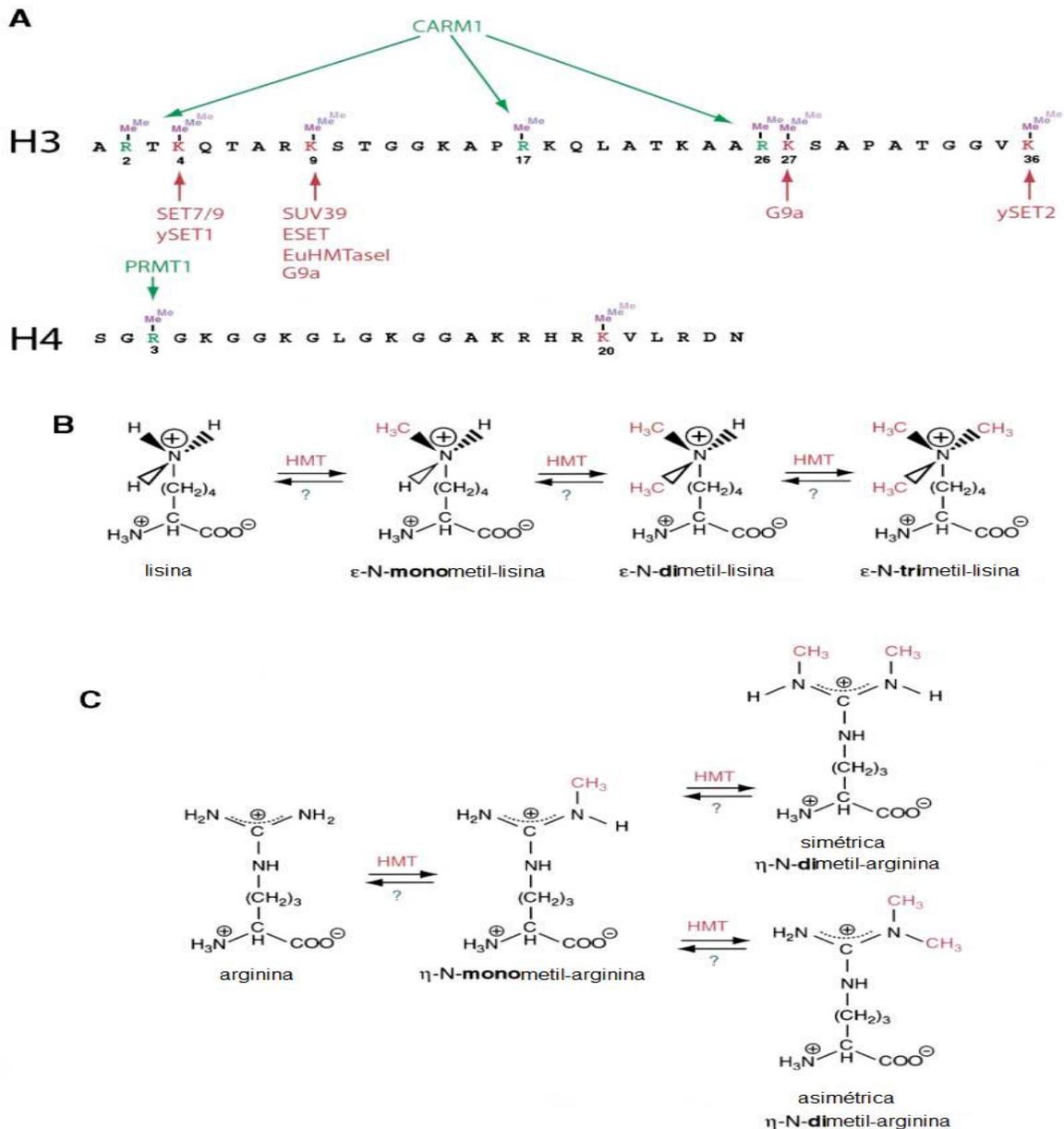


Figura 11. Sitios y estructura de los residuos metilados en los extremos N-terminales de las histonas. (A) Los sitios conocidos de metilación en los extremos N-terminales de las histonas H3 y H4. Las lisinas (K) y argininas (R) que pueden ser metiladas se encuentran señaladas con una marca “Me”. Las lisinas tienen el potencial de ser mono, di, o trimetiladas. También se indican conocidas histonas metiltransferasas y sus sitios preferidos de metilación. (B) Las estructuras químicas de la lisina y sus derivados metilados. La acción de las histonas metiltransferasas (HMTs) está indicado. La posible reversibilidad de la reacción desmetilasa se indica con signos de interrogación. (C) Las estructuras químicas de arginina y sus derivados metilados. La acción de las histonas metiltransferasas (HMTs) está indicado. Las posibles reacciones de desmetilación se indican con signos de interrogación. Las dos formas en que dimetilarginina se puede encontrar son simétrica o asimétrica².



Epigenética

10.1.3. Maquinaria enzimática de la metilación de histonas

La unión de grupos metilo del donador AdoMet a proteínas histonas ocurre predominantemente en residuos específicos de lisina en la histona H3 y H4 (Figura 12). Aunque se ha descrito la maquinaria enzimática capaz de remover las histonas mono y dimetiladas, no hay enzimas conocidas que puedan remover un grupo metilo de una histona trimetilada. Por lo tanto, la metilación de histonas (específicamente la trimetilación) es considerada una marca mucho más estable en comparación a otras modificaciones de histonas tales como la acetilación y ubiquitinación¹⁰⁷.

Las enzimas de la maquinaria implicada en la modificación postraducciona de las histonas por metilación, se han agrupado en varias clases, incluyendo (a) histona metiltransferasas (HMTasas) que contienen dominio SET específico de lisina implicadas en la metilación de los residuos de las lisinas 4, 9, 27 y 36 de la histona H3 y la lisina 20 de la histona H4; (b) lisina metiltransferasas que contienen dominio no SET implicadas en la metilación del residuo de la lisina 79 de la histona H3; y (c) arginina metiltransferasas implicadas en la metilación de la arginina 2, 17 y 26 de la histona H3 así como la arginina 3 de la histona H4¹⁰⁷.

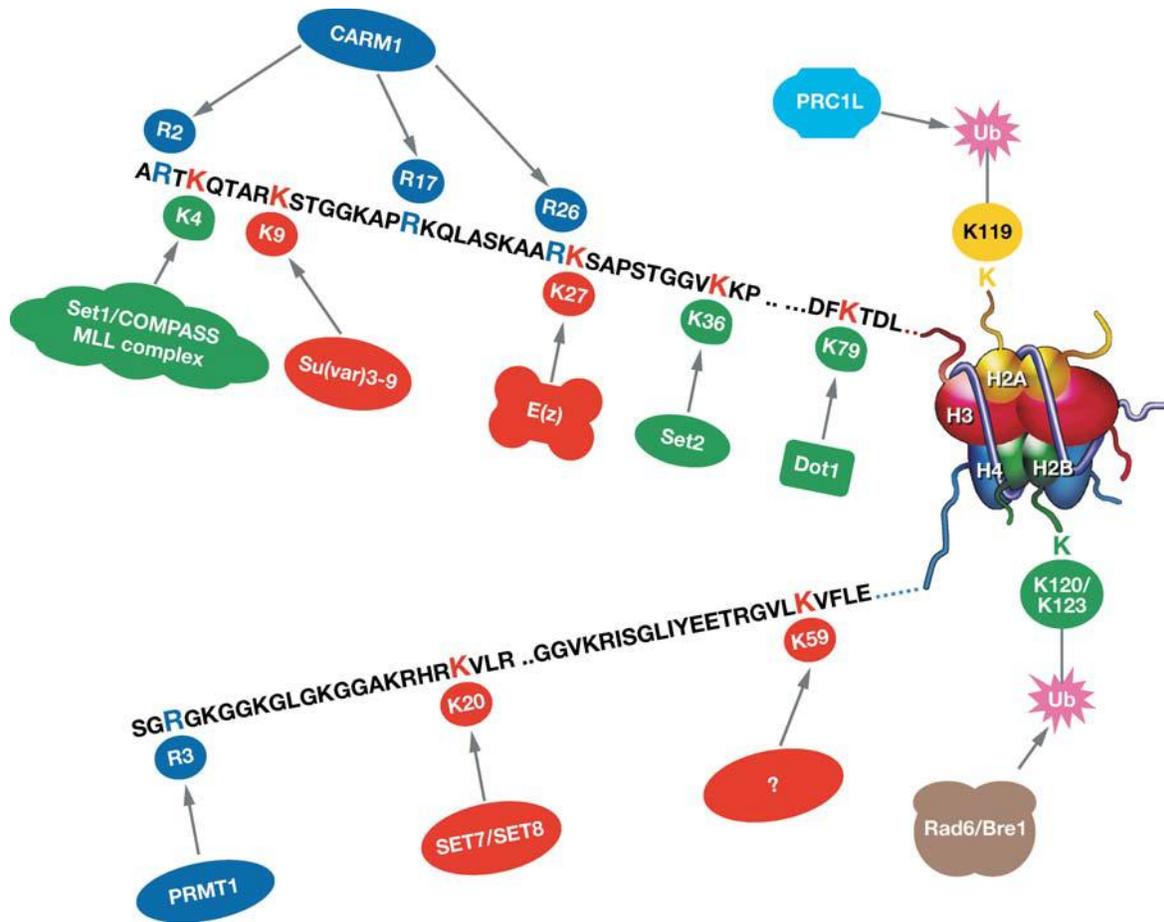


Figura 12. La maquinaria enzimática conocida implicada en la metilación de residuos de lisina y arginina y ubiquitinación de los residuos de histonas. Las secuencias de aminoácidos N-terminales de las histonas H3 y H4 se muestran junto con las posiciones de los sitios de metilación específicos y la maquinaria enzimática conocida responsable de la modificación correspondiente. Se muestra la ubiquitinación de los residuos de lisina en la histona H2B y H2A por Rad6/Bre1 y el complejo tipo 1 Polycomb represivo (PRC1-L)¹⁰⁷.

11. ACTIVACIÓN TRANSCRIPCIONAL MEDIANTE LA METILACIÓN DE LA LISINA EN HISTONAS

La metilación de la histona H3 en la lisina 9 (H3K9), H3 en la lisina 27 (H3K27) y H4 en la lisina 20 (H4K20) generalmente se correlacionan con la represión o silenciamiento^{11,111}, mientras que la metilación de la histona H3 en la lisina 4 (H3K4)^{67,104}, H3 en la lisina 79 (H3K79) y H3 en la lisina 36 (H3K36) se correlacionan con los genes activos (activación)⁹¹ (Figura 10, Tabla 3). Cabe resaltar que la monoubiquitinación de la histona H2B es un



Epigenética

prerrequisito para la metilación de la histona H3¹¹¹, mediante la conjugación de la histona H2B con ubiquitina, esta ubiquitinación de la histona H2B está mediada por la enzima Rad6, también conocida como enzima Ubc2 de conjugación de ubiquitina¹⁷, lo cual se justifica debido a que la disrupción del sitio aceptor de ubiquitina en H2B de la lisina 123 (H2BK120 en humanos), o de la enzima Rad6/Ubc2 de conjugación de ubiquitina, resulta en la pérdida de la metilación en H3K4 y H3K79, pero no en H3K36¹¹¹, por lo tanto H3K4 y H3K79 requieren de la previa ubiquitinación para ser metiladas. El modelo actual es que H2BK123ul facilita el reclutamiento de la H3K4 HMT Set-1 (en la levadura), lo que implica la elongación del complejo Paf1^{49,85,91} y coincide con la fosforilación de la serina 5 del dominio C terminal (CTD) de la RNA polimerasa II y todo esto conduce a la metilación de la H3K4, esta es seguida por la desubiquitinación de la histona H2B y así la estimulación de la metilación de la histona H3 en la lisina K36 (H3K36) mediante el complejo HMTasa Set2^{51,91,111,115} (Figura 13). En mamíferos el reclutamiento de complejos enzimáticos homólogos del complejo Set-1 a los promotores ocurre mediante un mecanismo similar⁴⁹.

Tabla 3. Marcas de inactivación y activación en los residuos de lisina de los extremos N-terminal de las histonas^{17,80,91,109,111}.

Silenciamiento o represión	Activación
H3K9me2	H3K9
H3K9me3	H3K4me2
H4K20me3	H3K4me3
H3K27me2	H3K27
H3K27me3	H3K36me3
	H3K79

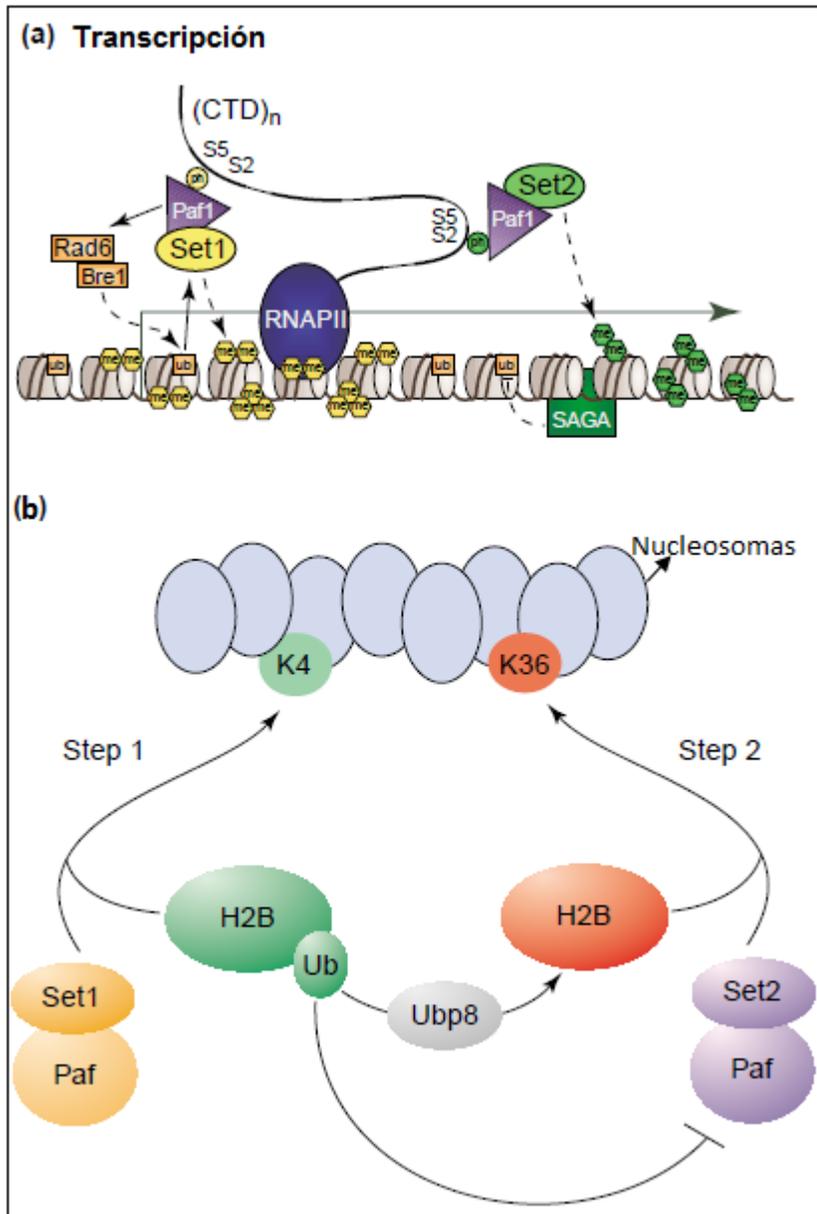


Figura 13. Interacción entre la monoubiquitinación de la histona H2B y la metilación de H3. (a) La metilación de histonas y actividad polimerasa. Diagrama de interacciones entre la fosforilación de S2 y S5 en el dominio C-terminal (CTD) de la Polimerasa II, la metilación de H3K4 y H3K36 y la ubiquitinación durante la transcripción activa en *S. cerevisiae*. (b) La monoubiquitinación (Ub) de H2B facilita la metilación de H3K4 por Set1 e inhibe la metilación de H3K36 por Set2. El componente Ubp8 del complejo SAGA media la desubiquitinación de H2B, que inhibe la metilación de H3K4 (implicada en eventos de iniciación transcripcional) y estimula la metilación de H3K36 por Set2 (asociado con la elongación). El complejo Paf de elongación recluta a Set1 y Set2 a la RNA polimerasa II. La monoubiquitinación H2B puede servir como un interruptor que media la especificidad de asociación de Set1 o Set2 con el complejo Paf. Los nucleosomas están representados por óvalos¹¹¹.



Epigenética

12. SILENCIAMIENTO O REPRESIÓN TRANSCRIPCIONAL MEDIANTE LA METILACIÓN DE LA LISINA EN HISTONAS

Se ha identificado que dos mecanismos diferentes de silenciamiento están vinculados a la metilación de las histonas (H3K9, H3K27 y H4K20) la cual está íntimamente vinculada a la metilación del DNA, por ejemplo en el primer mecanismo es bien sabido que los altos niveles de metilación del DNA en elementos genómicos repetitivos ricos en GC están protegidos primero por proteínas de unión a metilo tales como MBDs, que a su vez reclutan histonas desacetilasas y H3K9 metiltransferasas. Esta marca epigenética posteriormente puede reclutar a la proteína HP1 (la cual contiene metil lisina 9) y así establecer una estructura condensada de la cromatina, que recluta a más DNMTs para mantener este patrón de metilación. En la vía represiva (de la heterocromatina) del primer mecanismo también implica la trimetilación de H4K20, la cual esta mediada por Su(var)4-20^{4,62,80,131}.

En el segundo mecanismo, la proteína Polycomb es reclutada para mediar el silenciamiento génico en las etapas de desarrollo⁶². El complejo 2 represivo polycomb (PRC2) es responsable de la trimetilación de la lisina 27 en la histona H3 (H3K27me3) a través de la subunidad EZH2 (homólogo del enhancer de zeste 2)^{30,80}.

13. DESMETILACIÓN DE HISTONAS

Hay un mecanismo propuesto mediado por la enzima desmetilasa 1 específica de lisina⁷² (LSD1, también conocida como KMD1A), la cual es parte de un complejo correpressor transcripcional HDAC y actúa como H3K4 desmetilasa^{25,80}.

