

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Factores epigenéticos involucrados en el origen de defectos congénitos relacionados con la deficiencia materna de ácido fólico y otros micronutrientes

Dr. Noel Taboada Lugo¹

¹Centro Provincial de Genética Médica de Villa Clara, Santa Clara, Villa Clara, Cuba

RESUMEN

Introducción: la secuenciación del genoma humano ha sido uno de los logros más importantes en la historia de la ciencia; sin embargo, los científicos de todo el mundo comienzan a percatarse de que conocer la información genética no es suficiente para comprender las diferentes manifestaciones fenotípicas. El genoma codifica para una información potencial, pero la manera en que la secuencia de ácido desoxinucleico se traduce en un fenotipo determinado no depende directamente de la secuencia en sí, sino de la interacción con factores ambientales; aquí es donde la ciencia de la epigenética desempeña su papel. **Objetivo:** proveer información actualizada sobre los diferentes procesos epigenéticos involucrados en el origen de algunos defectos congénitos relacionados con la deficiencia de ácido fólico. **Método:** se revisó la literatura médica publicada en los últimos cinco años en idiomas español e inglés, se utilizaron los motores de búsqueda Google Académico y PubMed, se consultaron las bibliotecas digitales SciELO y Cochrane, la base de datos Medline y se usaron palabras clave apropiadas. **Desarrollo:** existen diferentes mecanismos epigenéticos involucrados en el origen de defectos congénitos relacionados con la deficiencia materna de ácido fólico y otros micronutrientes. **Conclusiones:** el hecho de que las alteraciones epigenéticas, en contraste con los cambios genéticos como las mutaciones, son reversibles tiene importantes implicaciones para la implementación de estrategias preventivas de diferentes defectos congénitos relacionados con la deficiencia materna de ácido fólico. **Palabras clave:** epigenética; epigénesis genética; mecanismos epigenéticos; ácido fólico; defectos congénitos

ABSTRACT

Introduction: the sequencing of the human genome has been one of the most important achievements in the history of science. However, scientists around the world are beginning to realize that knowing the genetic information is not enough to understand the different phenotypic manifestations. The genome codes for a potential information, but the way in which the deoxynucleic acid sequence translates into a certain phenotype does not depend directly on the sequence itself, but on the interaction with environmental factors. This is when epigenetics plays its part. **Objective:** to provide updated information on the different epigenetic processes involved in the origin of some congenital defects related to folic acid deficiency. **Method:** the medical literature published in the last five years in Spanish and English was reviewed, Google Academic and PubMed search engines were used, the SciELO and Cochrane digital libraries were

consulted, the Medline database was used and appropriate keywords were used. **Development:** there are different epigenetic mechanisms involved in the origin of congenital defects related to maternal deficiency of folic acid and other micronutrients. **Conclusions:** the fact that epigenetic alterations, in contrast to genetic changes such as mutations, are reversible has important implications for the implementation of strategies to prevent different congenital defects related to maternal deficiency of folic acid. **Key words:** epigenomics; epigenesis, genetic; epineptic mechanisms; folic acid; congenital defects

INTRODUCCIÓN

La secuenciación del genoma humano ha sido uno de los logros más importantes en la historia de la ciencia; sin embargo, los científicos de todo el mundo comienzan a percatarse de que conocer la información genética no es suficiente para comprender las diferentes manifestaciones fenotípicas. El genoma codifica para una información potencial, pero la manera en que la secuencia de ácido desoxinucleico se traduce en un fenotipo determinado no depende directamente de la secuencia en si, sino de la interacción con factores ambientales; aquí es donde la ciencia de la epigenética desempeña su papel. El presente trabajo tiene como objetivo proveer una actualización sobre los diferentes procesos epigenéticos involucrados en el origen de algunos defectos congénitos relacionados con la deficiencia de ácido fólico.

MÉTODO

Se realizó, en diciembre de 2017, una revisión bibliográfica de la literatura médica publicada en los últimos cinco años en idiomas español e inglés, se utilizaron los motores de búsqueda Google Académico y PubMed, se consultaron las bibliotecas digitales SciELO y Cochrane, la base de datos Medline y se usaron palabras clave apropiadas.

DESARROLLO

Epigenética: origen y antecedentes históricos

En 1809, año del nacimiento de Charles Darwin, Jean Baptiste Lamarck (1744-1829) publicó su famoso libro "Filosofía Zoológica" en el que propone dos leyes de la herencia: la última se conoce como "La herencia de los caracteres adquiridos."⁽¹⁾

Medio siglo después, en 1859, Charles Darwin planteaba que la sobrevivencia de los más aptos era el medio por el que las especies se adaptaban a un ambiente particular. Mientras Lamarck no propuso ningún mecanismo para explicar la herencia de los caracteres adquiridos Darwin, en el año 1883, presentó una teoría de la herencia a la que denominó "pangénesis" y planteó la existencia de "pequeñas partículas elementales" que circulan en la sangre, afectan a las células germinales y permiten que las características adquiridas durante la vida de un organismo puedan heredarse.^(1,2)

James Baldwin (1861-1934) fue un fisiólogo experimental que postuló, en el año 1896, que diversos factores ambientales estresantes pueden inducir a la aparición de nuevos fenotipos en una población debido a la elevada plasticidad del proceso de desarrollo y que propuso que, en las generaciones subsecuentes, los cambios heredables estabilizaban el nuevo fenotipo aún en ausencia de los factores que lo generaron, lo que se conoce desde entonces como "efecto Baldwin".