De forma general, la estructura de la LSD1 presenta un dominio N-terminal SWIRM y un dominio amino oxidasa dividido en dos mitades, que consisten de un medio de unión del sustrato y un medio de unión para FAD (Figura 14a), que se une para formar un dominio globular. El sitio activo de la enzima se centra entre estas dos mitades. Contiene un cofactor proteico llamado CoREST, el cual lo dota de actividad de desmetilación nucleosomal⁸⁰.

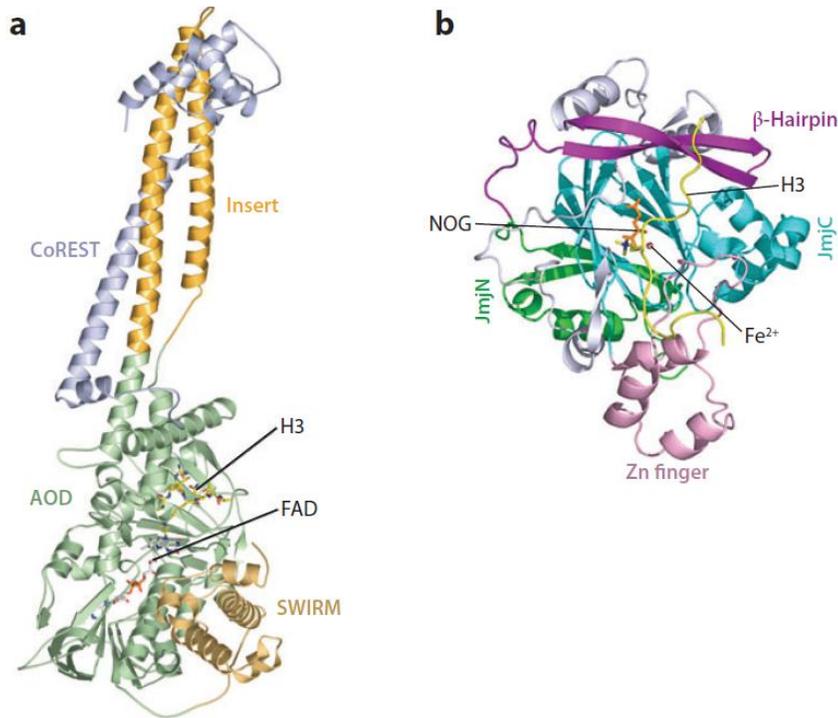


Figura 14. Estructura de LSD1 y CoREST. (a) Estructura general de LSD1 y CoREST unido a un péptido mimético H3 y flavin adenina dinucleótido (FAD). (b) Estructura general de JMJD2A unido a la H3K36me3 y NOG. LSD1: desmetilasa 1^a específica de lisina; CoREST: corresponsor del factor de transcripción de silenciamiento de RE1; NOG: *N*-oxalilglicina⁸⁰.

La reacción de desmetilación requiere el dominio amino oxidasa, formaldehído liberado como un subproducto, FAD como un cofactor (Figura 15). La enzima LSD1 desmetila el sustrato histona a través de la reacción amino oxidasa dependiente de la flavina adenina dinucleótido (FAD). Sin embargo, debido al requerimiento de una oxidación catalizada del metil protonado (grupo amonio para LSD1), y así, para la desmetilación mediada por LSD1, éstas y otras enzimas relacionadas son incapaces de catalizar la desmetilación de residuos de lisina trimetilada y sólo catalizan la desmetilación de residuos de lisina monometilados y dimetilados (H3K4me2/me1). Sin embargo, las histona desmetilasas caracterizadas que contienen el dominio catalítico Jumonji (JmjC), pueden desmetilar lisinas trimetiladas^{25,80}.

La reacción de desmetilación conducida por JmjC es compatible con la desmetilación de las lisinas mono, di y trimetiladas y de hecho la mayoría de las histona desmetilasas JmjC caracterizadas hasta ahora, son capaces de desmetilar lisinas trimetiladas y en la mayoría de los casos favorecen a sustratos trimetilados²⁵.

Epigenética

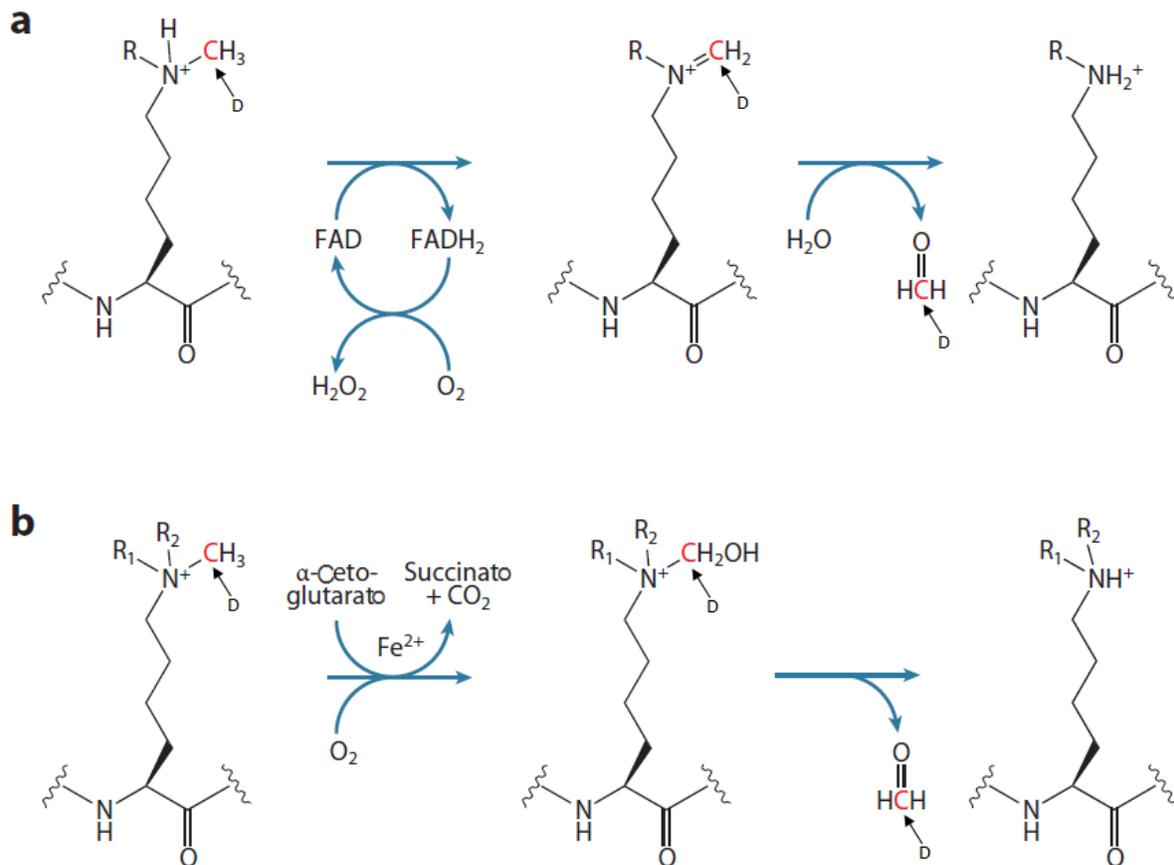


Figura 15. Mecanismo de desmetilación de lisina por las proteínas LSD1 y JMJC. (a) La LSD1 desmetila a H3K4me/me1 a través de una reacción de oxidación de amina²⁵. El mecanismo amino oxidasa de la desmetilación de lisina dependiente de flavin adenina dinucleótido (FAD) mediado por la desmetilasa 1 específica de lisina [LSD1; también conocida como desmetilasa 1A específica de lisina (K), o KDM1A]. La marca “D” indica los carbonos que podrían ser desmetilados en cada reacción. (b) Fe^{2+} y el mecanismo de dioxigenasa de desmetilación de metil-lisina dependiente de 2-oxoglutarato mediado por la familia de enzimas con dominio Jumonji C-terminal. La descarboxilación oxidativa de α -cetoglutarato, acoplada a la hidroxilación del grupo metilo, creando un intermediario inestable hidroxil amonio, el cual es liberado como formaldehído⁸⁰.

En la desmetilación de histonas catalizada por LSD1, el grupo amino de la lisina metilada en cuestión es oxidado, presumiblemente para generar una imina intermedia que se hidroliza espontáneamente para producir formaldehído y el correspondiente residuo amino. La oxidación del sustrato conduce a la reducción de dos electrones del cofactor FAD, que se vuelve a oxidar por el oxígeno molecular para producir peróxido de hidrógeno (Figura 15a). La formación de la imina intermedia, y por lo tanto, la desmetilación mediada por LSD1, tal como se ha mencionado anteriormente, depende críticamente de la protonación del nitrógeno. Por lo tanto, esta enzima sólo puede catalizar la desmetilación de lisinas mono y dimetiladas²⁵.

De manera similar a LSD1, una reacción desmetilasa conducida por el dominio JmJC fue propuesta. Las proteínas JmjC pertenecen a la superfamilia oxigenasa dependiente de KG



Epigenética

(α -cetoglutarato)^{25,80}. Una característica generalizada de estas proteínas es la habilidad de unirse a iones Fe(II). Varios estudios sobre oxigenasas dependientes de KG incluyen el Factor de inhibición HIF1 (FIH) lo que sugiere el siguiente mecanismo de reacción: primero, la enzima de unión a hierro (Fe) a través de su motivo HXD/EXnH de unión a metal. Entonces, el complejo Fe(II)-enzima se une al cofactor KG y subsecuentemente el sustrato y el oxígeno. La unión del oxígeno es seguida de la descarboxilación oxidativa de la KG para producir succinato, dióxido de carbono y ferrilo. El último es un grupo reactivo y potencialmente puede oxidar un enlace C-N en un grupo metil-lisina, formando una carbinolamina inestable que rápidamente se descompone, lo que conduce a la liberación de formaldehído y a la pérdida de un grupo metilo de la lisina^{25,80} (Figura 15b).

Las dos clases de desmetilasas mencionadas anteriormente funcionan en complejos macromoleculares, uno de ellos es el complejo de LSD1⁸⁰.

El complejo central de la LSD1 contiene LSD1, HDAC1-2, CoREST, BHC80 y BRAF35 (Figura 16a), todas y cada una de las subunidades del complejo atienden a un papel distinto pero en colaboración lo que ha conducido a proponer un modelo, en el que el complejo promueve la represión transcripcional⁸⁰.

Epigenética

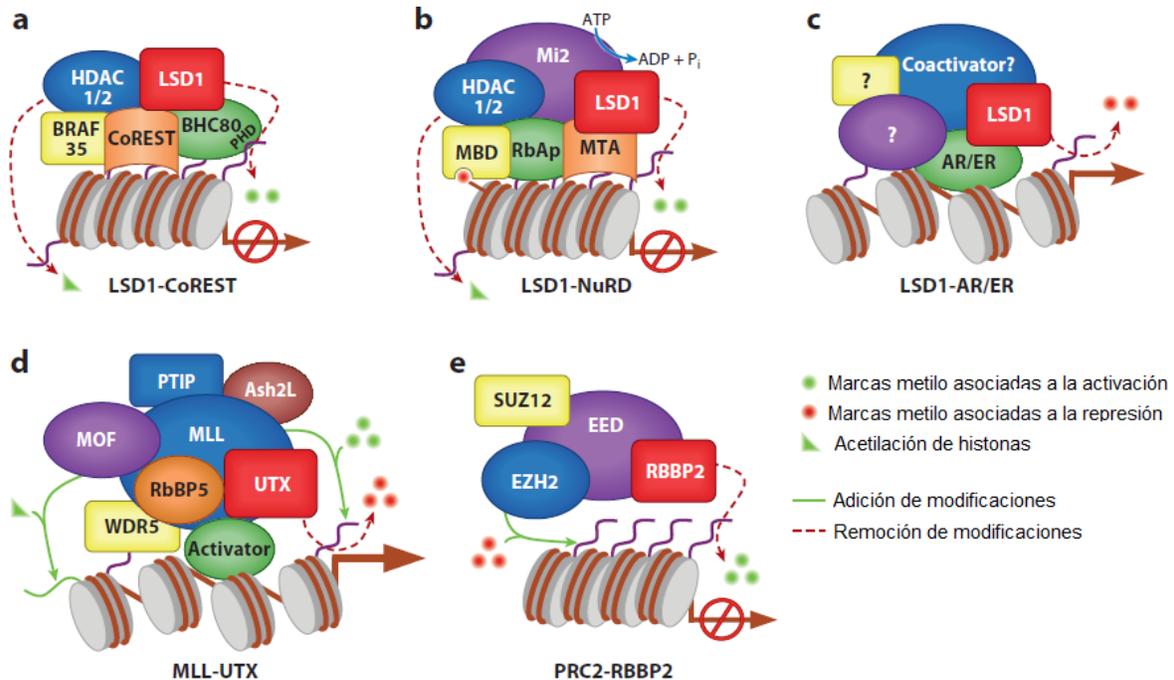


Figura 16. Complejos histona desmetilasa. Complejos histona desmetilasas⁸⁰ (HDMs)³² clave y sus actividades descritas hasta la fecha. Los círculos de color verde y rojo representan la activación y represión asociada a marcas metilo, respectivamente y los triángulos verdes representan la acetilación de histonas. Las líneas verdes continuas y las líneas rojas discontinuas representan actividades enzimáticas que agregan o remueven modificaciones específicas, respectivamente. (a) La desmetilasa 1 específica de lisina (LSD1) correpresor del complejo del factor de transcripción de silenciamiento RE1 (CoREST). (b) La remodelación del nucleosoma por LSD1 y el complejo desacetilasa (NuRD). (c) El complejo del receptor de la hormona nuclear-LSD1 (AR/ER). (d) Repetición tetratricopeptido transcrito ubicuamente para la proteína de leucemia de linaje mixto (MLL), el complejo proteínico del cromosoma X (UTX). (e) El complejo 2 Polycomb represivo (PRC2). Abreviaturas: AR/ER, receptor andrógeno/receptor estrógeno; Ash2L, ausente, pequeño, o homeótico tipo 2; BHC80, BRAF y complejo 80 histona desacetilasa; EED, desarrollo del ectodermo embrionario; EZH2, potenciador del homólogo 2 zeste; HDAC1-2, histona desacetilasa 1-2; MBD, proteína 2 con dominio de unión a metil-CpG; Mi2, autoantígeno 2 de miositis; MOF, machos ausentes en la primera; MTA, metástasis asociada; PTIP, proteína de interacción con PAX; RbAp, proteína asociada a retinoblastoma; RbBP, proteína de unión a retinoblastoma; SUZ12, supresor del homólogo 12 zeste⁸⁰.

Hasta la fecha, muchas de las marcas de histonas metiladas clave tienen una correspondiente desmetilasa⁸⁰ (Figura 17).

Epigenética

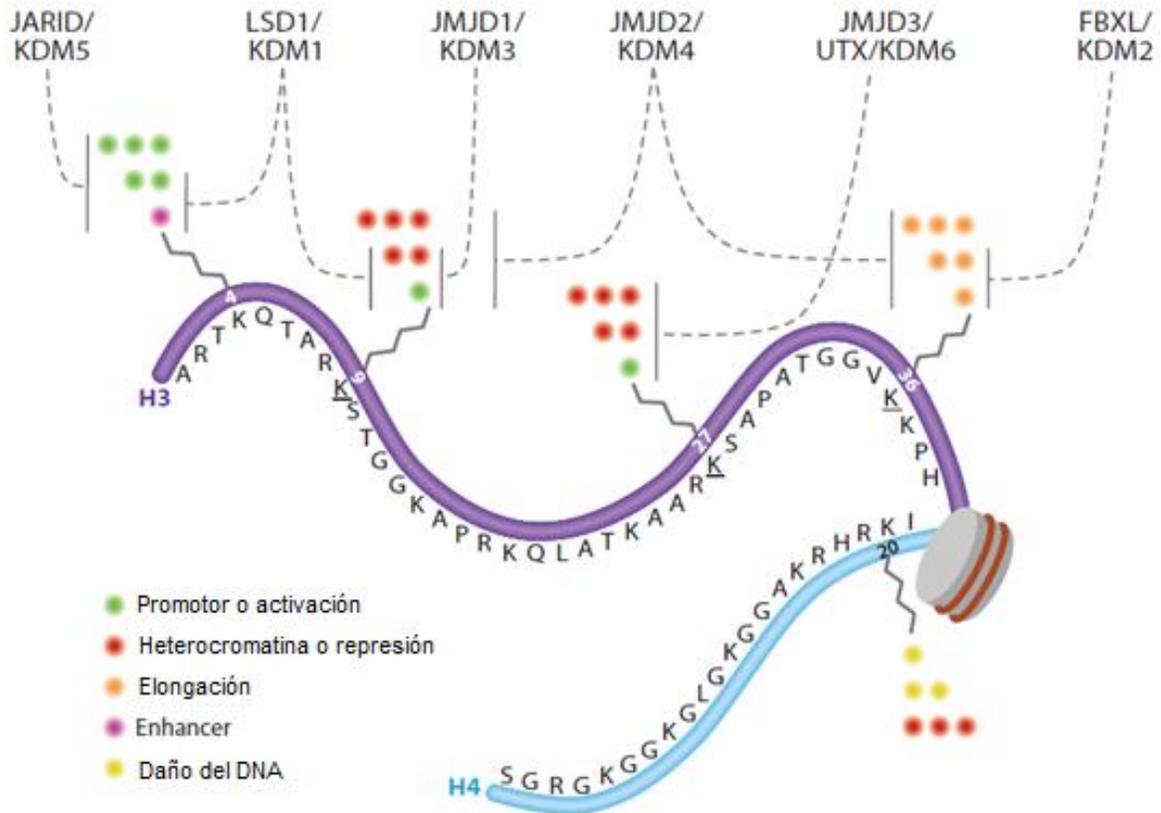


Figura 17. Especificidad de sustrato de histona desmetilasas descrita hasta la fecha. Las líneas discontinuas indican el residuo (s) metilado que se desmetila por las enzimas indicadas. Los números incrustados se refieren al residuo del aminoácido de lisina (K) metilado, en el extremo N-terminal de cada histona. La función general de cada estado mono, di y trimetilado se representa con puntos de colores distintos como se muestra en la figura clave⁸⁰.