En el año 1943 Ivan Schmalhausen (1884-1963), basado en la propuesta de Baldwin, redactó su libro "Factores de la evolución", en el que planteó la existencia en un organismo de una "norma de reacción" para cada ambiente particular, por lo que para diferentes ambientes existen diferentes normas de reacción. Las normas en este modelo tienen dos características: algunas resultan de adaptaciones ante factores ambientales estresantes y la mayoría de estas respuestas son aleatorias y no adaptativas. Denominó a estas respuestas no adaptativas como "morfofisis". De acuerdo a esta teoría la existencia de las morfofisis provee un cúmulo de variaciones fenotípicas que pueden ser usadas posteriormente para adaptarse a los diferentes factores ambientales estresantes.^(2,3)

Conrad Waddington (1905-1975) utilizó las teorías de Baldwin y de Schmalhausen y realizó diferentes experimentos en la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) que validaron muchos de los aspectos de estas teorías. También confirmó la existencia de las morfofisis como variaciones fenotípicas aleatorias y no adaptativas inducidas por el estrés al provocar la formación de un par de alas extras mediante la exposición de las moscas al éter durante su embriogénesis; estas alas extras no protegían a las moscas contra el éter. Waddington acuñó el término "epigenética" para describir el proceso de desarrollo y la adaptación de un organismo a un ambiente determinado.⁽²⁻⁵⁾

Las primeras aproximaciones a la epigenética en la literatura datan de mediados del siglo XIX, aunque los orígenes del concepto pueden encontrarse en el de Aristóteles (384-322 a. C.): el desarrollo de la forma orgánica del individuo a partir de materia amorfa. Epigenética significa literalmente "por encima de la genética". En el siglo XXI el término ha sido redefinido, la definición más comúnmente encontrada es la del "estudio de los cambios reversibles y heredables de la expresión génica que no conllevan alteraciones en la secuencia del ácido desoxinucleico (ADN) y que no siguen las leyes mendelianas."³⁻⁶

Por muchos años se consideró que la información epigenética se limitaba a los procesos de división celular; sin embargo, ahora se conoce que los procesos epigenéticos pueden ser transferidos en los organismos de una generación a otra. En 1987 Robin Holliday puntualizó que los cambios en la expresión génica no solo se llevan a cabo en el desarrollo temprano de la vida, sino durante toda la vida en estado adulto.⁽⁷⁾

Mecanismos epigenéticos: metilación del ADN

Históricamente la metilación del ADN fue la primera modificación epigenética que fue descubierta. La importancia funcional de este mecanismo en el control

epigenético, en la regulación génica, en la inactivación del cromosoma X y en la diferenciación celular se propuso por vez primera en el año 1975.^(4,8)

La presencia de patrones de metilación en el ADN humano determina cierta protección para la conservación de las secuencias de pares de bases y reduce la capacidad de mutación. En la especie *Drosophila melanogaster* no existe la metilación, por lo que la capacidad de mutación de esta especie es sumamente elevada. En la mayoría de los organismos eucariotas la metilación del ADN consiste en la transferencia de un grupo metilo (CH₃) de la S-adenosilmetionina (SAM) a la posición cinco de las citosinas de los dinucleótidos CpG (citosina fosfato guanina), esta importante reacción de transferencia es catalizada por las enzimas ADN metil transferasas (DNMTs).⁽⁸⁾

Los dinucleótidos CpG están distribuidos heterogéneamente en el genoma humano, pero están concentrados en sitios denominados islas CpG, que son regiones de ADN genómico con una frecuencia elevada de dinucleótidos CpG, que tienen entre 200 y 3 000 pares de bases con más del 50% de contenido de guaninas y citosinas y una razón observada/esperada de CG mayor de 60%.

Estas regiones se solapan con regiones promotoras en el 50 y hasta el 60% de los genes en humanos, por lo que su metilación impide la lectura del gen. De hecho, la presencia de metilaciones en estas islas indica que el gen adyacente está silenciado. Se ha estimado que la 5-metil citosina supone aproximadamente el 1% del total de bases nitrogenadas del ADN y representa entre el 70 y el 80% del total de dinucleótidos CpG en el genoma humano.^(6,7)

En mamíferos se han identificado tres tipos de DNMTs pertenecientes a dos familias que son estructural y funcionalmente diferentes, las que han sido clasificadas según la preferencia por un sustrato y la función resultante en DNMT3A y DNMT3B, que son metiltransferasas de novo, responsables de establecer el patrón de metilación de citosinas en el ADN no metilado y es posible que también tengan actividad demetilasa de ADN. La metilación global de novo ocurre durante la embriogénesis, cuando las marcas de metilación del ADN son restablecidas después de la demetilación genómica para la reprogramación epigenética.

Una vez establecidos los patrones de metilación del ADN deberán ser mantenidos de forma estable durante los procesos de replicación y división celular. Esta función de mantenimiento es lograda por la DNMT1 debido a su preferencia por el ADN hemimetilado y su asociación estable con el ADN recién replicado, de tal manera que copia los patrones de metilación de las hebras parentales en las hebras recién sintetizadas durante la replicación del ADN.^(6,9)

En general, se considera que el patrón de metilación del genoma en células somáticas diferenciadas es estable y heredable; pese a esto, se ha documentado reprogramación de los patrones de metilación durante los estadios del desarrollo en células germinales y embriones en etapa de preimplantación. Las células germinales primordiales sufren una demetilación genómica, mientras las células germinales maduras están hipermetiladas en comparación con las células somáticas. Se ha estimado que entre un seis y un 8% de islas CpG están metiladas en el ADN genómico del cerebro, de la sangre, del músculo y del bazo;

se observa metilación de islas CpG tejido-específico para genes importantes en el desarrollo, lo que sugiere un mecanismo programado de metilación del ADN.⁽⁶⁾ Se ha descrito el evento de propagación de la metilación del ADN que inicia poco después de la fertilización posterior a la demetilación genómica. La remetilación de la mayoría de los genes ocurre después del estadio de blastocisto y continúa más lentamente durante el resto del desarrollo embrionario y fetal.⁽⁹⁾