14. ACETILACIÓN DE HISTONAS

Una modificación postraduccional bien caracterizada que regula la estructura de la cromatina es la acetilación de los dominios N-terminales de las histonas, en residuos específicos de lisina^{67,113} que se piensa facilita la activación transcripcional, ya sea por neutralización de la carga^{67,73} positiva de residuos de lisina¹⁰⁵ de interacción con el DNA o por la formación de un sitio de unión para factores de transcripción que contiene bromodominio, algunos de los cuales pueden remodelar los nucleosomas⁶². De este modo, la acetilación de las histonas forma un entorno transcripcionalmente competente para desplegar o abrir la cromatina y permitir a los factores de transcripción acceder al DNA.



Epigenética

Por el contrario, la desacetilación de las histonas contribuye a un estado condensado o cerrado de la cromatina y por lo tanto a una represión transcripcional^{23,41}.

Durante los procesos biológicos (p. ej., activación transcripcional), lisinas selectas tales como las lisinas 9 y 14 son acetiladas. La acetilación de los residuos de lisina N-terminal en las histonas del core se consigue a través de las enzimas llamadas histona acetiltransferasas (HATs)⁸¹. Sin embargo, el equilibrio de estas modificaciones se logra mediante la acción orquestada de las HATs y una especie más de enzimas, es decir, las histona desacetilasas (HDACs)^{79,81,119}.

Con la excepción de la histona H2A, las histonas del core son acetiladas en 4 a 5 sitios. Por lo tanto, un nucleosoma tiene 26 sitios de acetilación¹¹³ (Figura 9). La acetilación en la H3K56 (H3K56Ac) es importante para el mantenimiento de la estabilidad del genoma⁴⁰, ya que puede alterar la estabilidad del nucleosoma, lo que contribuye a la inestabilidad del genoma. La acetilación de H4K16, evita la condensación de los arreglos de nucleosomas en fibras de cromatina¹¹⁶.

En general, como se menciona anteriormente, la acetilación y desacetilación de las histonas, está asociada a la descondensación y condensación de la cromatina, proporcionando una accesibilidad o no de ésta y así dando lugar a una activación o silenciamiento transcripcional respectivamente^{11,23,80}.

14.1. MAQUINARIA ENZIMÁTICA DE LA ACETILACIÓN DE HISTONAS

14.1.2. Histona acetiltransferasas (HATs)

Hay dos tipos de HATs: HATs tipo-A, que son responsables de la acetilación de las histonas y están directamente implicadas en la regulación del ensamblaje de la cromatina y la transcripción génica; HATs tipo-B, que son proteínas citoplásmicas que catalizan la acetilación de las histonas en el citoplasma, particularmente la lisina 5 y 12 de la histona H4⁸¹.

14.1.3. Histona desacetilasas (HDACs)

Las HDACs humanas se agrupan en tres clases, es decir, HDAC I, II y III. Las HDACs de clase I (HDAC-1, 2, 8 y 11) son homólogas a yRPD3 (proteína dependiente del potasio



Epigenética

reducida 3). Las HDACs de clase II son homólogas a yHDA1 (histona desacetilasa 1) y se subdividen en dos subclases IIa (HDAC-4, 5, 7 y 9) y su variante de empalme MITR y IIb (HDAC-6 y 10). Las HDACs de clase III son homólogas a ySIR2 de levadura (regulador de información silente 2) y no tienen ninguna homología con las proteínas de clase I y II⁸¹.

14.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA ACETILACIÓN DE HISTONAS (ACTIVACIÓN)

Los extremos N-terminales de las histonas del core contienen residuos de lisina que sirven como blancos para varias histona acetiltransferasas, que transfieren un grupo acetilo de la acetil-coenzima A (Ac-CoA) al grupo ϵ -amino de un residuo de lisina. Una hipótesis de hace mucho tiempo de cómo la acetilación de las histonas afecta la estructura de la cromatina se basa en la neutralización de la carga (eliminación de las cargas positivas) de los residuos de la lisina en la acetilación. La neutralización de la carga reduce la afinidad de la lisina al DNA (Figura 18). Se cree que esto facilita el acceso de la RNA polimerasa II y factores de transcripción a la región promotora lo que resulta en un elevado nivel de accesibilidad del DNA^{66,109}.

Epigenética

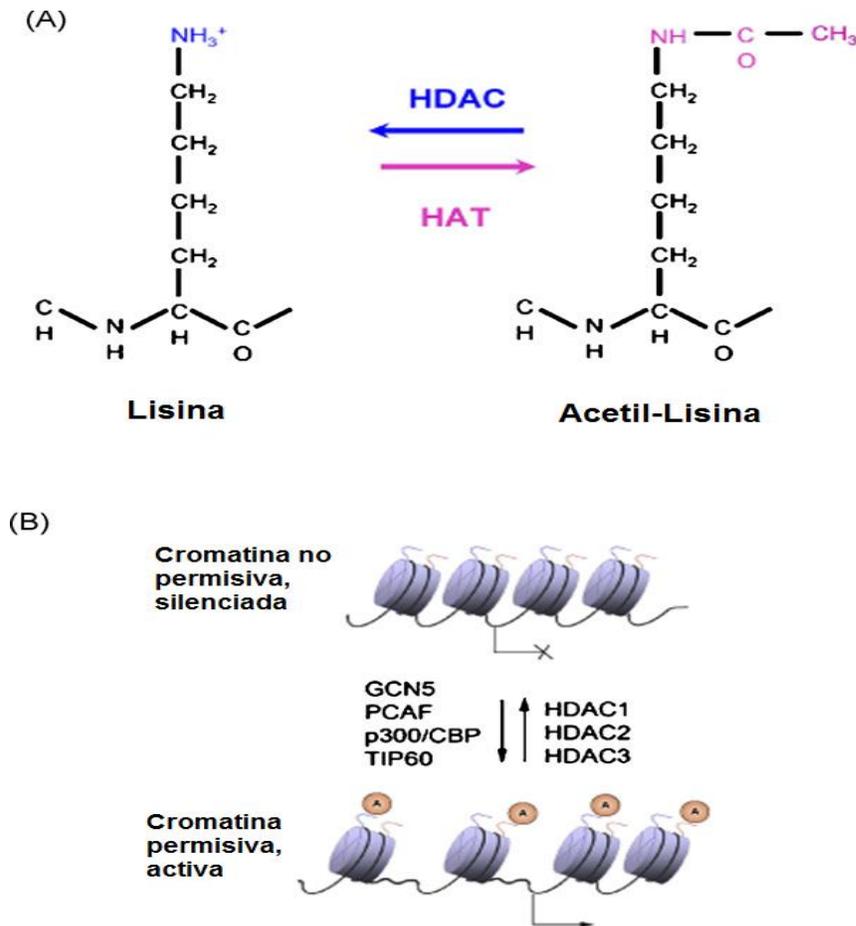


Figura 18. Acetilación de histonas. La acetilación de histonas ocurre en los extremos N-terminales de histonas y es mediada por histona acetiltransferasas (HATs). (A) Una representación de la reacción química de la acetilación de la histona. Esta reacción está mediada por HATs e implica una adición covalente del grupo acetyl en los grupos ϵ -amino de residuos de lisina evolutivamente conservados. (B) La acetilación de histonas conduce a una apertura de la cromatina transcripcionalmente permisiva. La acetilación es una modificación reversible y los grupos acetyl son removidos por varias histona desacetilasas (HDACs)¹⁰⁹.

14.3. SILENCIAMIENTO POR DESACETILACIÓN DE HISTONAS

Las HDACs, conducen a una condensación de la cromatina, lo cual está relacionado con el silenciamiento transcripcional²³, esto se puede correlacionar con la metilación del DNA¹²³, se han descubierto dos vías independientes en vertebrados que conectan la desacetilación de histonas con la 5mC. La primera utiliza proteínas de unión a metil-citosina, proteínas MeCP o MBD como adaptadores que conectan la 5mC a los complejos histona desacetilasa (complejos proteicos HDAC MBD/MeCP identificados en células de mamíferos)⁹⁸, así

Epigenética

como se mencionó anteriormente que las proteínas que contienen MBD, se cree que reclutan a las HDACs al DNA metilado, dando como resultado una estructura de la cromatina desacetilada represiva¹²³ (Figura 19).

Una segunda vía, también descubierta en mamíferos, opera a través de una interacción física entre las metiltransferasas DNMT1 de mantenimiento (se cree que actúan como correprosores independientes de su capacidad para metilar) y las HDACs. Esta interacción podría actuar para reforzar la herencia de la cromatina silenciada, facilitando la desacetilación de histonas en las horquillas de replicación⁹⁸.

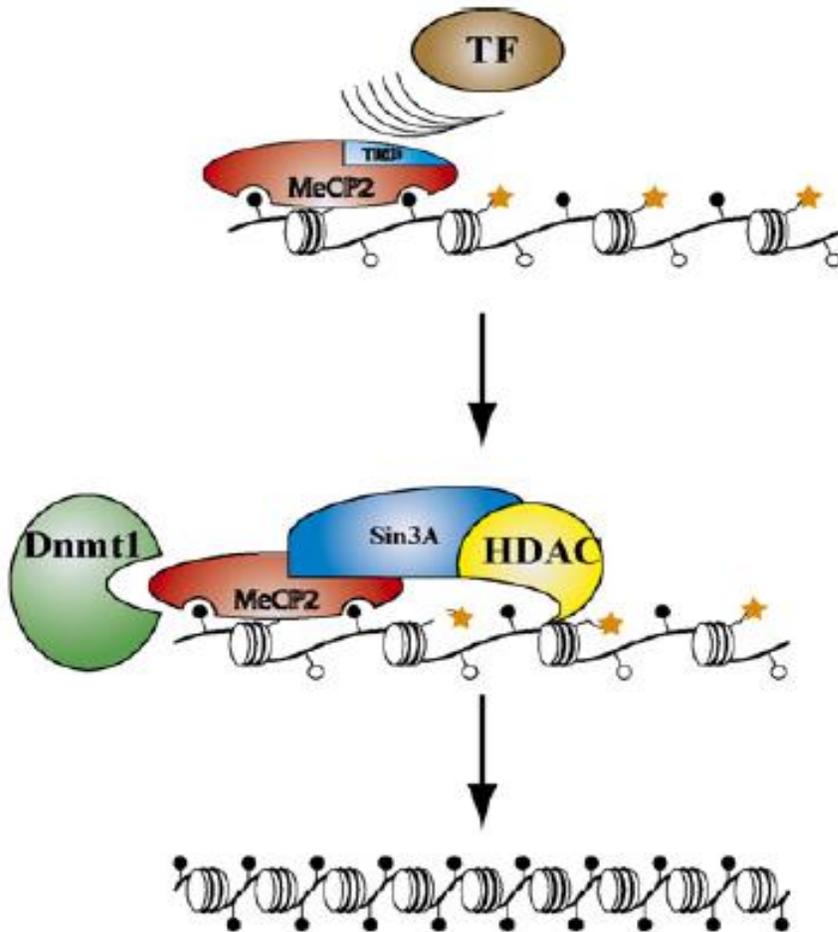


Figura 19. Silenciamiento mediante desacetilación de histonas. Las HDACs reclutadas por MBDs, desacetilan lo cual lleva a una condensación de la cromatina haciendo inaccesibles a los genes para los factores de transcripción y por lo tanto se produce un silenciamiento génico^{23,123}.



Epigenética

Tabla 4. Resumen de las principales enzimas participantes en la metilación, desmetilación, acetilación y desacetilación de histonas mencionadas^{2,72,81,91,107,137}.

ENZIMAS	FUNCIÓN
Histonas metiltransferasas con dominio SET específico de lisina	Metilación de residuos de lisinas 4, de la histona H3 9, 27 y 36.
Lisina metiltransferasas con dominio no SET	Metilación del residuo de lisina 79 de la histona H3.
Arginina metiltransferasas	Metilación de la arginina 2, 17 y 26 de la histona H3. Metilación de la arginina 3 de la histona H4.
Desmetilasa 1 específica de lisina (LSD1 o KDM1A)	Actúa como H3K4 desmetilasa. Cataliza la desmetilación de residuos de lisina monometilados y dimetilados (H3K4me2/me1).
Histonas desmetilasas que contienen el dominio catalítico Jumonji (JmjC)	Pueden desmetilar lisinas trimetiladas.
Histona acetiltransferasas (HATs)	Acetilación de residuos de lisina N-terminales de las histonas.
Histona desacetilasas (HDACs)	Desacetilación de residuos de lisina N-terminales de las histonas.

15. REMODELACIÓN DE NUCLEOSOMAS Y/O CROMATINA

Como se ha descrito hasta ahora las PTMs (modificaciones postraduccionales) de las histonas se han correlacionado con funciones definidas, tales como la regulación de genes, está claro que no sólo un tipo de PTM de histonas dicta un solo resultado. Por lo tanto, ahora parece prudente considerar a la cromatina como un compuesto de varios dominios (Figura 20). Estos dominios están caracterizados por el enriquecimiento local de una combinación específica de PTMs de las histonas, variantes de histonas, ocupación nucleosomal (espaciamiento entre nucleosomas), patrones de metilación del DNA y posiblemente la localización nuclear. Es a este conjunto de características al que se le se refiere como estructura o paisaje de la cromatina⁷².

Epigenética

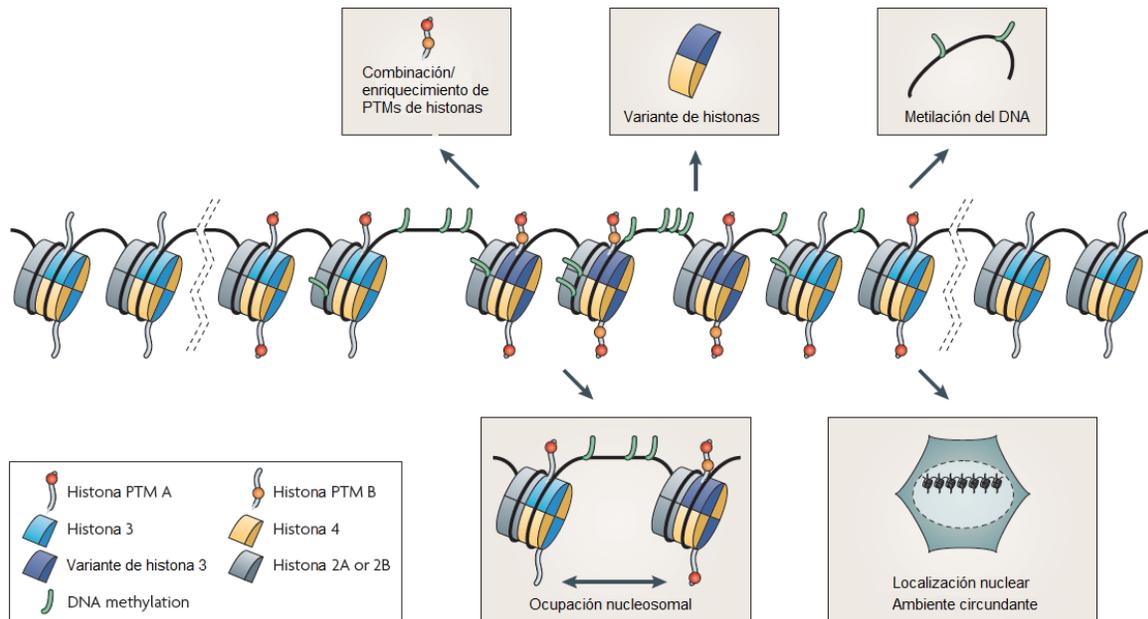


Figura 20. Características de un dominio de cromatina. Representación esquemática de las modificaciones que definen diferentes dominios de cromatina. La gama de factores que pueden contribuir a las características de un dominio se muestran en los cuadros sombreados. Las líneas discontinuas representan la separación entre dos dominios adyacentes. PTM, modificación postraduccional⁷².

Estas modificaciones postraduccionales, también pueden afectar indirectamente a las estructuras de la cromatina o paisajes de la cromatina, al servir como marcas para el reclutamiento de complejos de proteínas que remodelan la estructura del nucleosoma y/o cromatina. Los complejos remodeladores de la cromatina dependientes de ATP, tales como el complejo SWI/SNF (switch/sacarosa no fermentable), RSC y NuRF son un grupo de complejos de proteínas que pueden deslizar nucleosomas en el DNA o provocar el intercambio de las histonas. Estos complejos contienen bromodominios que reconocen y se unen a las histonas acetiladas, los cuales pueden servir para ligar el complejo SWI/SNF en los nucleosomas y también para dirigir preferencialmente a las histonas acetiladas para la evicción^{83,111,116} (Figura 21).

Epigenética

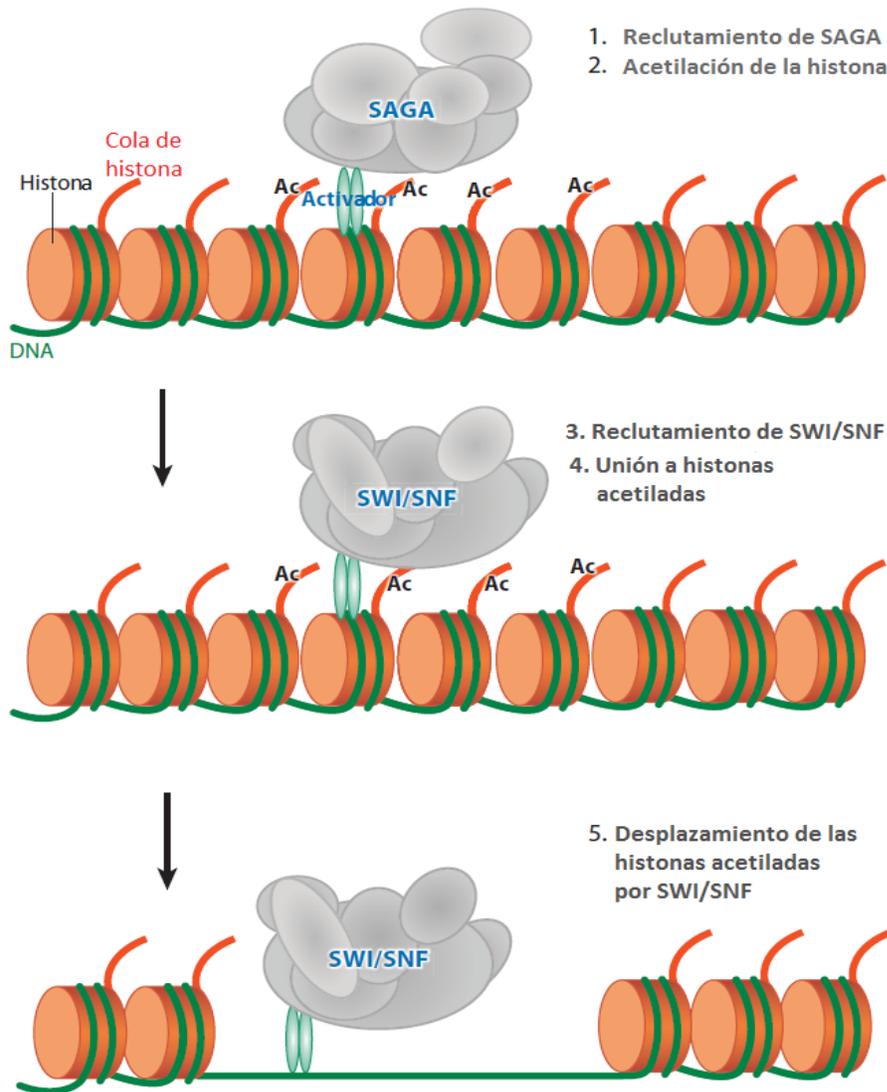


Figura 21. Generación de una región libre de nucleosomas a través de la acetilación (AC) secuencial de histonas y desplazamiento de histonas. (superior) Los activadores de transcripción unidos a DNA específicos de secuencia reclutan a SAGA histona acetiltransferasa para dirigir genes que fueron acetilados por SAGA un parche de nucleosomas en la región promotora. Los mismos activadores pueden reclutar el complejo remodelador de nucleosomas hacia el mismo sitio. (en medio) El bromodominio contenido en la subunidad Swi2/Snf2 reconoce y se une a las histonas acetiladas. (inferior) SWI/SNF utiliza la energía de la hidrólisis de ATP para desplazar preferentemente del DNA las histonas acetiladas generando una región libre de nucleosomas¹¹⁶.



Epigenética

16. CROSSTALK EN LAS MODIFICACIONES DE LAS HISTONAS

La creciente evidencia sugiere que las modificaciones de manera simultánea de las histonas pueden influir o “comunicarse” unas con otras en varios niveles⁴¹, esto es que las modificaciones de las histonas actúan de manera combinada dependiente del contexto para facilitar o reprimir la transcripción mediada por la cromatina. En algunos casos la modificación de un residuo puede alterar la capacidad de un segundo residuo para ser implementado por su(s) enzima(s) de modificación⁶⁷ (Figura 22).

Los ejemplos más tempranos de “*crosstalk*” en la modificación de las histonas (una modificación de histonas promueve la generación de otra) se observan para modificaciones en el mismo extremo N-terminal de la histona. En las levaduras de fisión *Saccharomyces cerevisiae*, la fosforilación de la serina 10 (S10) en la histona H3 mediante la Snf1 cinasa promueve la acetilación de la histona H3 en la lisina 14 (K14) por la Gcn5 acetiltransferasa (Figura 22A), potenciando la interacción de las histonas H3's con las Bmh1 y Bmh2 14-3-3 durante la metilación de arginina 17 (R17) mediante la CARM1 metiltransferasa, lo que resulta en la activación de genes de respuesta al estrógeno. Otro ejemplo bien caracterizado es el requerimiento de la monoubiquitinación de la histona H2B por la enzima Rad6 es necesaria para desencadenar metilación de la histona H3 en la lisina 4 (H3K4) por la subunidad Set1 metiltransferasa del complejo COMPASS H3K4 metilasa y la metilación de la histona H3 en la lisina 79 (H3K79) por la Dot1 metiltransferasa (Figura 22B). El complejo COMPASS metiltransferasa requiere la subunidad Cps35 para metilar a H3K4. Sin embargo, Cps35 sólo se asociará con el complejo COMPASS cuando se une a la cromatina que contiene a la H2B ubiquitinada (UbH2B)^{67,115}.

Epigenética

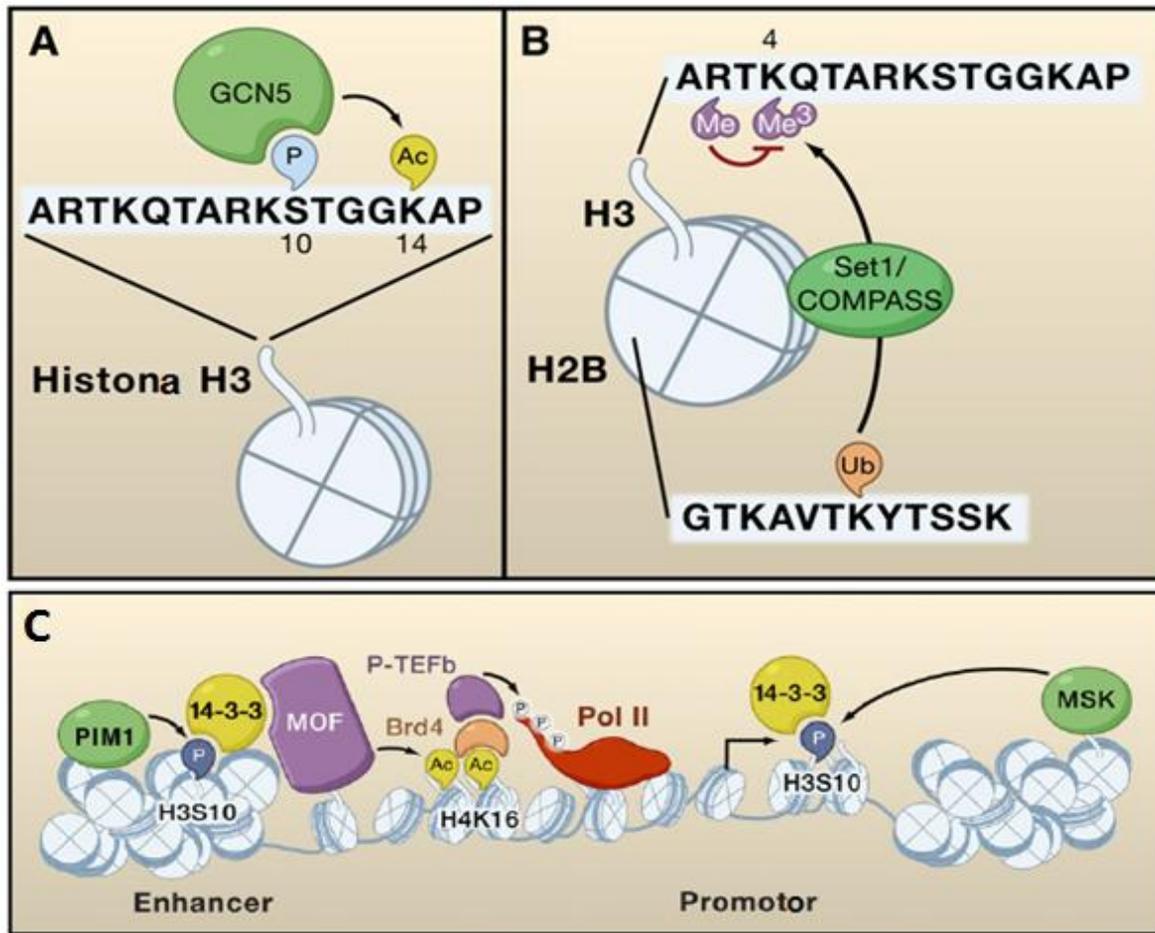


Figura 22. Ejemplo de crosstalk de histonas. (A) El primer ejemplo caracterizado de crosstalk de histonas es la estimulación de la actividad acetiltransferasa de GCN5 hacia la cola de la histona H3 mediante la previa fosforilación (P) de la serina 10. Acetilación, Ac. (B) El crosstalk entre las modificaciones de histonas puede abarcar más de una histona. La monoubiquitinación de la histona H2B en lisina 120 de la hélice C-terminal puede llevar a la trimetilación de lisina 4 en la cola de la histona 3 (H3K4) por Set1/COMPASS. Sin embargo, la metilación de H3K4 por COMPASS y complejos tipo-COMPASS puede ser bloqueada si la arginina cercana de H3 ya está metilada⁶⁷. (C) Zippo y colegas descubrieron una nueva forma de crosstalk de histonas mediante el estudio del control transcripcional de FOSL1, un gen activado en respuesta a suero. La activación requiere la unión de PIM1 al potenciador (*enhancer*) FOSL1. PIM1 es una quinasa responsable de la fosforilación (P) de la serina 10 en el extremo N-terminal de la histona H3 (H3S10). La H3S10 fosforilada crea un sitio de unión para 14-3-3, una proteína de unión a fosfoserina. La acetilación (Ac) de lisina 16 en el extremo N-terminal de la H4 (H4K16) ocurre a través de la interacción de 14-3-3 con la histona acetiltransferasa MOF. La H4K16 acetilada puede a su vez formar un sitio de unión para la proteína Brd4 que contiene bromodominio, un componente de⁶⁷ P-TEFb, una quinasa que fosforila el dominio C-terminal^{67,110} de la RNA Pol II para facilitar la elongación de la transcripción. Sin embargo, en una etapa anterior de la estimulación con suero, una quinasa MSK1/2 es reclutada hacia el promotor donde se fosforila la H3S10. 14-3-3 es entonces reclutada hacia el promotor, pero a diferencia de la situación en el potenciador (*enhancer*), MOF no es reclutado hacia el promotor. De este modo, el momento, ubicación y quizás la identidad de la quinasa H3 y no solo la modificación de H3S10, determina los eventos río abajo⁶⁷.

Epigenética

Otros ejemplos de dos enzimas modificadoras de histonas en el complejo macromolecular MLL3/4 Set1-H3K4 metiltransferasa (Figura 23), se puede encontrar en los complejos de silenciamiento transcripcional del grupo Polycomb (PcG). Como se mencionó anteriormente, los complejos de silenciamiento PcG consisten de tres complejos proteicos separados: PcG, PRC1, PRC2 y PhoRC que ensamblan y coordinan en la cromatina la ubiquitinación de la histona H2A en la lisina 119 (H2AK119) y la metilación de H3K27^{115,116}.

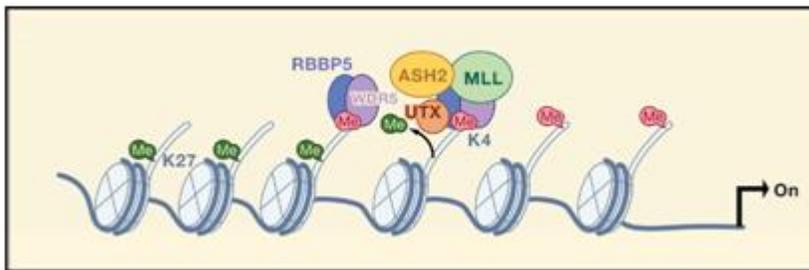


Figura 23. “Crossregulación” entre las modificaciones de histonas. Se muestra un complejo que contiene enzimas desmetilasas y metiltransferasas que coordinan la remoción de una marca represiva –metilación de la histona H3 en lisina 27 (H3K27)– con la formación de una marca activadora –metilación de la histona H3 en lisina 4 (H3K4)–. El complejo MLL3/4 Set1-H3K4 metiltransferasa es reclutado por proteínas con dominio WD40 (WDR2 y RBBP2) que reconocen la H3K4 en regiones activas de los genes Hox. La subunidad UTX del complejo desmetilasas H3K27 di y trimetilado¹¹⁵.

De acuerdo con los mecanismos mencionados anteriormente, se puede apreciar una cooperatividad entre los modificadores de la cromatina, lo cual es probable que sea una consecuencia de la exclusividad mutua en algunas PTMs en un residuo definido de las histonas. Por ejemplo, la acetilación y la metilación no pueden ocurrir en el mismo residuo, por lo tanto las HDACs se han encontrado que están asociadas con las histonas metiltransferasas, por ejemplo SUV39H1 se asocia ya sea con la HDAC1 o con sirtuin 1⁷² (SIT1)⁶. Sin embargo, la cooperatividad también podría ocurrir por el mismo tipo de modificación en un residuo en particular, por ejemplo SUV39H1 y SUV39H2 dimetilan a las H3K9 y H4K20 y SUV4-20H1 y SUV-20H2 trimetilan a las H3K9 y H4K20, pero cada una de estas histonas requiere de un sustrato monometilado⁷².



Epigenética

17. IDENTIDAD CELULAR

El desarrollo adecuado de los organismos multicelulares implica la especificación de distintos tipos de células⁷². En esta especificación participan mecanismos epigenéticos que regulan la transición de la totipotencia a la pluripotencia¹¹⁷, siendo las células madre (*stem cells*) embrionarias (ESCs) pluripotentes, las que tienen la capacidad de diferenciarse en diferentes linajes de células del organismo en desarrollo y adulto, necesarios para la integridad y función de los tejidos^{109,133}. A pesar de tener secuencias genómicas idénticas, diferentes tipos de células presentan sustancialmente diferentes perfiles y expresión génica, y su identidad celular debe ser conservada durante la división de células somáticas. Ahora se sabe que la clave es epigenética: la información⁷² estable y heredable⁸⁹ que es distinta de las secuencias de DNA y fomentada por mecanismos especializados, de los cuales solo la metilación del DNA se ha demostrado que se hereda establemente entre las divisiones celulares⁷².

Aproximadamente el 60% de los genes humanos están asociados con islas CpG^{15,128}, de las cuales no están metiladas la gran mayoría en todas las etapas del desarrollo y en todos los tipos de tejidos¹⁵, de tal modo que el grado de metilación de los dobletes CpG varía entre los tejidos⁵⁴.

Varios estudios sobre histonas han indicado que los mamíferos poseen diferentes proporciones de especies metiladas de lisina y arginina, dependiendo del tipo de célula o tejido de origen².

El potencial de diferenciación de múltiples linajes requiere plasticidad del genoma lo que permite la múltiple diferenciación. Hay estudios, donde los resultados sostienen que la pluripotencia de la células madre pueden ser definidos mediante patrones específicos de acetilación y metilación de histonas, donde los loci específicos de linaje son accesibles para la maquinaria de transcripción, pero los cuales no son expresados debido a la presencia de las marcas de histona que se oponen¹⁰⁹.



Epigenética

18. REPROGRAMACIÓN EPIGENÉTICA EN CÉLULAS GERMINALES PRIMORDIALES (PGCS)

La reprogramación epigenética, se piensa que permite a las células germinales primordiales (PGCs) readquirir un estado pluripotente estable, y un genoma “blanco” para establecer las improntas específicas del sexo del embrión¹⁹.

Las PGCs son un pequeño grupo de células en el embrión temprano que están destinadas a tener la capacidad para servir como células germinales y por lo tanto, someterse a una reprogramación epigenética¹¹⁶.

Esta reprogramación en todo el genoma ocurre en el desarrollo de mamíferos en dos distintas etapas: en PGCs principalmente una vez que han alcanzado las gonadas embrionarias (día embrionario E10.5 a E13.5, la tasa de cambios epigenéticos aumenta rápidamente y en el caso de la desmetilación del DNA es completada en días)^{19,38}, y en el inicio temprano del embrión en el cigoto inmediatamente después de la fertilización y se extiende hasta el estadio de morula de desarrollo preimplantacional ([Figura 24](#)). Esta reprogramación implica el borrado diferencial de la metilación del DNA, la pérdida de modificaciones de las histonas (así como pérdida de histonas y variantes de histonas, tales como la histona enlazadora H1 y H2A.Z), por ejemplo una pérdida de la H3K27me2 y H3K9ac entre otras^{38,116}.