Proceso epigenético de modificación de histonas

La unidad estructural básica del genoma humano en los mamíferos son los nucleosomas, que consisten en un núcleo central compuesto de aproximadamente 147 pares de bases del ADN envueltos alrededor de un octámero de histonas que contiene dos copias de cada histona: H2A, H2B, H3 y H4. Estas histonas tienen un dominio carboxilterminal globular y una cola aminoterminal no estructurada, este dominio N terminal rico en aminoácidos está sujeto a modificaciones epigenéticas reversibles, las que pueden actuar de forma individual, secuencial o en combinación para formar un "código de histonas" que regula el ensamblaje de un rosario de nucleosoma en una estructura más compleja de cromatina, mediante la interacción con otras proteínas reguladoras. Se ha descrito una variedad importante de modificaciones en las colas de las histonas.⁽¹⁰⁾

A la par de la metilación del ADN, la acetilación y la metilación de las histonas son las marcas epigenéticas mejor caracterizadas. La metilación es la modificación covalente de diferentes residuos de lisinas y argininas en las histonas, puede dirigir a la condensación de la cromatina y al silenciamiento génico o a la descondesación de la cromatina con la consiguiente actividad transcripcional; estos procesos son regulados por las enzimas histona metiltransferasas (HMT) y la histona demetilasa (HDM). Las argininas pueden ser mono o dimetiladas, mientras que las lisinas pueden ser mono, di o trimetiladas.^(6,10)

La metilación de las histonas puede estar relacionada con la activación o la represión de la expresión génica, así la metilación de la lisina 4 (K4) de la histona H3 se asocia con frecuencia con un incremento en la actividad génica, mientras que la metilación de la lisina 9 (K9) de la histona H3 puede provocar una represión transcripcional. Se describe una relación entre la metilación del ADN y las modificaciones de las histonas pues la metilación de la citosina aumenta la posibilidad de la metilación de H3-K9 y a su vez la metilación de H3-K9 puede promover la metilación de la citosina.^(7,10)

La metilación del ADN y las modificaciones de las histonas están estrechamente relacionadas, de hecho, los patrones de metilación del ADN están mejor correlacionados con los patrones de metilación de las histonas que con el contexto del genoma subyacente. Específicamente la metilación del ADN se correlaciona con la ausencia de metilación de H3K4 y la presencia de metilación de H3K9. Se considera que la metilación de H3K4 protege a los promotores de los genes de la metilación de ADN de novo en las células somáticas.^(6,10)

La acetilación de las histonas consiste en la transferencia de un grupo acetyl de la acetyl coenzima A (acetyl CoA) a los grupos lisino-amino del extremo N terminal

de la cola de las histonas, proceso mediado por las enzimas histonas acetiltransferasas (HAT). La acetilación de las histonas es considerada como el sello distintivo de las regiones transcripcionalmente activas, aunque en la actualidad se ha puesto de manifiesto que el papel de la acetilación no está relacionado solamente con la transcripción del ADN, sino que también puede afectar otros procesos celulares relacionados con el ADN como la reparación y su replicación. La adición de grupos acetilos a las histonas provoca la neutralización de su carga, lo que debilita la interacción DNA-histonas, relaja la estructura de la cromatina y facilita el acceso de la maquinaria transcripcional. La hiperacetilación de las histonas se relaciona con la activación de la transcripción.⁽⁶⁻⁸⁾

El papel de las modificaciones de las histonas en el potencial de expresión génica y en el proceso de transcripción del ADN provee un enorme repertorio potencial de señales. De hecho, se conocen más de 100 posibles modificaciones químicas de las histonas entre las que se encuentran, además de la acetilación, la monometilación, la dimetilación y la trimetilación, la isomerización, la fosforilación, la sumoilación, la ubiquitinación, etc., las que pueden actuar como represores o activadores de la expresión génica en dependencia del residuo de histona que esté involucrado.^(6,10)

La isomerización se define como la transformación de una molécula en otra isoforma o isómero diferente, lo que produce una gran afectación en la conformación de la proteína al alterar la estructura secundaria de los polipéptidos, que pueden adoptar dos conformaciones distintivas: cis o trans. La primera evidencia de que las histonas pueden ser isomerizadas se publicó en el año 2006, cuando se identificó a Frp4 como una histona isomerasa de las prolinas 30 y 38 (P30 y P38) en la cola de la histona H3. El estado conformacional de P38 es necesario para la inducción de la metilación de la lisina 36 de la histona H3 (H3K36) y su isomerización inhibe su capacidad de metilación.^(7,11)

La fosforilación representa la adición de un grupo fosfato (PO₄) a una molécula proteica. Este proceso es catalizado por varias proteínas kinasas específicas, mientras que las fosfatasas remueven los grupos fosfatos. Las histonas también pueden ser fosforiladas y el sitio más estudiado en la fosforilación de las histonas es la serina 10 de la histona H3 (H3S10). El papel de H3S10 en la condensación de la cromatina sugiere que está relacionada con la represión transcripcional, aunque se ha acumulado suficiente evidencia que señala que esta marca epigenética desempeña un importante papel en la activación transcripcional de genes en varios organismos.

La desfosforilación de H3S10, llevada a cabo por la fosfatasa PP2A (Protein Fosfatasa A2), resulta en una inhibición de la transcripción.

La sumoilación consiste en la adición de una "pequeña proteína reguladora relacionada con la ubiquitina" (SUMO, del inglés: small ubiquitin-related modifier protein) de aproximadamente 100 aminoácidos. La SUMO se une de forma covalente a otras proteínas mediante la acción de varios miembros de una cascada enzimática. La sumoilación de las histonas se describió, por primera vez, en el año 2003, cuando Shiio y colaboradores encontraron que la histona H4 podía ser modificada por SUMO y concluyeron que esta modificación conllevaba a

la represión de la actividad transcripcional. Recientemente se ha demostrado que en levaduras las cuatro histonas pueden ser sumoiladas.^(10,12)