Epigenética

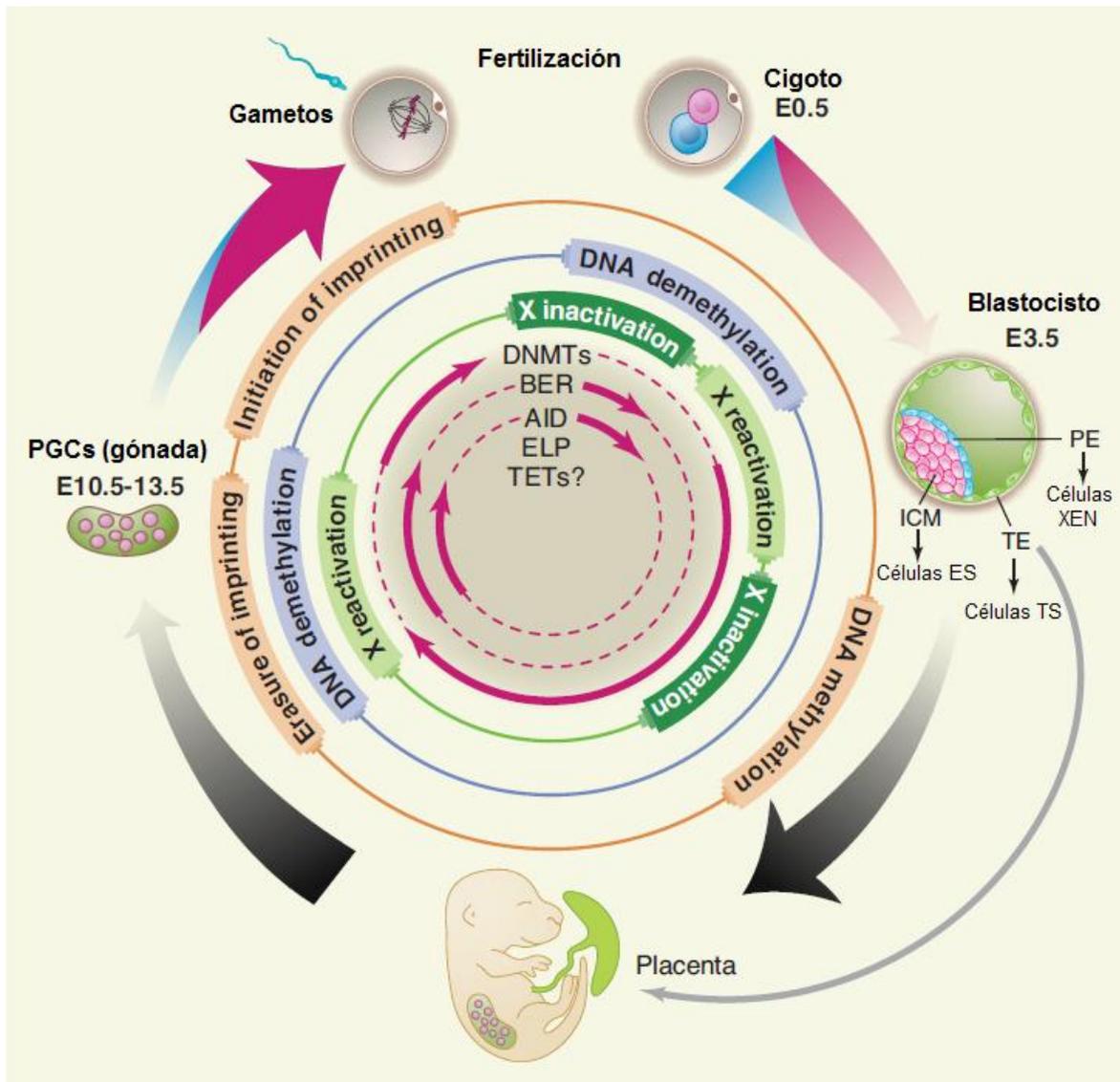


Figura 24. Las dos fases principales de borrado de la metilación en todo el genoma en embriones tempranos y en células germinales primordiales (PGCs) del ratón. El grosor de las flechas exteriores indica los niveles de metilación del DNA. El rojo, el genoma materno; el azul, el genoma paterno. Después de la fecundación, el genoma paterno es más rápidamente desmetilado que el de un materno. Durante la gametogénesis, la metilación de novo en la espermatogénesis ocurre antes que en la ovogénesis. El círculo interior muestra los factores o factores candidatos que están implicados en la metilación de novo, el mantenimiento de la metilación y desmetilación, respectivamente. Las flechas continuas en el círculo interior muestran en qué momento del desarrollo éstos reguladores epigenéticos se cree que actúan. Las células ES, células TS y las células XEN son líneas de células madre que se derivan de la masa celular interna (ICM), el trofoblasto (TE) y el endodermo primitivo (PE) del blastocisto, respectivamente³⁸.



Epigenética

19. RNA DE INTERFERENCIA (RNAi)

19.1. RNA NO CODIFICANTE EN LA REGULACIÓN EPIGENÉTICA

19.1.1. RNA no codificante (ncRNA)

Otro mecanismo no menos importante que los mencionados anteriormente, es el silenciamiento epigenético de la transcripción mediado por RNA no codificante en el cual esta implicado el RNA de interferencia (RNAi)¹³⁴.

La regulación génica mediada por RNA tiene sus orígenes en los primeros días de la biología molecular, cuando se propuso por primera vez que la secuencia específica de RNA no codificante (ncRNA) podría interactuar con promotores para regular los genes. Las pistas importantes de los mecanismos reguladores del ncRNA fueron el silenciamiento de genes dependientes de homología en las plantas, que puede ser provocado por transgenes y virus recombinantes¹³⁴.

Las clases de transcritos no codificantes se pueden dividir en RNAs no codificantes de limpieza y RNAs no codificantes reguladores. Entre los RNAs no codificantes reguladores están los microRNAs, RNAs de interferencia y los RNAs asociados a PIWI. La mayoría se transcribe, pero no codifican proteínas⁹².

La mayoría de los ncRNAs implicados en el silenciamiento génico son, o se sospecha que son sintetizados por RNA Pol II¹³⁴.

Uno de los primeros ejemplos descubiertos y mejor caracterizados de un ncRNA que media los cambios en la estructura de la cromatina y expresión génica es HOTAIR, un transcrito no codificante de 2.2 kb hecho a partir del locus HOXC en el cromosoma 12⁶⁴ (Figura 25).

Epigenética

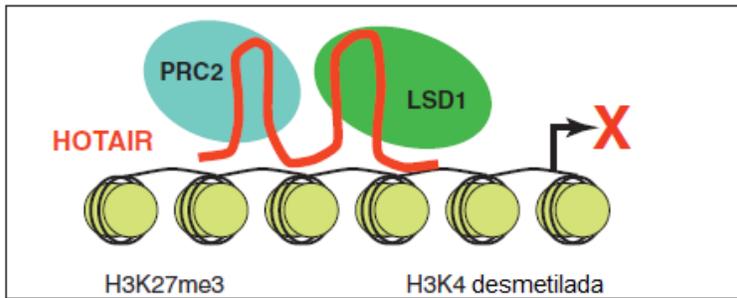


Figura 25. Los ncRNAs que regulan la estructura de la cromatina. HOTAIR reprime la transcripción mediante el reclutamiento de complejos modificadores de cromatina a regiones específicas del genoma. HOTAIR actúa como un andamio que simultáneamente puede unir PRC2 y LSD1, que metila a H3K27 y desmetila a H3K4, respectivamente⁶⁴.

El largo ncRNA HOTAIR, se dirige a PRC2 (complejo represor Polycomb 2) para silenciar el gen HOXC y otros genes. Un dominio 5' de HOTAIR se une a PRC2 con EZH2 (enhancer de zeste 2) y un dominio 3' de HOTAIR se une a LSD1-CoREST [desmetilasa 1 específica de lisina–correpresor para el factor de silenciamiento de transcripción RE1 (REST)]^{50,116} (Figura 26).

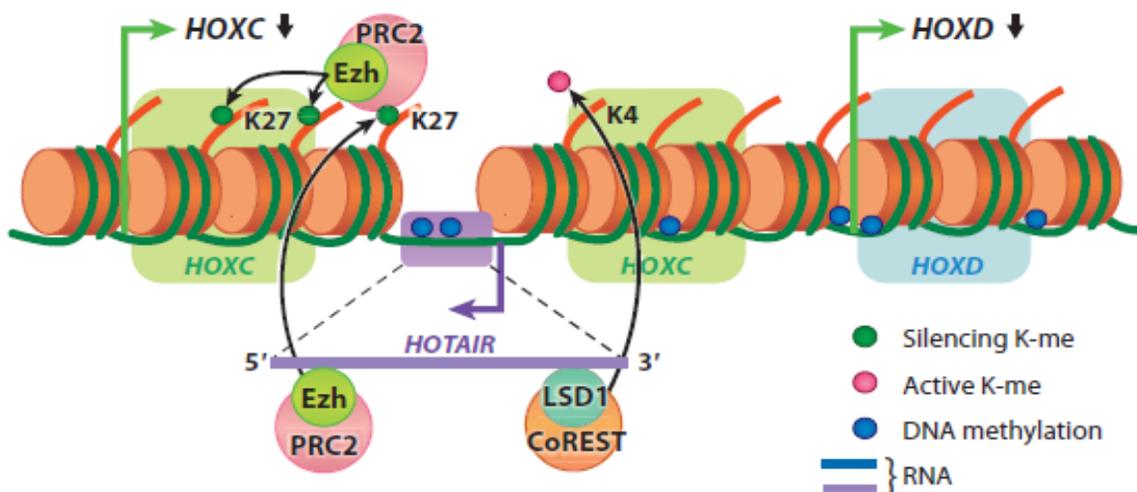


Figura 26. Silenciamiento por ncRNA. El largo ncRNA intergénico HOTAIR (RNA intergénico antisentido HOX) (barra de color púrpura) se transcribe desde el locus HOXC y se dirige hacia PRC2 para silenciar al locus HOXD. El dominio 5' de HOTAIR se une a Ezh2 como el PRC2 y el dominio 3' de HOTAIR se une al complejo LSD1 (H3K4me1/me2 desmetilasa)-CoREST [factor de silenciamiento de transcripción RE1 (REST)]. Análisis de ChIP en todo el genoma mostró que el loci rico en CG unido a CoREST dependiente de HOTAIR está enriquecido en la isla CpG enriquecida de Ezh (fosfodiéster unido entre la citosina y la guanina en el DNA), lo que sugiere que el motivo rico en CG sirve para el reclutamiento de la desmetilación LSD1-K4 dependiente de HOTAIR hacia sitios unidos a PRC2 para el silenciamiento de genes HOXC¹¹⁶.



Epigenética

19.1.2. RNA de interferencia (RNAi)

El RNA de interferencia (RNAi) es un proceso de silenciamiento postranscripcional de secuencia específica iniciado por el RNA de doble cadena⁴⁴ que proviene de la propia célula (microRNA o miRNA, una clase de pequeños RNAs no codificantes) o del exterior de la misma (pequeño RNA de interferencia o siRNA)^{29,16,87,101}. Este proceso de silenciamiento fue descubierto por primera vez en el nemátodo *Caenorhabditis elegans*^{27,44,101} y se conserva en gran variedad de organismos, incluyendo plantas (*Arabidopsis thaliana*), artrópodos (*Drosophila melanogaster*) y mamíferos (como ratas)⁴⁴. El proceso que tiene como protagonista al RNAi consiste en el silenciamiento específico de la expresión de determinados genes por fragmentos cortos de RNA de doble cadena (dsRNA) (descrito más adelante)³¹.

19.1.2.1. RNAi en invertebrados

Los estudios para determinar los mecanismos involucrados en el RNAi se realizaron principalmente en el nemátodo *Caenorhabditis elegans* y en la mosca de la fruta *Drosophila*, introduciendo dsRNA de ~500 nucleótidos (dsRNA “largos”). Como primer paso, el dsRNA largo es reconocido por la RNasa de tipo III llamada Dicer. A continuación, Dicer escinde el dsRNA en RNA pequeños de doble cadena (siRNA) de 22-25 nucleótidos de largo con 2-3 nucleótidos no apareados en el extremo 3' de cada hebra, un grupo fosfato en el extremo 5' y un grupo hidroxilo en el extremo 3'. Estos siRNAs son reclutados por el complejo proteico de silenciamiento inducido por RNA (RISC). RISC separa las hebras del siRNA y utiliza la hebra anti sentido como guía para reclutar la molécula del mRNA que presenta la secuencia complementaria (mRNA blanco). A continuación RISC (complejo proteico de silenciamiento inducido por RNA) escinde el mRNA, el cual es rápidamente degradado⁸⁷.

19.1.2.2. RNAi en mamíferos

Identificado por primera vez como un mecanismo antiviral conservado evolutivamente, el RNAi surge como un proceso natural de regulación de la expresión de genes en eucariotas⁸⁷.



Epigenética

En mamíferos no existen evidencias de la generación natural de siRNA a partir de dsRNA largos de origen exógeno en células somáticas de mamíferos, pero se ha demostrado la existencia de RNA pequeños de doble cadena (~22 nucleótidos) de origen endógeno (microRNAs o miRNAs), estructuralmente similares a los siRNAs⁸⁷. La regulación de genes endógenos en células de mamíferos se produce a través de la producción de moléculas cortas de RNA de doble cadena (miRNA). Estas moléculas se producen primero como precursores por la RNA polimerasa II^{44,70} y a continuación se procesan a fragmentos progresivamente más pequeños por nucleasas específicas⁴⁴. Una RNA polimerasa II transcribe el gen para el miRNA dando lugar a a transcritos primarios llamados miRNA primario o pri-miRNAs (~60-100 nucleótidos) con estructura de “*hairpin*”, en el núcleo celular. Los transcritos primarios contienen una región conocida como estructura “*stem-loop*”, que es reconocida en el núcleo por el complejo Drosha-DGCR8, el cual escinde el pri-miRNA y produce el miRNA precursor o pre-miRNA (~70 nucleótidos) con estructura de “*hairpin*”, un grupo fosfato en el extremo 5' y dos nucleótidos no apareados en el extremo 3'. A continuación, el pre-miRNA es exportado del núcleo al citoplasma por la exportina 5 (XPO5). En el citoplasma, la ribonucleasa Dicer (junto con TARBP2) escinde el pre-miRNA cerca del “rizo” para producir finalmente el miRNA maduro de ~22 nucleótidos, el cual se combina con el complejo RISC^{70,87}. Una vez incorporado al complejo RISC, el miRNA⁸⁷ o el dúplex final de RNA posee una cadena, que es altamente, pero no preferentemente, complementaria a uno o más mRNAs diana. Esta complementariedad conduce al ensamblaje de un complejo RNA-proteína en el mRNA diana, que a su vez, evita que éste último sea traducido. De forma importante, la introducción de dúplex de RNA con perfecta homología para el blanco, resulta predominantemente en su degradación⁴⁴ (Figura 27).

Epigenética

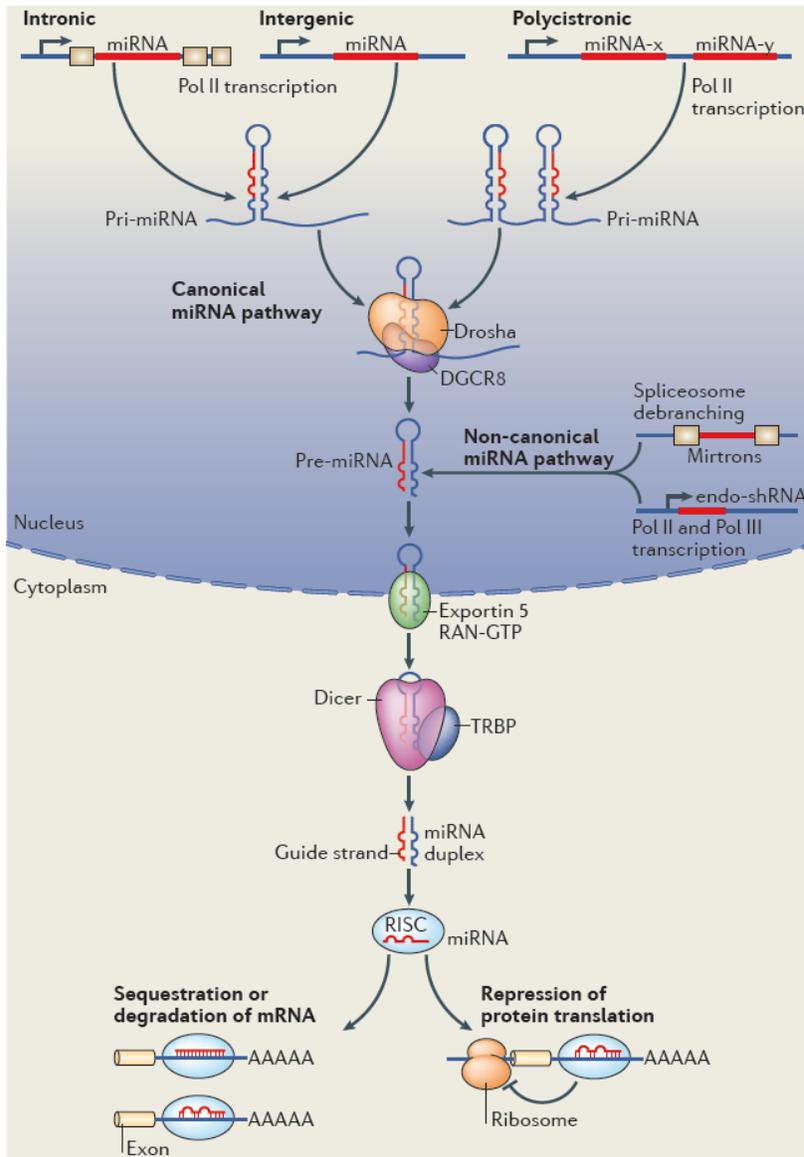


Figura 27. La vía de biogénesis del miRNA. Los microRNAs (miRNAs) generados por la vía de la biogénesis canónica son transcritos como precursores de loci genómico intergénicos, intrónicos o policistronicos por la RNA polimerasa II (Pol II). El transcripto miRNA primario (pri-miRNA) forma una estructura “stem-loop” que es reconocida y procesada por la enzima Drosha y el complejo DGCR8 RNasa III o el aparato spliceosoma en el núcleo. En la vía de miRNA no canónica, los miRNAs son transcritos directamente como RNAs cortos en horquilla endógenos (endo-shRNAs) o derivados directamente a través del splicing de intrones que pueden replegarse en horquillas (mirtrons). El precursor en horquilla recortado (pre-miRNA) de ambas vías canónicas y no canónicas de miRNA es transportado por una exportina 5 y un proceso dependiente de RAN-GTP hacia el citosol, donde son por lo regular mayormente procesados por Dicer

y el complejo enzimático de la proteína de unión al RNA en respuesta a la transactivación (TRBP) RNasa II para formar el miRNA de doble cadena de aproximadamente 22 nucleótidos. Las proteínas argonata (por ejemplo, AGO2, no mostradas) luego desenrollan el dúplex miRNA y facilitan la incorporación de la cadena guía del miRNA en el complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC) que contiene AGO. El ensamblaje RISC-miRNA se guía a secuencias blanco específicas en los mRNAs. El reconocimiento inicial de mRNAs por el complejo RISC-miRNA es conducido por el apareamiento de base Watson-Crick de 2 a 8 nucleótidos en el miRNA principalmente localizados en la región 3' no traducida y adicionales apareamientos de base proporcionan una mayor afinidad y eficiencia en la orientación.¹⁰¹

A diferencia de los invertebrados, la introducción de dsRNA largos en células somáticas de mamíferos induce la activación de la respuesta antiviral por la producción de interferón (IFN), la cual produce la inhibición general de la traducción y la apoptosis celular. La



Epigenética

producción de IFN activa la expresión de varios genes, incluyendo la expresión de la proteincinasa dependiente de RNA (PKR), ésta PKR reconoce dsRNAs y a continuación fosforila e inactiva al factor de iniciación 2 (eIF- α), inhibiendo así la traducción del mRNA de forma generalizada⁸⁷.

En general, los miRNAs son reguladores pleiotrópicos de la expresión génica y al igual que los factores de transcripción, juegan un papel importante en los procesos de supresión tumoral y la transformación oncogénica^{44,87}.

19.1.2.3. RNAi en la metilación de histonas

El establecimiento y mantenimiento de la heterocromatina es algo regulado por la maquinaria del RNA de interferencia (RNAi) y factores de transcripción⁷².

El RNAi actúa principalmente de forma postracripcional, pero los componentes de la maquinaria RNAi también pueden estar implicados en procesos nucleares conduciendo a la formación de heterocromatina mediado por RNA, haciéndose referencia a éste como RNAi nuclear, y parece ser un mecanismo epigenético natural de regulación génica. Este mecanismo está presente en la mayoría de los eucariotas y controles de cambios heredables en la expresión génica que no son causados por mutaciones. Dependiendo del organismo, el RNAi nuclear puede realizar procesos específicos, p.ej., la metilación del DNA y/o amplificación del RNA¹²⁷.

Como ejemplo de metilación se tiene que en *S. pombe*, la delección de Clr4 (la H3K9 metiltransferasa) elimina la generación de pequeños RNAs de interferencia (siRNAs), revelando un bucle de auto-ejecución e interdependencia de la metilación de histonas y la vía del RNAi. La unión del complejo de iniciación inducida por RNA del silenciamiento transcripcional de genes (RITS) a centrómeros requiere la metilación de H3K9 y la presencia de los factores de cromatina Swi6 y HPI¹¹⁵. También en *S. pombe*, Dicer (*dcr1*), RdRp (*rdp1*) y Argonauta (*ago1*) son necesarios para la formación de heterocromatina⁴⁷.

Entre los organismos modelo que permiten los estudios genéticos y bioquímicos para descubrir mecanismos de silenciamiento transcripcional, anteriormente descritos, los cuales están implicados con las modificaciones del DNA, de las histonas y con el RNAi, se



Epigenética

encuentran el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, hongos y células de mamíferos, así como en las plantas¹³⁴, de los cuales, las células de mamíferos, se tomó como modelo para describir los mecanismos epigenéticos anteriormente mencionados.

20. EL AMBIENTE Y LA EPIGENÉTICA

20.1. INFLUENCIA DEL AMBIENTE EN LA EPIGENÉTICA

La mayoría de los factores ambientales no pueden modificar la secuencia del DNA, pero pueden influir en el epigenoma. La estabilidad mitótica del epigenoma y la habilidad del ambiente epigenético para influir en la variación fenotípica y en la enfermedad, sugiere que el ambiente epigenético podría tener un papel crítico en la etiología de la enfermedad¹¹².

Los agentes ambientales, como las toxinas tales como el humo del cigarrillo, los metales, así como la nutrición, el estrés, afectan el epigenoma y el desarrollo de tumores y se ha informado que alteran los patrones de metilación del DNA^{36,55}.

La exposición a una amplia variedad de xenobióticos, p.ej., dietilestibesterol (DES), durante el período crítico del desarrollo de los mamíferos puede persistentemente alterar los patrones de metilación conduciendo a la expresión aberrante de genes. La exposición perinatal del DES, una de las hormonas ambientales que poseen actividad estrogénica, se ha encontrado que induce tumores epiteliales en el útero de ratones. Las mujeres que se exponen al DES con el fin de prevenir el aborto involuntario durante los primeros tres meses del embarazo tienen cambios en los tejidos y/o estructura de sus úteros, cérvix o vagina que las ponen en un alto riesgo de desarrollar cáncer de estos órganos más adelante en la vida. Recientemente, se ha demostrado que el xenoestrógeno induce la represión epigenética de microRNA-9-3, que contiene el progenitor. Además, la represión epigenética mediada por estrógenos se ha demostrado que esta asociada con grandes regiones cromosómicas a través de un enlazamiento con el DNA; junto con la adquisición de la metilación del DNA y modificaciones represivas de la cromatina en el loci 16p11.2⁵⁵.



Epigenética

21. EL CÁNCER Y LA EPIGENÉTICA

Desde se que describió un patrón alterado de la metilación del DNA en el cáncer (1983), una gran cantidad de estudios reportaron patrones aberrantes epigenéticos, acompañados por silenciamiento de genes supresores de tumores^{9,105} (Tabla 5) y otros genes asociados a cáncer en una variedad de cánceres humanos. A pesar de su presencia casi universal, se ha debatido, hasta hace poco, si los eventos epigenéticos juegan un papel causal directo en el desarrollo y progresión del tumor, o si son simplemente una consecuencia de fenotipo anormal de las células cancerosas. Sin embargo, muchas líneas de evidencia sostienen que los mecanismos epigenéticos juegan un papel directo y causal en prácticamente todas las etapas del desarrollo del tumor. Esto se ejemplifica en los estudios que muestran la desregulación epigenética de genes supresores de tumores (tales como los genes *RBI* y *VHL*) en los casos familiares de determinados tipos de cáncer y la inactivación epigenética del gen *hMLH1* de reparación de desajustes en los casos esporádicos de cáncer de colon^{102,105}.

Epigenética

Tabla 5. Genes supresores de tumor con expresión silenciada por metilación de su promotor⁴⁵.

Gen	Nombre del gen	Tipo de tumor	Función	Referencias
<i>p14</i>	Inhibidor de cinasa 2a dependiente de ciclina (CDKN2A), beta	Cáncer colorrectal	Inhibidor de ciclina dependiente de cinasa	Esteller 2000; Fulda 2001
<i>p15</i>	Inhibidor de cinasa 2b dependiente de ciclina	Hematológicos	Inhibidor de ciclina dependiente de cinasa	Li 1995; Tien 2001
<i>p16</i>	Inhibidor de cinasa 2a dependiente de ciclina (CDKN2A), alfa	Tumores sólidos	Inhibidor de ciclina dependiente de cinasa	Belinsky 1998; García 1999; Shim 2000
<i>BRCA-1</i>	Gen del cáncer de mama 1	Mama, ovario	Reparador del ADN	Magdinier 1998; Catteau 1999
<i>E-Cad</i>	Cadherina epitelial	Mama, gástrico	Adhesión intercelular	Zochbauer-Muller 2001; Garinis 2002
<i>APC</i>	Poliposis adenomatosa	Cáncer colorrectal, gástrico	Interacciona con betacatenina	Esteller 2000
<i>MLH1</i>	Homólogo humano de MutL. de <i>Escherichia coli</i> .	Cáncer colorrectal, gástrico	Reparador del ADN	Myohannen1998
<i>VHL</i>	Von Hippel-Lindau	Renal	Angiogénesis	Prowse 1997
<i>p73</i>	Proteína tumoral p73	Linfoma	Ciclo celular	Ping Siu 2002
<i>MGMT</i>	O-6-metilguanina-ADN metiltransferasa	Cáncer colorrectal, gástrico, linfoma	Reparador del daño de ADN	Oue 2001
<i>pRb</i>	Retinoblastoma	Glioblastoma ⁷	Ciclo celular	Nakamura 2001
<i>TIMP3</i>	Inhibidor tisular de metaloproteinasas 3	Cáncer colorrectal, renal	Inhibe las metaloproteinasas de tejido	Esteller 2001
<i>DAPK1</i>	Proteincinasa asociada a muerte celular	Cérvix	Apoptosis por IFN	Dong 2001
<i>ER</i>	Receptor de estrógenos	Vejiga urinaria	Receptor	Habichi 2001
<i>p53</i>	Proteína tumoral p53	Hígado	Inhibidor del ciclo celular	Pogribny 2002
<i>RASSF1A</i>	<i>Ras association domain family protein 1</i>	Nasofaríngeo, ovario, riñón	Homólogo del efector RAS	Kwong 2002
<i>RARB2</i>	Receptor del ácido retinoico beta 2	Nasofaríngeo	R de ácido retinoico	Kwong 2002
<i>COX-2</i>	Ciclooxigenasa 2	Gastrointestinal	Síntesis de prostaglandinas	Kikuchi 2002
<i>CASP 8</i>	Caspasa 8	Meduloblastoma	Proteasa proapoptótica	Zuzak 2002
<i>EDNI</i>	Endotelina 1	Pulmón	Vasoconstrictor	Takai 2001

Notablemente, numerosos tumores humanos (p.ej., tumores sólidos, linfoma, entre otros) presentan alteraciones en los procesos epigenéticos, y la metilación aberrante del DNA es actualmente el sello de patologías como el cáncer, las células cancerosas se caracterizan tanto por pérdida global como específica de genes de la metilación del DNA, así como la hipermetilación de promotores específicos. La metilación del DNA, por lo tanto, es vital para la expresión génica durante el desarrollo normal y en la etiología de la enfermedad (p.ej., el cáncer colorrectal)⁸⁴.

La mayoría de las islas CpG se encuentran en las regiones promotoras proximales de casi la mitad de los genes en el genoma de los mamíferos y están^{58,120}, generalmente, no metiladas⁷ en células normales. En el cáncer, sin embargo, la hipermetilación de estas regiones promotoras y a intrones reguladores, particularmente, en genes supresores de tumores es



Epigenética

ahora el cambio epigenético mejor categorizado que ocurre en tumores; se encuentra prácticamente todo tipo de neoplasias humanas y se asocia con el inapropiado silenciamiento transcripcional de genes. Sorprendentemente, la hipermetilación del promotor es al menos tan común como la disrupción de genes supresores de tumores clásicos en el cáncer humano por mutación y posiblemente más. Casi el 50% de los genes que causan formas familiares de cáncer cuando hay mutación en la línea germinal se sabe que sufren silenciamiento asociado a metilación en varias formas esporádicas de cáncer. Además, hay una creciente lista de candidatos de genes supresores de tumores que están silenciados por la hipermetilación del promotor en ciertos tipos de cáncer. La hipermetilación del promotor es el único mecanismo para la pérdida de la función de muchos de estos genes en los tumores^{58,120}.

El significado funcional de la hipermetilación de promotores clave de genes supresores de tumores también puede apreciarse mediante el examen de las consecuencias de la inactivación de copias individuales de tales genes. El modelo de los dos hits de Knudson's predice que la consecuencia fenotípica de la pérdida del gen supresor de tumores que no se ve a menos que ambos alelos de un gen se inactiven en un tumor. Los resultados de varios estudios ahora muestran claramente que los tumores pueden mantener establemente mutaciones en un alelo de un gen, mientras que el otro alelo este hipermetilado, lo que conduce a la inactivación funcional del gen. De hecho, cuando uno de los dos alelos se encuentra mutado en la línea germinal de un paciente con una forma familiar de cáncer y el tumor resultante conserva ambos alelos del gen, la hipermetilación es comúnmente considerada como el segundo cambio de inactivación. Además, parece nunca estar presente en el promotor del gen mutado, pero siempre está asociado con el alelo tipo silvestre⁵⁸.

22. LA EPIGENÉTICA Y LA PREVENCIÓN DEL CÁNCER

Aunque la desmetilación de genes supresores de tumores puede tener un efecto benéfico, la disminución de la metilación de oncogenes que reactivan estos genes puede tener un efecto adverso. Sin embargo, se ha demostrado que los agentes hipometilantes ejercen actividades terapéuticas relacionadas al hecho de que células tumorales son mucho más dependientes



Epigenética

de genes silenciados para mantener su fenotipo en las células normales adultas. Así, el efecto global de la disminución de la metilación parece ser positiva⁵⁵.

Dado que en principio, las alteraciones epigenéticas son potencialmente reversibles, la utilización de blancos epigenéticos para el desarrollo de nuevos tratamientos de quimioterapia esta emergiendo como una estrategia con gran potencial¹³⁰.

Los pacientes con cáncer pueden beneficiarse del tratamiento combinado con dosis bajas de un inhibidor de la DNA metiltransferasa y un inhibidor de la histona desacetilasa⁷⁴.

El uso de inhibidores de la DNA metiltransferasa en la clínica no es nuevo: tales drogas como la azacitidina y decitabina están aprobadas para el tratamiento de pacientes con mielodisplasia. Inicialmente, estos fármacos se utilizan en su dosis máxima tolerada, a la que tienen un efecto citotóxico. Sin embargo, la modulación de la metilación del DNA por estos inhibidores es eficaz a dosis más bajas en pacientes con mielodisplasia. Los HDACIs también se utilizan en la clínica y los datos preclínicos indican que una combinación de un inhibidor de la DNA metiltransferasa y un HDACI pueden conducir a la reexpresión de genes DNA-metilados⁷⁴.

22.1. DROGAS SINTÉTICAS

22.1.1. Inhibidores de la metilación del DNA

Hay dos tipos de inhibidores de la metilación de DNA⁵⁵ (azacitidina y decitabine)¹³⁰: análogos de nucleosidos y no-nucleósidos (Tabla 6). Los análogos de nucleósidos tienen un anillo de citosina modificado, p.ej., el carbono en la posición 5 del anillo está reemplazado por un nitrógeno en el fármaco 5-azacytidina (Fig. 28). Las DNMTs transfieren un grupo metilo de la AdoMet a la posición 5 del anillo de citosina. Estos fármacos inhiben la metilación⁵⁵ y permiten la reexpresión de genes modificados (metilados)¹⁰⁹ cuando se integran en el DNA y bloquea la liberación de las DNMTs mediante la formación de un complejo covalente con estas enzimas. Se ha encontrado que tienen actividades clínicas especialmente en malignidades hematopoyéticas. Aunque la metilación aberrante de promotores se corrige por inhibidores de la metilación del DNA, una vez que se suspende la droga, la metilación aberrante del promotor y el silenciamiento génico regresan. Por lo



Epigenética

tanto, el uso prolongado de la droga es necesario con el fin de la terapia para el cáncer y aun más importante con un propósito de prevención. Debido a que estos fármacos necesitan ser incorporados en el DNA para tener efectos, las células quiescentes, p.ej., las células madre, pueden ser menos sensibles. Los análogos no-nucleósidos son pequeños inhibidores moleculares. Ellos se unen directamente a la región catalítica de las DNMTs o son oligonucleótidos antisentido de las DNMTs que suprimen la traducción. Ambos de los cuales conducen a la desmetilación del DNA sin la integración en el DNA. Estos grupos de drogas sin embargo son menos y/o no activas en los tumores sólidos⁵⁵.

Estos fármacos pueden ayudar a mejorar la resistencia a otros agentes quimioterapéuticos reactivando genes como *MLH1*¹³⁰.

Tabla 6. Efectos de la metilación del DNA e inhibidores de histona desacetilasa en pacientes⁵⁵.

Droga	Ensayo clínico y enfermedad específica	Resultados
Inhibidores de metilación de DNA-5-Azacidina (azacidina) análogo de nucleósido 5-Aza-2'-deoxicidina (decitabina)	Fase I, II, III Subtipos de síndrome de mielodisplasia Fase I, II, III Malignidades hematopoyéticas	El primer agente de desmetilación aprobado para tratamiento de síndrome mielodisplásico Mejorar la respuesta de desmetilación
Inhibidores de la metilación de DNA-Hidralazina análogos de no-nucleósido	Fase I Cáncer cervical	Desmetilar y reactivar genes supresores de tumores sin afectar la metilación global. No hay efectos relacionados con la dosis.
MC98	Fase I Tumores sólidos	-Oligonucleótido antisentido de DNMT1 humana -No se observó evidencia de actividad antitumoral.
Inhibidor histona desacetilasa-ácidos grasos de cadena corta Combinación de ácido valproico y ácido retinoico trans	Fase I Leucemia aguda mieloide en pacientes mayores	Se observó respuesta en medula en 3 pacientes. Otros dos pacientes presentaron una mejoría hematológica.
Inhibidor histona desacetilasa-ácido hidroxámico suberoilánilida (AHSA)	Fase I Tumores hematológicos y sólidos	-Aumento de histonas acetiladas -Regresión del tumor en cuatro pacientes
Inhibidor de histona desacetilasa-tetrapeptidos cíclicos. Depsipeptido (FK228)	Fase I Leucemia crónica linfocítica y leucemia mieloide aguda	Inhibe efectivamente HDAC pero no hubo respuesta parcial o completa.

Epigenética

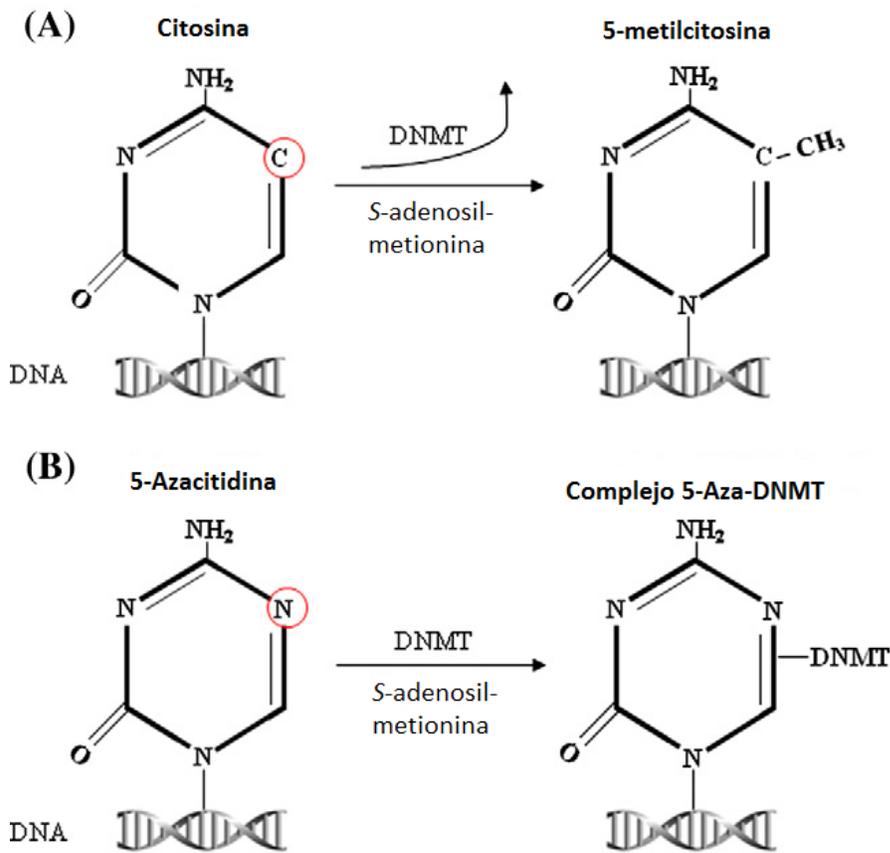


Figura 28. La metilación de citosina por las DNMTs y la inhibición de la metilación con 5-azacitidina. (A) Usando S-adenosilmetionina como el donador del grupo metilo (CH₃), las DNMTs catalizan la metilación de la posición 5 del anillo citosina. (B) La 5-axacitidina, un análogo de la citosina, es un fármaco hipometilante que puede bloquear esta reacción mediante el reemplazamiento de citosina y actúa como un inhibidor directo e irreversible de las DNMTs⁵⁵.