La ubiquitinación se refiere a las modificaciones post-traduccionales del grupo amino de un residuo de lisina mediante la unión covalente de uno o más monómeros de ubiquitina (una proteína de 76 aminoácidos altamente conservada en eucariotas). Típicamente, la poliubiquitinación señala la proteína que será degradada vía proteosoma 26S, mientras que la monoubiquitinación conlleva a la modificación de la función proteica. Usualmente las histonas son monoubiquitinadas, aunque H2A y H2B pueden ser poliubiquitinadas. La ubiquitinación de las histonas puede influir en otras modificaciones de las histonas, así el efecto de la ubiquitinación en la metilación de las histonas puede explicar su papel tanto en la activación como en la inhibición de la transcripción, mientras que en la eucromatina la ubiquitinación activa la transcripción facilitando la elongación transcripcional.⁽¹⁰⁾

Cambios conformacionales de la cromatina

El ADN en eucariotas está íntimamente asociado a las histonas para formar la cromatina. Los cambios en la conformación de la cromatina son otro importante proceso epigenético que no solo impacta en la expresión génica, sino también en muchos otros procesos biológicos.^(4,6)

De acuerdo a su grado de condensación, la cromatina nuclear se categoriza en dos tipos diferentes: la cromatina condensada o heterocromatina y la cromatina abierta o eucromatina. La heterocromatina a su vez puede ser clasificada en constitutiva o facultativa: la constitutiva corresponde a la mayor parte del material nuclear, se tiñe intensamente en interfase o metafase e incluye los telómeros, las regiones pericentroméricas y ciertos dominios intersticiales, regiones que tienden a ser ricas en secuencias repetitivas y a tener un bajo contenido génico; la heterocromatina facultativa, en estrecha relación con la metilación del ADN, es la clave para el normal desarrollo del lineaje celular y la diferenciación celular mediante la metilación somática y la inactivación de genes específicos en las células germinales; además, la heterocromatina facultativa es responsable de la exclusión alélica, la impronta genómica y la inactivación del cromosoma X en las células somáticas del sexo femenino en mamíferos. El resto del genoma está formando por eucromatina, que es descondensada en las fases G1 y G2 del ciclo celular y contiene la mayoría de los genes que son transcripcionalmente activos.^(7,10)

Las modificaciones en la cromatina actúan en una forma coordinada y ordenada para regular diferentes procesos celulares como la transcripción, la replicación y la reparación del ADN. Estos procesos tienen una interdependencia con los complejos de modificación de las histonas como la metilación, la acetilación y la fosforilación. La eucromatina es caracterizada por un alto nivel de acetilación de las histonas, de manera contraria las histonas deacetilasas son capaces de remover esta marca epigenética y generar represión transcripcional.^(6,7)

Las modificaciones post-traduccionales de los residuos de lisina en las histonas, fundamentalmente en la histona H3, determinan la formación de las diferentes

estructuras de cromatina. La marca funcional de H3K9 incluye el establecimiento y el mantenimiento de la heterocromatina constitutiva y facultativa, el reclutamiento de los complejos represores de la transcripción en los loci de genes activos y la contribución a la formación de cromatina silente inducida por los microRNA sobre los loci normalmente expresados de eucromatina.⁽¹⁰⁾

Consecuentemente, es biológicamente plausible asumir que una regulación inadecuada de H3K9 provocará una alteración de la estructura de la cromatina, en la estabilidad de los transposones en el genoma y en la accesibilidad del genoma a los agentes ambientales de tipo mutagénicos. Así, la heterocromatina constitutiva mantenida por H3K9 es fundamental para la integridad genómica mediante la prevención de alteraciones en la segregación cromosómica, en la recombinación y en la replicación del ADN. En eucariotas la heterocromatina constitutiva está hipoacetilada, con ausencia de metilación de H3K4, pero en cambio es rica en ADN metilado, en dimetilación y en trimetilación de H3K9 y en metilación de H3K27 y H4K20.

La evidencia acumulada apoya la noción de que H3K4, H3K36 y posiblemente H3K79 facilitan la apertura de la configuración de la cromatina para formar eucromatina, que también está asociada con la fosforilación de la serina 10 y la acetilación de la lisina 9 de la histona H3, lo que permite la transcripción activa de los genes. En contraste, H3K9 y H3K27 están fundamentalmente relacionadas con la iniciación, la propagación y el mantenimiento de la heterocromatina altamente compactada para silenciar la expresión génica.

Tal parece que la metilación del ADN o las modificaciones de histonas podrían atraer complejos represivos y generar una conformación de la cromatina que impide la actividad transcripcional. Esta alteración en la estructura de la cromatina influye a su vez en la cromatina cercana y la hace más sensible a la difusión de la metilación.^(6,7,8)

Otros factores epigenéticos adicionales

Aún cuando los mecanismos epigenéticos antes señalados constituyen el soporte o el basamento de la epigenética, recientes avances han ampliado los conocimientos sobre este campo de la ciencia al incluir otros procesos epigenéticos como el ácido ribonucleico (ARN) no codificante, los pequeños ARN, los priones, los efectos de la posición cromosómica y los mecanismos "Polycomb".^(7,13)

Los ARN no codificantes de proteínas (ncARNs) son ARN que se transcriben del ADN pero que no se traducen en proteínas. Muchos son funcionales y están relacionados en el procesamiento y la regulación de otros ARN como el ARN mensajero, de transferencia y el ribosomal. Los ARN de procesamiento incluyen a los ARN pequeños nucleares relacionados con el proceso de corte y empalme, del inglés "splicing", los ARN pequeños nucleolares que modifican los nucleótidos en el ARN ribosomal. Otros pequeños ncRNAs tales como los microARN y los ARN pequeños de interferencia están involucrados en la regulación de la cromatina. Aunque muchos de estos últimos tipos de ncARNs se agrupan bajo el término de ARN de interferencia, está claro que existen muchas formas diferentes en que los

ncARNs pueden interactuar con los genes para activar o suprimir su expresión y para silenciar la transcripción o guiar la metilación.