22.1.2. Inhibidores de la HDAC

Los inhibidores de HDAC incluyen una cadena corta de ácidos grasos, hidroxámico y tetrapéptidos cíclicos (Tabla.1). Ellos contienen diferentes grupos funcionales pero todos inhiben a la HDAC lo que conduce a la acumulación de acetilación de histonas. En combinación con el ácido trans-retinoico, el ácido valproico produce respuesta completa de la médula de pacientes mayores con leucemia mieloide aguda. Entre los inhibidores se encuentran el tricostatin A (TSA)³³, el ácido hidroxámico suberoilánilida (AHSA o SAHA por sus siglas en inglés)^{55,109} éste último es probablemente el inhibidor de HDAC de mayor éxito. El AHSA puede unirse a un ion de zinc en el dominio catalítico de la HDAC lo que resulta en la inhibición de la enzima. El tratamiento con AHSA produce buenos resultados y mejora los síntomas en pacientes con tumores hematológicos y sólidos. El LBH, un ácido cinámico hidroxámico análogo inhibidor de histonas desacetilasas, aumenta la acetilación

Epigenética



de la H2B y H3 en pacientes con neoplasias hematológicas refractarias. Además, el depsipéptido (FK228) inhibe efectivamente a la HDAC pero no produce respuesta parcial o completa en la leucemia crónica linfocítica y la leucemia mieloide aguda⁵⁵.



Epigenética

CONCLUSIONES

La epigenética abarca múltiples mecanismos, y aunque en esta tesis sólo se realizó una breve recopilación de lo más sobresaliente sobre el tema, se logró integrar aspectos básicos, para tener una noción de ésta.

Aunque durante mucho tiempo se pensó que la genética era suficiente para explicar la expresión génica, se ha visto que esta no es suficiente y que es la epigenética la que juega un papel determinante en la expresión y/o manifestación de varias enfermedades (p.ej., algunos cánceres), de este modo y de acuerdo con los datos revisados, se concluye que las modificaciones epigenéticas desempeñan un papel regulador en la expresión génica de una célula y así también afecta a un organismo; que el ambiente es un factor que puede desencadenar cambios epigenéticos a nivel de una célula y de organismo, ya que al exponer un organismo a ciertos factores ambientales, estos interactúan con el organismo y pueden desencadenar todo un mecanismo que dará lugar a un silenciamiento o inactivación, así como a una activación epigenética al inducir o influir en las modificaciones tales como la metilación a nivel de DNA y de histonas.

En cuanto a los objetivos establecidos, estos se lograron cumplir, al recopilar e integrar la información, a partir de revistas científicas de prestigio internacional, de este modo concluyendo en la realización de éste material de consulta, siendo esto el objetivo principal; los objetivos particulares de igual forma se cumplieron al recabar e integrar información sobre la historia que acontece a la epigenética, así como de los mecanismos mencionados en dichos objetivos, de la misma manera se hace mención de forma breve sobre la influencia de algunos factores del ambiente, en la epigenética de los organismos como el ser humano y como se relaciona con algunas patologías en éste, dentro de las cuales destaca algunos tipos de cáncer.

El estudio de la epigenética, permitirá el desarrollo de fármacos y así mejores estrategias terapéuticas para tratar ciertos tipos de cánceres, por lo tanto este trabajo tiene un aporte en el conocimiento de los mecanismos epigenéticos, con los cuales se puede tener una base fundamentada que se puede utilizar como fuente de información para el entendimiento de

Epigenética



esta ciencia, su influencia en los organismos y el futuro de ciertos fármacos que se utilizan con respecto a las modificaciones epigenéticas para regular tales modificaciones.

Cabe resaltar que aún falta más investigación para entender de forma completa cómo funcionan los mecanismos epigenéticos, ya que estos interactúan entre sí mismos, el ambiente intra y extracelular así como el medio ambiente donde se desarrolla un organismo.



Epigenética

REFERENCIAS

- ¹Alvarez-Venegas Raul, Avramova Zoya. (2002). SET-domain proteins of the Su(var)3-9, E(z) and Trithorax families. *Gene*, 285: 25-37.
- ²Bannister Andrew J., Schneider Robert, and Kouzarides Tony. (2002). Histone Methylation: Dynamic or Static? *Cell*, 109: 801-806.
- ³Barnett Matthew, Bemingham Emma, McNabb Warren, Bassett Shalome, Armstrong Kelly, Rource John, Roy Nicole. (2010). Investigation micronutrients and epigenetic mechanisms in relation to inflammatory bowel disease. *Mutation Research*, 690: 71-80.
- ⁴Barski Artem, Cuddapah Suresh, Cui Kairong, Roh Tae-Young, Schones Dustin E., Wang Zhibin, Wei Gang, Chepelev Iouri, and Zhao Keji. (2007). High-Resolution Profiling of Histone Methylations in the Human Genome. *Cell*, 129: 823-837.
- ⁵Bartke Till, Vemeulen Michiel, Xhemalce Blerta, Robson Samuel C., Mann Matthias, and Kouzarides Tony. (2010). Nucleosome-Interacting Proteins Regulated by DNA and Histone Methylation. *Cell*, 143: 470-484.
- ⁶Baur Joseph A. (2010). Biochemical effects of SIRT1 activators. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1804: 1626-1634.
- ⁷Baylin Stephen and Jones Peter A. (2012). A decade of exploring the cancer epigenome — biological and translational implications. *Nat. Rev. Cancer*, 11: 726- 734.
- ⁸Bedregal P., Shand B., Santos Manuel J., Ventura-Juncá P. (2010). Aportes de la epigenética en la comprensión del desarrollo del ser humano. *Rev. Med. Chile*, 138: 366-372.
- ⁹Benlloch Carrión Susana. (2008). Metilación y cáncer. *GH Continuada*, 7(1): 20-22.
- ¹⁰Berger Shelley L., Kouzarides Tony, Shiekhattar Ramin. (2009). An operational definition of epigenetics. *Genes & Development*, 23: 781-783.
- ¹¹Berstein Bradley E., Meissner Alexander, and Lander Eric S. (2007). The Mammalian Epigenome. *Cell*, 128: 669-681.
- ¹²Bhutani Nidhi, M. Burns David, and M. Blau Helen. (2011). DNA Demethylation Dynamics. *Cell*, 146: 866-871.



Epigenética

- ¹³Bibiokova Marina, Barnes Bret, Tsan Chan, Ho Vicent, Klotzle Brandy, Le Jennie M., Shen Richerd. (2011). High density DNA methylation array single CpG site resolution. *Genomics*, 98: 288-295.
- ¹⁴Bird Adrian P. and Wolffe Alan P. (1999). Methylation-Induced Repression—Belts, Braces, and Chromatin. *Cell*, 99: 451-454.
- ¹⁵Bird Adrian. (2002). DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes & Development*, 16: 6-21.
- ¹⁶Borsani Omar, Zhu Jianhua, Verslues Paul E., Sunkar Ramanjulu, and Zhu Jian-Kang. (2005). Endogenous siRNAs Derived from a Pair of Natural cis—Antisense Transcripts Regulated Salt Tolerance in Arabidopsis. *Cell*, 123: 1279-1291.
- ¹⁷Briggs Scott D., Xiao Tiaojiang, Sun Zu-Wen, Caldwell Jennifer A., Shabanowitz Jeffrey, Hunt Donald F., Allis C. David, Strahl Brian D. (2002). Gene silencing: trans-histone regulatory pathway in chromatin. *Nature*, 418: 498.
- ¹⁸Burbano H. A. (2006). Epigenetics an genetic determism. *Historia, ciências, saúde-Manguinhos, Rio de Janeiro*, 13: 851-863.
- ¹⁹Castañeda Julio, Genzor Pavol, Bortvin Alex. (2011). piRNAs, transposon silencing, and germline genome integrity. *Mutation Research*, 714: 95-104.
- ²⁰Cedar Horward and Bergman Yehudit. (2012). Programming of DNA Methylation Patterns. *Annu. Rev. Biochem*, 81: 97-117.
- ²¹Cheng Christine S., Johnson Tracy L., and Hoffmann Alexander. (2008). Epigenetic control: slow and global, nimble and local. *Genes & Development*, 22: 1110-1114.
- ²²Cheng Xiaodong, Kumar Sanjay, Posfai Janos, Pfiugrath James W., and Roberts Richard J. (1993). Crystal Structure of the HhaI DNA Methyltransferase Complexed with S-Adenosyl-L-Methionine. *Cell*, 74: 299-307.
- ²³Cheung Wang L., Briggs Scott D. and Allis C. David. (2000). Acetylation and chromosomal functions. *Current Opinion in Cell Biology*, 12: 326-333.
- ²⁴Clark-Adams C. D., Norris D., Osley M. A., et al. (1988). Changes in histone gene dosage alter transcription in yeast. *Genes & Development*, 2: 150-159.
- ²⁵Cloos Paul A.C., Christensen Jesper, Agger Karl, et al. (2008). Erasing the methyl mark: histone demethylases at the center of celular differentiation and disease. *Genes & Development*, 22: 1115-1140.



Epigenética

- ²⁶Conaway Joan W. (2012). Introduction to Theme "Chromatin, Epigenetics, and Transcription". *Annu. Rev. Biochem*, 81: 61-64.
- ²⁷Dai Hongjiu, Rongjing Jiang, Wang Jue, Xu Guojiang, Cao Miexun, Wang Zhugang, Fei Jian. (2007). Development of a heat shock inducible and inheritable RNAi system in sikworm. *Biomolecular Engineering*, 24: 625-630.
- ²⁸Deaton Aimée M. and Bird Adrian. (2011). CpG islands and the regulation of transcription. *Genes & Development*, 25: 1010-1022.
- ²⁹Dejosez Marion and Thomas P. Zwaka. (2012). Pluripotency and Nuclear Reprogramming. *Annu. Rev. Biochem*, 81: 737-765.
- ³⁰Delest Anna, Sexton Tom and Cavalli Giacomo. (2012). Polycomb: a paradigm for genome organization from one to three dimensions. *Current Opinion in Cell Biology*, 24: 1-10.
- ³¹Delgado Rafael y Regueiro Benito J. (2005). El futuro en la infección por VIH: terapia génica y ARN de interferencia. *Enferm. Infec. Microbiol.*, 23: 68-75.
- ³²Dodd Ian B., Micheelsen Mille A., Sneppen Kim, and Thon Geneviève. (2007). Theoretical Analysis of Epigenetic Cell Memory by Nucleosome Modification. *Cell*, 129: 813-822.
- ³³Ekwall Karl, Olsson Tim, Turner Bryan M., Cranston Gwen, and Allshire Robin C. (1997). Transient Inhibition of Histone Deacetylation Alters Structural and Functional Imprint at Fission Yeast Centromeres. *Cell*, 91: 1021-1032.
- ³⁴Esteller Manel. (2008). Epigenetics in evolution and disease. *The Lancet*, 372: S90-S96.
- ³⁵Farkas Gabriella, Leibovitch Boris A., Elgin Sarah C. R. (2000). Chromatin organization and transcriptional control of gene expression in *Drosophila*. *Gene*, 253: 117-136.
- ³⁶Faulk Christopher and Dolinoy Dana C. (2011). The when and how of environmentally induced changes in the epigenome of animals. *Epigenetics*, 6(7): 791-797.
- ³⁷Feltus F. Alex, Lee Evak., Costella Joseph F., Plass Christoph, Vertino Paula M. (2006). DNA motifs associated with aberrant CpG island methylation. *Genomics*, 87: 572-579.
- ³⁸Feng Suhua, et al. (2010). Epigenetic Reprogramming in Plant and Animal Development. *Science AAAS*, 330: 622-627.
- ³⁹Ferrell James E., Jr. (2012). Bistability, Bifurcations, and Waddington's Epigenetic Landscape. *Current Biology*, 22: 458-466.



Epigenética

- ⁴⁰ Fillingham Jeffrey and Greenblatt Jack F. (2008). A Histone Code for Chromatin Assembly. *Cell*, 134: 206-208.
- ⁴¹ Fischle Wolfgang, Wang Yanming and Allis C. David. (2003). Histone and chromatin cross-talk. *Current Opinion in Cell Biology*, 15: 172-183.
- ⁴² Furner Ian J. and Mtzke Marjori. (2011). Methylation and demethylation of the Arabidopsis genome. *Current Opinion in Plant Biology*, 14: 137-141.
- ⁴³ Fussner Eden, Ching Reagan W. and Bazett-Jones. (2011). Living without 30 nm chromatin fibers. *Trends in Biochemical Sciences*, 36: 1-6.
- ⁴⁴ Gartel Andrei L., Kandel Eugene S. (2006). RNA interference in cancer. *Biomolecular Engineering*, 23: 17-34.
- ⁴⁵ Gonzalo Victoria, Castellví-Bel Sergi, Balaguer Francesc, Pellisé Maria, Ocaña Teresa y Castells Antoni. (2008). Epigenética del cáncer. *Gastroenterol. Hepatol.*, 31(1): 37-45.
- ⁴⁶ Gopalakrishnan Suhasni, O. Van Emburgh Beth, D. Robertson Keith. (2008). DNA methylation in development and human disease. *Mutation Research*, 647: 30-38.
- ⁴⁷ Grewal Shiv I. S. and Rice Judd C. (2004). Regulation of heterochromatin by histone methylation and small RNAs. *Current Opinion in Cell Biology*, 16: 230-238.
- ⁴⁸ Groth Anja, Rocha Walter, Verreault Alain, and Almouzni Geneviève. (2007). Chromatin Challenges during DNA Replication and Repair. *Cell*, 128: 721-733.
- ⁴⁹ Guenther Matthew G., Levine Stuart S., Boyer Laurie A., Jaenisch Rudolf, and Young Richard A. (2007). A Chromatin Landmark and Transcription Initiation at Most Promoters in Human Cells. *Cell*, 130: 77-88.
- ⁵⁰ Guttman Mitchell & Rinn John L. (2012). Modular regulatory principles of large non-coding RNAs. *Nature*, 482: 339-346.
- ⁵¹ Henry Karl W., Wyce Anastasia, Lo Wan-Sheng, Duggan Laura J., Emre N. C., Kao Cheng-Fu, Pillus Lorraine, Shilatifard Ali, Osley Mary Ann, and Berger Shelley L. (2003). Transcriptional activation via sequential histone H2B ubiquitylation and deubiquitylation, mediated by SAGA-associated Ubp8. *Genes & Development*, 17: 2648-2663.
- ⁵² Hewagama Anura, Richardson Bruce. (2009). The genetics and epigenetics of autoimmune diseases. *Journal of Autoimmunity*, 33: 3-11.
- ⁵³ Ho D. H. and W. W. Burggren. (2010). Epigenetics and transgenerational transfer: a physiological perspective. *The Journal of Experimental Biology*, 213: 3-16.



Epigenética

- ⁵⁴Holliday R. and Grigg G. W. (1993). DNA methylation and mutation. *Mutation Research*, 285: 61-67.
- ⁵⁵Huang Yi-Wen, Kuo Chieh-Ti, Stoner Kristen, Huang Tim H.-Y., Wang Li-Shu. (2011). An overview of epigenetics and chemoprevention. *FEBS Letters*, 585: 2129-2136.
- ⁵⁶Hunter Ben, Hollister Jesse D., and Bombliies Kirsten. (2011). Epigenetic Inheritance: What News for Evolution?. *Current Biology*, 22: 54-56.
- ⁵⁷Iborra Marisa, Beltrán Belén y Nos Pilar. (2011). Nuevos conocimientos en genetica y enfermedad inflamatoria intestinal. ¿alguna utilidad práctica? *Gastroenterol. Hepatol.*, 34(9): 591-598.
- ⁵⁸Jones Peter A. and Baylin Stephen B. (2002). The Fundamental Role of Epigenetic Events in Cancer. *Nature*, 3: 415-428.
- ⁵⁹Kangaspeska Sara, Stride Brenda, Métivier Raphaël, Polycarpou-Schwarz Maria, Ibberson David, Carmoche Richard Paul, Benes Vladimir, Gannon Frank & Reid George. (2008). Transient cyclical methylation of promoter DNA. *Nature*, 452: 112-116.
- ⁶⁰Karkhanis Vrajesh, Hu Yu-Jie, Baiocchi Robert A., Imbalzano Anthony N. and Sif Said. (2011). Versatility of PRMT5-Induced methylation in growth control and development. *Trends in Biochemical Sciences*, 36: 633-641.
- ⁶¹Kaufman Paul D. and Rando Oliver J. (2010). Chromatin as a potential carrier of heritable information. *Current Opinion in Cell Biology*, 22: 284-290.
- ⁶²Khorasanizadeh Sepideh. (2004). The Nucleosome: From Genomic Organization to Genomic Regulation. *Cell*, 116: 259-272.
- ⁶³Klimasauskas Saulius, Kumar Sanjay, Roberts Ricard J., and Cheng Xiaodong. (1994). HhaI Methyltransferase Flips Its Target Base Out of the DNA Helix. *Cell*, 76: 357-369.
- ⁶⁴Kugel Jennifer F. and Goodrich James A. (2012). Non-coding RNAs: key regulators of mammalian transcription. *Trends in Biochemical Sciences*, 30: 1-8.
- ⁶⁵Lahtz Christoph and Pfeifer Gerd P. (2011). Epigenetic changes of DNA repair genes in cancer. *Journal of Molecular Cell Biology*, 3: 51-58.
- ⁶⁶Lee Ju Yeon, Lee Tae-Hee. (2012). Effects of histone acetylation and CpG methylation on the structure of nucleosomes. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1824: 974-982.
- ⁶⁷Lee Jung-Shin, Smith Edwin, and Shilatifard Ali. (2010). The Language of Histone Crosstalk. *Cell*, 142: 682-685.