Los ncARNs que incluyen, además de los pequeños RNA, las formas largas a menudo comparten proteínas con la vía de los ARN de interferencia (ARNi), que influyen también en los aspectos más tradicionales de la epigenética, la metilación de ADN y la conformación de la cromatina. Los ARNi constituyen un mecanismo mediante el que los ARNs de doble cadena son usados para la regulación secuencia-específica de la expresión génica, en la que muchos de los nucleótidos del ncARNs se unen a la región promotora de un ARN mensajero e interfieren con su procesamiento normal y, consecuentemente, provocan el silenciamiento de la expresión de los ARN mensajeros.⁽¹⁴⁾

El término príon fue propuesto por Prusiner en la década del 80 del siglo XX para definir a partículas infecciosas preteínáceas. Los priones pueden influir en los procesos epigenéticos independientemente del ADN, las histonas y de la cromatina. Las proteínas priónicas son capaces de alternar espontáneamente su estructura en una forma autocatalítica y adoptar un estado monomérico u oligomérico, lo que no solo puede influir en la expresión génica, sino también en la aparición de enfermedades en el humano al alterar la función de las proteínas y consecuentemente del fenotipo de la célula.⁽¹⁵⁾

La posición de un gen en un cromosoma dado también puede influir grandemente en su expresión, un ejemplo clásico son los loci próximos a los telómeros, con silenciamiento de los genes localizados en su proximidad, en lo que se denomina "efecto por posición telomérica". El efecto de la posición cromosómica fue originalmente descubierto en estudios realizados en la drosófila mediante la inducción de rearrreglos cromosómicos inducidos por rayos X en los que se demostró que producto de un rearrreglo cromosómico un gen puede ser reubicado en una región de heterocromatina del genoma, lo que conlleva a su silenciamiento transcripcional.⁽⁷⁾

El grupo de proteínas polycombs (PcG, del inglés: Polycomb group) fueron descubiertas, por primera vez, en el estudio de los genes homeóticos y su regulación en la drosófila. Su nombre proviene del hecho de que el primer signo de la disminución de la función de PcG es la transformación homeótica de las patas posteriores de la mosca en patas anteriores, las que tienen la forma característica de un conjunto de cerdas en forma de peine o de antenas. Un reciente estudio sugiere que estas proteínas permanecen unidas a la cromatina y al ADN durante la replicación in vitro. La retención del grupo PcG a través del proceso de replicación contribuye al mantenimiento del silencio transcripcional durante la división celular.

La maquinaria esencial del PcG consiste en dos complejos multiproteicos: complejos represivos 1 y 2 (PRC1 y 2, del inglés: Polycomb repressive complex). Estudios realizados sobre el papel del PcG en la expresión de los genes Hox indican que la represión de estos genes diana depende de una temprana decisión, que esencialmente consiste en un silenciamiento que es mantenido de manera estable a través de todo el desarrollo posterior. El descubrimiento que los mecanismos del PcG involucran a un gran número de genes, muchos de los que son importantes en decisiones posteriores del desarrollo y en respuestas a

diferentes señales, sugiere con gran seguridad que este silenciamiento del todo o nada podría no ser la regla general, puesto que muchos genes necesitan ser reprimidos por un tiempo en el desarrollo y luego ser reactivados. Una evidencia aún más relevante muestra que estos PcG pueden coexistir con algún nivel de actividad transcripcional.⁽¹⁶⁾

En el año 1999 Cavalli y colaboradores demostraron que los PcG que epigenéticamente mantienen la expresión o la represión de los genes durante el desarrollo pueden ser transmitidas también a través de la meiosis.⁽²⁾

Metabolismo del ácido fólico

El ácido fólico (AF) es una vitamina perteneciente al complejo B y se encuentra en diferentes alimentos como el jugo de naranja y el de otros cítricos, los vegetales con hojas verdes, los frijoles, la habichuela, el maní y las lentejas, entre otros, en los que está presente en forma de poliglutamatos conjugados.⁽¹⁷⁾

Su estructura consta de un núcleo de pteridina y de ácido para-amino benzoico ligados a uno o varios residuos de ácido glutámico. Una vez absorbido el AF se convierte, mediante la enzima dihidrofolato reductasa, en su forma biológicamente activa: el ácido tetrahidrofólico (THF).

Las unidades de carbono que transporta el THF (es decir, grupos metilo, metileno, metenil y formil) están unidas al N5 y al N10 (o a ambos) del anillo de pteridina. El AF es esencial para la síntesis de novo de precursores de nucleótidos y además tiene la finalidad de lograr niveles adecuados de metilación del ADN, necesario para el proceso de morfogénesis.

Estas dos funciones principales del metabolismo del folato se cruzan en la reacción catalizada por la enzima metionina sintasa (MS), que es dependiente del folato y de la vitamina B12; así, por una parte, produce THF para la síntesis del nucleótido precursor de ADN y, al mismo tiempo, regenera metionina desde la homocisteína para las reacciones de metilación celular.

Es importante destacar que la enzima metionina sintasa reductasa (MTRR) es la que mantiene los niveles adecuados de metilcobalamina II, cofactor de la MS. Por la acción de la enzima metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) se logra que el metabolito 5,10 metilentetrahidrofolato (5,10 MTHF) se transforme en 5 metiltetrahidrofolato (5 MTHF) y, a su vez, de lugar al THF. Esta cascada de reacciones garantiza que se donen grupos metilo, imprescindibles para la metilación de la homocisteína, y logra la formación de la metionina y de la S adenosil metionina (SAM), el mayor donante intracelular de grupos metilo.

En la síntesis de ADN, con la conversión del deoxiuridiltrifosfato (dUTP) en deoxitimidiltrifosfato (dTTP), se logran niveles elevados de dihidrofolato (DHF), que se incorpora al ciclo y se transforma en tetrahidrofolato (THF) metabólicamente activo, de modo que la actividad de la enzima MTHFR determina la magnitud en que los derivados del folato son encaminados a una u otra vía, es decir, hacia la síntesis de ADN o a la metilación celular.⁽¹⁸⁾

Existen factores tanto genéticos como ambientales que determinan la disminución de los niveles séricos de AF: la administración de medicamentos (por ejemplo, las drogas anticonvulsivantes que inhiben la enzima dihidrofolato reductasa), el

déficit de AF por una cirugía gástrica, el síndrome de mala absorción intestinal, la desnutrición o, simplemente, por la no ingestión de sus principales fuentes alimenticias, mientras que entre los factores genéticos se encuentran los diferentes polimorfismos de la enzima MTHFR.^(17,19)

Relación entre los fenómenos epigenéticos y la deficiencia materna de AF y otros micronutrientes en el origen de defectos congénitos

Existen patrones epigenéticos reversibles, transitorios y circadianos controlados por el remodelado de la cromatina que son sensibles a los factores ambientales. Particularmente importante en el programa epigenético es el estado nutricional de la madre durante el embarazo y la lactancia.⁽⁷⁾

Resultado de los cambios dinámicos de la regulación epigenética en el desarrollo, y particularmente durante la gametogénesis y la embriogénesis temprana, el epigenoma muestra una labilidad natural que le lleva a responder y adaptarse a factores ambientales de estrés, incluidas las modificaciones nutricionales. Por este hecho, el aporte de suplementos nutricionales alrededor de la concepción o la restricción en la dieta materna de oligoelementos como el AF, la betaína, la colina, la metionina o la vitamina B12 en modelos de experimentación han demostrado que afecta el establecimiento de los patrones de metilación del DNA y altera la expresión genética y el fenotipo de la descendencia.

En fecha tan temprana como 1944 Callender observó una aparente relación entre la deficiencia AF y una incidencia incrementada de prematuridad. Con posterioridad, en la década de los años 60, otros investigadores lo confirmaron y emitieron la hipótesis de que un estado de desnutrición de aporte inadecuado de AF podría originar un defecto de cierre del tubo neural (DTN). El aporte suficiente de AF permite que la neurulación del cerebro y de la médula espinal, que ocurre entre los días 21 y 28 después de la concepción en los humanos, se lleve a cabo en forma correcta. La capacidad epigenética del AF, lograda mediante la adición de radicales metilos en los islotes CpG, regula ese proceso y disminuye la incidencia de DTN.^(18,20)

Además, se plantea la capacidad del AF de inducir modificaciones epigenéticas a través de la modificación de histonas y de acción mediante ncRNAs o de micro RNAs. Además del AF, otros micronutrientes como la betaina, la colina, la metionina y el zinc son necesarios para la conversión de homocisteína en metionina, así los efectos de la deficiencia de estos nutrientes están interrelacionados, pues de la interacción entre ellos se originan diferentes alteraciones epigenéticas del ADN.⁽⁷⁾

El zinc actúa como cofactor de numerosas enzimas que intervienen en la síntesis de ADN y ARN, su déficit se ha asociado a defectos congénitos, especialmente los esqueléticos, y DTN,^(16,18) mientras que el AF desempeña un papel fundamental en el metabolismo de un carbón que produce pirimidinas y purinas para la síntesis del ADN y para la generación de S-adenosil metionina (SAM), que es un donante universal de grupos metilos que regula diversos procesos epigenéticos, por ejemplo, la enzima histona metil transferasa usa los grupos metilos para inducir

marcas epigenéticas. Se conoce que la biodisponibilidad de SAM está directamente influenciada por la dieta.^(7,21)

Estudios recientes han mostrado que una dieta deficiente en donantes de grupos metilo provoca cambios en los niveles de metilación de los residuos de lisina y arginina en las histonas H3 y H4 y que diferentes minerales como el níquel y el cromo inducen cambios en los patrones de metilación de las histonas H3K4, H3K9 y H3K27, que resultan en diferentes grados de toxicidad y de efectos teratogénicos en ratones.⁽¹⁰⁾

Se describen diferentes modificaciones de las histonas influenciadas por los componentes de la dieta como la carbonilación que se reduce por efectos de la restricción dietética y el envejecimiento, la ubiquitinación regulada por el níquel y otras modificaciones menos conocidas como la ADP-ribosilación, la deiminación o la citrulinación, la lisina propionilación y la butirilación.^(3,5,6,8,10)

Estudios experimentales y clínicos han demostrado que el fenómeno de la no-disyunción está asociado a una inestabilidad cromosómica que está relacionada con una hipometilación del ADN. En un experimento realizado con células de plantas y animales en el que se indujo una hipometilación del ADN tratándolo con 5-azacitidina se observaron inestabilidad cromosómica y aneuploidías. La trisomía 21 o síndrome de Down (SD) es la aneuploidía más estudiada en humanos, pero es poco lo que se conoce sobre su origen molecular, la única variable aceptada en todo el mundo relacionada con la aparición del SD es la avanzada edad materna aunque, recientemente, se asume que las causas fundamentales están relacionadas con la alteración de los mecanismos de recombinación y la asociación de inestabilidad cromosómica por hipometilación del ADN, lo que hace posible considerar que alteraciones del metabolismo del AF podrían estar relacionadas con la aparición de este síndrome debido a que este participa tanto en la síntesis como en la metilación del ADN, a través de la vía metabólica de la homocisteína.⁽¹⁸⁾

En una investigación realizada Wilson y colaboradores concluyeron que la suplementación oral con ácido fólico o una dieta rica en folatos, combinada con una suplementación de multivitaminas y micronutrientes, se asoció no solo con una disminución en la incidencia de DTN y otros defectos congénitos, sino también con complicaciones obstétricas.⁽²²⁾

Diferentes estudios se han realizado para investigar la metilación global o metilación locus específica de ADN en pacientes con DTN. Está bien documentado que la deficiencia de AF incrementa el riesgo de estos defectos congénitos por disminución de la metilación de ADN, los estudios en humanos varían ampliamente en cuanto al diseño en términos de analizar diferentes subtipos clínicos de DTN, usar diferentes métodos de cuantificación de la metilación o estudiar ADN obtenido de tejidos diferentes. Algunos investigadores se han centrado, fundamentalmente, en las diferencias de metilación del ADN global, mientras que otros han cuantificado las diferencias de metilación específica en genes improntados, elementos transponibles y genes que codifican para enzimas reparadoras de ADN. Los hallazgos de hipometilación global del ADN sugieren que las alteraciones epigenéticas pueden provocar la disrupción del proceso de cierre del tubo neural; sin embargo, recientes estudios no encontraron una correlación

lineal entre la concentración eritrocitaria de AF y los niveles de metilación del ADN, por lo que los investigadores concluyen que se requieren de nuevas investigaciones para una mejor comprensión de la interacción existente entre los niveles de AF, la metilación del ADN y la aparición de DTN.^(21,23)