Epigenética

- ⁶⁸López-Jaramillo Patricio, Rey Juan José, Gómez-Arbeláez Diego, Rodríguez Yudy A. y López-López José. (2011). Combatir la epidemia de diabetes mellitus tipo 2 en Latinoamérica: características especiales que demandan acciones innovadoras. *Clin. Invest. Arterioscl.*, 23(2): 90-99.
- ⁶⁹Loyola Alejandra and Almouzni Geneviève.(2007). Marking histone H3 variants: How, when and why? *Trends in Biochemical Sciences*, 32: 425-433.
- ⁷⁰Lujambio Amaia & Lowe Scott W. (2012). The microcosmos of cancer. *Nature*, 482: 347-355.
- ⁷¹Maeshima Kazuhiro, Hihara Saera and Eltsov Mikhail. (2010). Chromatin structure: does the 30-nm fibre exist in vivo? *Current Opinion in Cell Biology*, 22: 291-297.
- ⁷²Margueron Raphaël and Reinberg Danny. (2010). Chromatin structure and the inheritance of epigenetic information. *Nature Reviews Genetics*, 11: 285-296.
- ⁷³Martínez-Frías M.L. (2010). Estructura y función del ADN y de los genes II. Tipos de alteraciones de la función del gen por procesos epigenéticos. *Semergen*, 36(6): 332-335.
- ⁷⁴McCarthy Nicola. (2012). Epigenetics: Worth another look? *Nature Rev. Cancer*, 12: 2-3.
- ⁷⁵McStay Brian and Grummt Ingrid. (2008). The Epigenetics of rRNA Genes: From Molecular to Chromosome Biology. *Annu. Rev. CellDev. Biol*, 24: 131-157.
- ⁷⁶Mendez-González Jesús, Gallegos-Marmolejo Marc, Martínez-Figueroa Susana, Antonijuan-Parés Assumpta, Martínez-Cousuelo Silvia y Mora-Brugués Josefina. (2009). Aplicación de un panel de metilación para el diagnóstico de cáncer de pulmón en broncoaspirados. Resultados preliminares. *Rev. Lab. Clin.*, 2(3): 107-114.
- ⁷⁷Menéndez Pablo, Villarejo Pedro, Padilla David, Menéndez José María y Rodríguez Montes José Antonio. (2012). Epigenética y cáncer colorrectal. *Cirugía Española*, 90(5): 277-283.
- ⁷⁸Mikkelsen Tarjei S., Ku Manching, Jaffe David B., Issac Biju, Liberman Erez, Giannoukos Georgia, Alvarez Pablo, Brockman William, Kim Tae-Kyung, Koche Richard P., Lee William, et. (2007). Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. *Nature*, 448: 553-560.
- ⁷⁹Moldovan George-Lucian, Pfander Boris, and Jentsch Stefan. (2007). PCNA, the Maestro of the Replication Fork. *Cell*, 129: 665-679.



Epigenética

- ⁸⁰Mosammaparast Nima and Shi Yang. (2010). Reversal of Histone Methylation: Biochemical and Molecular Mechanisms of Histone Demethylases. *Annu. Rev. Biochem.*, 79: 155-179.
- ⁸¹Munshi Anjana, Shafi Gowhar, Aliya Nishat, Jyothy Akka. (2009). Histone modifications dictate specific biological readouts. *Journal of Genetics and Genomics*, 36: 75-88.
- ⁸²Nakao Mitsuyoshi. (2001). Epigenetics: interaction of DNA methylation and chromatin. *Gene*, 278: 25-31.
- ⁸³Narlikar Geeta J., Fan Hua-Ying, and Kingston Robert E. (2002). Cooperation between Complexes that Regulate Chromatin Structure and Transcription. *Cell*, 108: 475-487.
- ⁸⁴Ndlovu Matladi N., Denis Hélène and Fuks François. (2011). Exposing the DNA methylome iceberg. *Trends Biochemical Sciences*, 36: 381-387.
- ⁸⁵Ng Huck Hui, Robert François, Yung Richard A., and Struhl Kevin. (2003). Targeted Recruitment of Set1 Histone Methylase by Elongating Pol II Provides a Localized Mark and Memory of Recent Transcriptional Activity. *Molecular Cell*, 11: 709-719.
- ⁸⁶Ooi Steen K. T. and Bestor Timothy H. (2008). The Colorful History of Active DNA Demethylation. *Cell*, 133: 1145-1148.
- ⁸⁷Ortiz-Quintero Blanca.(2009). RNA de interferencia: Origen y aplicación en el silenciamiento de genes. *Revista de Investigación Clínica*, 61: 412-427.
- ⁸⁸Pan Zengxiang, Zhang Jinbi, Li Qifa, Li Yinxia, Shi Fangxiong, Xie Zhuang, Liu Honglin. (2012). Current Advances in Epigenetic Modification and Alteration during Mammalian Ovarian Folliculogenesis. *Journal of Genetics and Genomics*, 39: 111-123.
- ⁸⁹Paschos Konstantinos and Allday Martin J. (2010). Epigenetic reprogramming of host genes in viral and microbial pathogenesis. *Trends in Microbiology*, 18: 439-447.
- ⁹⁰Pelizzola Mattia, Ecker Joseph R. (2011). The DNA methylome. *FEBS Letters*, 585: 1994-2000.
- ⁹¹Peters Antoine HFM and Schübeler Dirk. (2005). Methylation of histones: playing memory with DNA. *Current Opinion in Cell Biology*, 17: 230-238.
- ⁹²Ponting Chris P., Oliver Peter L., and Reik Wolf. (2009). Evolution and Functions of Long Noncoding RNAs. *Cell*, 136: 629-641.
- ⁹³Prezioso Carolina, Orlando Valerio. (2001). Polycomb proteins in mammalian cell differentiation and plasticity. *FEBS Letters*, 585: 2067-2077.



Epigenética

- ⁹⁴Ptashne Mark. (2007). On the use of the word "epigenetic". *Current Biology*, 17: 233-236.
- ⁹⁵Quintero Fabián A. (2011). EPIGENÉTICA, CONCEPTUALIZACIÓN Y ALCANCE EPISTEMICO. *Revista Argentina de Antropología Biológica*, 13: 97-103.
- ⁹⁶Ransom Monica, Dennehey Briana K., and Tyler Jessica K. (2010). Chaperoning Histones during DNA Replication and Repair. *Cell*, 140: 183-195.
- ⁹⁷Reik Wolf and Walter Jörn. (2001). Genomic Imprinting: Parental Influence on the Genome. *Nature*, 2: 21-32.
- ⁹⁸Richards Eric J. and Elgin Sarah C.R. (2002). Epigenetic Codes for Heterochromatin Formation and Silencing: Rounding up the Usual Suspects. *Cell*, 108: 489-500.
- ⁹⁹Rocha Sonia. (2007). Gene regulation under low oxygen: holding your breath for transcription. *Trends in Biochemical Sciences*, 32: 389-397.
- ¹⁰⁰Rodríguez Dorantes Mauricio, Téllez Ascencio Nelly, Cerbón Marco A. (2004). Metilación del ADN: un fenómeno epigenético de importancia médica. *Rev. Invest. Clín.* 56(1): 56-71.
- ¹⁰¹Rottiers Veerle and Näär Anders M. (2012). MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13: 239-250.
- ¹⁰²Salinas-Sánchez Antonio S., Rubio-Campo Antonio, Zánchez.Sánchez Francisco, Giménez-Bachs José M., Donate-Moreno María J., García-Olmo Dolores C. y Escribano-Martínez Julio. (2006). Hipermetilación del promotor del gen reparador Hmlh1 en la patogenia del carcinoma de células renales esporádico. *Med. Clin. (Barc)*, 126(12): 452-454.
- ¹⁰³Sánchez-Pernaute Olga. (2010). Las terapias epigenéticas, más allá de los biológicos en el tratamiento de la artritis reumatoide. *Reumatol. Clin.*, 6(6): 306-310.
- ¹⁰⁴Santos-Rosa Helena, Schneider Robert, Bannister Andrew J., Sherriff Julia, Bernstein Bradley E., Emre N. C., Schreiber Stuart L., Mellor Jane & Kouzarides Tony. (2002). Active genes are tri-methylated at K4 of histone H3. *Nature*, 419: 407-411.
- ¹⁰⁵Sawan Carla, Vaissière Thomas, Murr Rabih, Herceg Zdenko. (2008). Epigenetic drivers and genetic passengers on the road to cancer. *Mutation Research*, 642: 1-13.
- ¹⁰⁶Schalch Thomas, Duda Sylwia, Sargent David F. & Timothy J. Richmond. (2005). X-ray structure of a tetranucleosome and its implications for the chromatin fibre. *Nature*, 436: 138-141.



Epigenética

- ¹⁰⁷Shilatifard Ali. (2006). Chromatin Modifications by Methylation and Ubiquitination: Implications in the Regulation of Gene Expression. *Annu. Rev. Biochem*, 75: 243-269.
- ¹⁰⁸Shilatifard Ali. (2012). The COMPASS Family of Histone H3K4 Methylases: Mechanisms of Regulation in Development and Disease Pathogenesis. *Annu. Rev. Biochem*, 81: 65-95.
- ¹⁰⁹Shukla Vivek, Vaissière Thomas, Herceg Zdenko. (2008). Histone acetylation and chromatin signature in stem cell identity and cancer. *Mutation Research*, 637: 1-15.
- ¹¹⁰Sims III Robert J., Belotser kovs kaya Rimma and Reinberg Danny. (2004). Elongation by RNA polymerase II: the short and long of it. *Genes & Development*, 18: 2437-2468.
- ¹¹¹Sims III Robert J., Mandal Subhrangsu S., and Danny Reinberg. (2004). Recent highlights of RNA-polymerase-II-mediated transcription. *Current Opinion in Cell Biology*, 16: 263-271.
- ¹¹²Skinner Michael K. (2011). Enviromental epigenetic transgenerational inheritance and somatic epigenetic mitotic stability. *Epigenetics*, 6(7): 838-842.
- ¹¹³Spencer Virginia A., Davie James R. (1999). Role of covalent modifications of histone in regulating gene expression. *Gene*, 240: 1-12.
- ¹¹⁴Stadler Michael B., Murr Rabih, Burger Lukas, Ivanek Robert, Lienert Florian, Schäler Anne, Wirbelauer Christiane, Oakeley Edward J., Gaidatzis Dimos, Tiwari Vijay K. & Schübeler Dirk. (2011). DNA—binding factors shape the mouse methylome at distal regulatory regions. *Nature*, 480: 490-495.
- ¹¹⁵Suganuma Tamaki and Workman Jerry L. (2008). Crosstalk among Histone Modifications. *Cell*, 135: 604-607.
- ¹¹⁶Suganuma Tamaki and Workman Jerry L. (2011). Signals and Combinatorial Functions of Histone Modifications. *Annu. Rev. Biochem*, 80: 473-499.
- ¹¹⁷Surani M. Azim, Hayashi Katsuhiko, and Hajkova Petra. (2007). Genetic an Epigenetic Regulators of Pluripotency. *Cell*, 128: 747-762.
- ¹¹⁸Szerlong Heather J. and Hansen Jeffrey C. (2011). Nucleosome distribution and linker DNA: connecting nuclear function to dynamic chromatin structure. *Biochem Cell Biol*, 89: 24 -34.
- ¹¹⁹Ting Angela H., McGarvey Kelly M. and Baylin Stephen B. (2006). The cancer epigenome--components and functional correlates. *Genes & Development*, 20: 3215-3231.



Epigenética

- ¹²⁰Tovar Victoria, Villanueva Augusto y Llovet Josep M. (2006). Biología celular y genética en el cáncer de hígado. *Gastroenterol. Hepatol.*, 30(6): 360-369.
- ¹²¹Tremethick David J. (2007). Higher-Order Structures of Chromatin: The Elusive 30 nm Fiber. *Cell*, 128: 651-654.
- ¹²²Turner Bryan M. (2005). Reading signals on the nucleosome with a new nomenclature for modified histones. *Nature Structural & Molecular Biology*, 12: 110-112.
- ¹²³Vaissièri T., Sawan C., Herceg Z. (2008). Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. *Mutation Research*, 659: 40-48.
- ¹²⁴van Leewen Fred, Gafken Philip R., and Daniel E. Gottschling. (2002). Dot1p Modulates Silencing in Yeast by Methylation of the Nucleosome Core. *Cell*, 109: 745-756.
- ¹²⁵Varriale Annalissa, Bernardi Giorgio. (2010). Distribution of DNA methylation, CpGs, and CpG islands in human isochores. *Genomics*, 95: 25-28.
- ¹²⁶Vasanthi Dasari, K. Mishra Rakesh. (2008). Epigenetic regulation of genes during development: A conserved theme from flies to mammals. *Journal of Genetics and Genomics*, 35: 413-429.
- ¹²⁷Wassenegger Michael. (2005). The Role of the RNAi Machinery in Heterochromatin Formation. *Cell*, 122: 13-16.
- ¹²⁸Weber Michael and Schübeler Dirck. (2007). Genome patterns of DNA methylation: targets and function of an epigenetic mark. *Current Opinion in Cell Biology*, 19: 273-280.
- ¹²⁹Wu Hao and Zhang Yi. (2011). Mechanisms and functions of Tet protein-mediated 5-methylcytosine oxidation. *Genes & Development*, 25: 2436-2452.
- ¹³⁰Xicola Rosa M. y Llor Xavier. (2012). Defectos de la metilación del ADN en el cáncer colorrectal esporádico y hereditario. *Gastroenterol. Hepatol.*, 35(7): 480-487.
- ¹³¹Xu Yufei, Wu Feizhen, Tan Li, Kong Ling chun, Xiong Lijun, Deng Jie, Barbera Andrew J., Zheng Lijuan, Zhang Haikuo, Huang Stephen, Min Jirong, Nicholson Thomas, Chen Taiping, Xu Guoliang, Shi Yang, Zhang Kun, and Geno Shi Yujiang. (2011). Genome-wide Regulation of 5hmC, 5mC, and Gene Expression by Tet1 Hydroxylase in Mouse Embryonic Stem Cells. *Molecular Cell*, 42: 451-464.
- ¹³²Yang Pok Kwan and Kuroda Mitzi I. (2007). Noncoding RNAs and Intranuclear Positioning in Monoallelic Gene Expression. *Cell*, 128: 777-786.



Epigenética

¹³³Young Richard A. (2011). Control of the Embryonic Stem Cell State. *Cell*, 144: 940-954.

¹³⁴Zaratiegui Mikel, Irvine Danielle V., and Martienssen Robert A. (2007). Noncoding RNAs and Gene Silencing. *Cell*, 128: 763-776.

¹³⁵Zhang Quingchun, Wang Yinsheng. (2008). Hig mobility group proteins and their post-translational modifications. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1784: 1159-1166.

¹³⁶Zhang Zhenhai and Pugh B. Franklin. (2011). High-Resolution Genome-wide Mapping of the Primary Structure of Chromatin. *Cell*, 144: 175-186.

¹³⁷Zhao Yu, Zhou Dao-Xiu. (2012). Epigenomic Modification and Epigenetic Regulation in Rice. *Journal of Genetics and Genomics*, 20: 1-9.



REFERENCIAS DE FIGURAS

- 1: Tomada y modificada (“Zhang Zhenhai, 2011; Maeshima Kazuhiro, 2010; Khorasanizadeh Sepideh, 2004”)
- 2: Tomada y modificada (“Munshi Anjana, 2009”)
- 3: Tomada y modificada (“Sawan Carla, 2008”)
- 4: Tomada y modificada (“Ndlovu Matladi N., 2011”)
- 5: Tomada y modificada (“Klimasauskas Saulius, 1994”)
- 6: Tomada y modificada (“Vaissière T., 2008”)
- 7: Tomada y modificada (“Bhutani Nidhi, 2011”)
- 8: Tomada y modificada (“Xu Yufei, 2011”)
- 9: Tomada y modificada (“Shukla Vivek, 2008”)
- 10: Tomada y modificada (“Mosammaparast Nima, 2010”)
- 11: Tomada y modificada (“Bannister Andrew J., 2002”)
- 12: Tomada y modificada (“Shilatifard Ali, 2006”)
- 13: Tomada y modificada (“Peters Antoine HFM, 2005; Sims III R. J., 2004”)
- 14: Tomada y modificada (“Mosammaparast Nima, 2010”)
- 15: Tomada y modificada (“Mosammaparast Nima, 2010”)
- 16: Tomada y modificada (“Mosammaparast Nima, 2010”)
- 17: Tomada y modificada (“Mosammaparast Nima, 2010”)
- 18: Tomada y modificada (“Shukla Vivek, 2008”)
- 19: Tomada y modificada (“Vaissière T., 2008”)
- 20: Tomada y modificada (“Margueron Raphaël, 2010”)
- 21: Tomada y modificada (“Suganuma Tamaki, 2011”)
- 22: Tomada y modificada (“Lee Jung-Shin, 2010”)

Epigenética



- 23: Tomada y modificada (“Suganuma Tamaki, 2008”)
- 24: Tomada y modificada (“Feng Suhua, 2010”)
- 25: Tomada y modificada (“Kugel Jennifer F., 2012”)
- 26: Tomada y modificada (“Suganuma Tamaki, 2011”)
- 27: Tomada y modificada (“Rottiers Veerle, 2012”)
- 28: Tomada y modificada (“Huang Yi-Wen, 2011”)



REFERENCIA DE TABLAS

- 1: Tomada y modificada (“Ho D. H., 2010”)
- 3: Tomada y modificada (“Briggs S. D., 2002; Mosammaparast N., 2010; Peters A., 2005; Shukla V., 2008; Sims III R. J., 2004”)
- 5: Tomada y modificada (“Gonzalo Victoria, 2008”)
- 6: Tomada y modificada (“Huang Yi-Wen, 2011”)