Toriyama y colaboradores usaron un modelo animal y mediante el estudio de células de mamíferos cultivadas y demostraron que la disrupción de la vía de la metilación mediada por el AF compromete el cierre normal del tubo neural y la ciliogénesis al observar que los embriones con DTN tenían una inadecuada metilación del gen "septin2", un gen clave en la regulación de la estructura y la función de las estructuras ciliadas que afecta la formación del complejo de septinas2-6-7. Estos investigadores concluyeron que el AF favorece el cierre adecuado del tubo neural al regular la metilación de las septina2, que es fundamental para la formación normal de los cilios durante el desarrollo embriológico temprano.⁽²⁴⁾

Además de los niveles de AF, se ha estudiado su relación con otros factores maternos como la obesidad sobre los niveles de metilación del ADN así, en un estudio realizado para determinar los niveles séricos de AF y los cambios en los patrones de metilación en 2 098 islotes CpG en 91 genes relacionados con el metabolismo del AF y la aparición de DTN, en mujeres con normopeso -con un índice de masa corporal (IMC: 18.5-24.9 kg/m²)- y obesidad (IMC>30kg/m²) a las que se les administraron 800µg diarios de AF por ocho semanas, los autores observaron que las concentraciones séricas de AF se incrementaron en ambos grupos luego de la suplementación con AF; sin embargo, las mujeres obesas mantuvieron una relativa baja concentración. Ocurrieron cambios en la metilación de 56 y 99 islotes CpG en respuesta a la suplementación en las mujeres normopeso y obesas, respectivamente. Un análisis de la ontología de los genes seleccionados reveló una respuesta a la suplementación en 61 procesos biológicos, cinco de ellos se identificaron solamente en mujeres con normopeso, relacionados con el cierre del tubo neural, mientras que en las mujeres obesas se identificaron 13 de los 61 procesos biológicos, incluidos el metabolismo del AF, de la vitamina B12 y de procesos relacionados con la metilación del ADN.⁽²⁵⁾

Consideraciones finales

Entre los programas preventivos se incluye la suplementación con tabletas de vitaminas y minerales a todas las mujeres en edad reproductiva y especialmente a las adolescentes. En Cuba se distribuye gratuitamente el suplemento nutricional con el nombre comercial de Mufer (que contiene 185mg de hierro y 400µg de ácido fólico) a mujeres en el período preconcepcional; sin embargo, la distribución semanal de suplementos de ácido fólico e hierro en las escuelas y centros de trabajo es una estrategia que tiene una mayor eficacia que la suplementación preconcepcional en mujeres jóvenes con intención de embarazarse, pues una gran cantidad de embarazos no son planificados.

Otras intervenciones con gran impacto en el estado nutricional de micronutrientes en el embarazo incluyen la educación sanitaria y las campañas de promoción del consumo de una dieta balanceada que contenga fuentes naturales de folatos y de

otros oligoelementos como el zinc, el cobre, el hierro y el selenio antes y durante la gestación. Intervienen los Ministerios de Salud Pública y de la Agricultura (programas de la agricultura urbana y de desarrollo de los organopónicos y los huertos populares).

La fortificación de alimentos es otra intervención dietética que se practica por más de medio siglo en muchos países del mundo. En Cuba está implementado el programa de fortificación con iodo en la sal de cocina (desde hace varios años toda la sal que se consume en el país está iodada); sin embargo, aún resultan insuficientes las acciones que se pueden desarrollar en este campo para garantizar, por ejemplo, que todas las pastas y panes que se consumen en el país estén fortificadas con ácido fólico o iniciar la fortificación del cereal de mayor consumo en la población cubana: el arroz.

En la actualidad es una tendencia mundial la fortificación de diferentes cereales con otros micronutrientes, además del ácido fólico, como el hierro, el zinc e, incluso, el selenio. En 80 países del mundo está legislada la obligatoriedad de fortificar al menos un cereal (79 países tienen legislado fortificar la harina de trigo, en 12 se fortifica la harina de maíz y en cinco el arroz).⁽²⁶⁾

CONCLUSIONES

El hecho de que las alteraciones epigenéticas, en contraste con los cambios genéticos como las mutaciones, son reversibles, tiene importantes implicaciones para la implementación de estrategias para la prevención de diferentes defectos congénitos relacionados con la deficiencia materna de ácido fólico y otros micronutrientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Taboada Lugo N. La evolución desde la perspectiva de la genética poblacional. En: Lardoeyt Ferrer R. Fundamentos de Genética Médica Poblacional [Internet]. La Habana: Ed Ciencias Médicas; 2016. p. 90-106. [citado 8 Ene 2018]. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/libros/fundamento_genetica/indice_p.htm
2. Cavalli G, Paro R. Epigenetic inheritance of active chromatin after removal of the main transactivator. Science [Internet]. 1999 Oct [citado 8 Ene 2018];286(5441):955-958. Disponible en: <http://science.sciencemag.org/content/286/5441/955/tab-pdf>
3. Feil R, Fraga MF. Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. Nature Rev Genetics [Internet]. 2012 Jan [citado 8 Ene 2018];13:97-109. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrg3142>
4. Taboada LN, Lardoeyt FR. Discapacidad intelectual: Aproximación a factores causales genéticos y epigenéticos. Rev Investig Inform Salud [Internet]. 2012 [citado 8 Ene 2018];7(18):45-52. Disponible en: <http://saudepublica.bvs.br/pesquisa/resource/pt/cum-57350>
5. Novelle García M. Análisis de la influencia epigenética de los tratamientos de reproducción asistida en los resultados gestacionales y perinatales [tesis de doctorado]. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; 2015 [citado 8 Ene 2018]. Disponible en:

https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/666365/nouvelle_%20garcia_monica.pdf?sequence=1

6. García Robles R, Ayala Ramírez PA, Perdomo Velásquez SP. Epigenética: definición, bases moleculares e implicaciones en la salud y en la evolución humana. Rev Cienc Salud [Internet]. 2012 [citado 8 Ene 2018];10(1):59-71. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=56222455006>
7. Tollefsbol T. Handbook of epigenetics: the new molecular and medical genetics. 2nd ed. Oxford: Academic Press; 2011. p. 618. Disponible en: <https://www.elsevier.com/books/handbook-of-epigenetics/tollefsbol/978-0-12-805388-1>
8. Canetti E. Epigenética: una explicación de las enfermedades hereditarias. Perinatol Reprod Hum [Internet]. 2003 [citado 8 Ene 2018];17(2):57-60. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/inper/ip-2003/ip032a.pdf>
9. Zovkic IB, Meadows JP, Kaas GA, Sweatt JD. Interindividual variability in stress susceptibility: A role for epigenetic mechanisms in PTSD. Front Psychiatry [Internet]. 2013 Jun [citado 8 Ene 2018];4:60. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3693073/>
10. Tchasovnikarova IA, Kingston RE. Beyond the Histone Code: A Physical Map of Chromatin States. Mol Cell [Internet]. 2018 Jan [citado 8 Ene 2018];69(1):5-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29304334>
11. Robinson DCL, Dilworth FJ. Epigenetic regulation of adult myogenesis. Curr Top Dev Biol [Internet]. 2018 [citado 8 Ene 2018];126:235-284. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29305001>
12. Fukuto A, Ikura M, Ikura T, Sun J, Horikoshi Y, Shima H, et al. SUMO modification system facilitates the exchange of histone variant H2A.Z-2 at DNA damage sites. Nucleus [Internet]. 2018 Jan [citado 8 Ene 2018];9(1):87-94. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29095668>
13. Allis CD, Jenuwein T. The molecular hallmarks of epigenetic control. Nature Reviews Genetics [Internet]. 2016 Jun [citado 8 Ene 2018];17:487-500. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrg.2016.59>
14. Huang X, Zhou X, Hu Q, Sun B, Deng M, Qi X, et al. Advances in esophageal cancer: A new perspective on pathogenesis associated with long non-coding RNAs. Cancer Lett [Internet] 2018 Jan [citado 8 Ene 2018];413:94-101. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29104147>
15. Antony H, Wiegman AP, Wei MQ, Chernoff YO, Khanna KK, Munn AL. Potential roles for prions and protein-only inheritance in cancer. Cancer Metastasis Rev [Internet]. 2012 Jun [citado 8 Ene 2018];31(1-2):1-19. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22138778>
16. Bratkowski M, Yang X, Liu X. Polycomb repressive complex 2 in an autoinhibited state. J Biol Chem [Internet]. 2017 Aug [citado 8 Ene 2018];292(32):13323-13332. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28607149>
17. Taboada Lugo N. Papel del ácido fólico, zinc y cobre en la prevención primaria de los defectos congénitos. Rev Cubana Med Gen Integ [Internet]. 2016 [citado 8 Ene 2018];32(4):[aprox. 9 p.]. Disponible en: <http://revmgi.sld.cu/index.php/mgi/article/view/167/110>
18. Montoya Villegas JC, Satizábal Soto JM, García Vallejo F, Sánchez Gómez A. Perspectiva y comprensión bioquímica del síndrome de Down. El Hombre y la Máquina [Internet]. 2008 Ene-Jun [citado 8 Ene 2018];30:118-129. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=47803011>

19. Taboada Lugo N, Mollineda Trujillo A, Herrera Martínez M, Algora Hernández AE, Noche González G, Noa Machado MD. Niveles séricos de zinc y cobre en madres con descendencia afectada por defectos del tubo neural. Rev Cubana Pediatr [Internet]. 2017 Jul-Sep [citado 8 Ene 2018];89(3):299-309. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312017000300004
20. Moreno Villares JM. Los mil primeros días de vida y la prevención de la enfermedad en el adulto. Nutr Hospitalaria [Internet]. 2016 [citado 8 Ene 2018];33(Supl 4.):8-11. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/3092/309246965003/>
21. Rochtus A, Jansen K, Van Greet C, Freeson K. Nutri-epigenomic studies related to neural tube defects: Does folate affect neural tube closure via changes in DNA methylation? Mini Rev Med Chem [Internet]. 2015 [citado 8 Ene 2018];15(13):1095-102. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26349489>
22. Wilson RD, Audibert F, Brock JA, Carroll J, Cartier L, Gagnon A, et al. Pre-conception folic acid and multivitamin supplementation for the primary and secondary prevention of neural tube defects and other folic acid-sensitive congenital anomalies. J Obstet Gynaecol Can [Internet]. 2015 Jun [citado 8 Ene 2018];37(6):534-52. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26334606>
23. Wang L, Lin S, Zhang J, Tian T, Jin L, Ren A. Fetal DNA hypermethylation in tight junction pathway is associated with neural tube defects: A genome-wide DNA methylation analysis. Epigenetics [Internet]. 2017 Feb [citado 8 Ene 2018];12(2):157-165. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28059605>
24. Toriyama M, Toriyama M, Wallingford JB, Finnell RH. Folate-dependent methylation of septins governs ciliogenesis during neural tube closure. FASEB J [Internet]. 2017 Jul [citado 8 Ene 2018];31(8):3622-3635. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28432198>
25. Park HJ, Bailey LB, Shade DC, Hausman DB, Hohos NM, Meagher RB, et al. Distinctions in gene-specific changes in DNA methylation in response to folic acid supplementation between women with normal weight and obesity. Obes Res Clin Pract [Internet]. 2017 Nov-Dec [citado 8 Ene 2018];11(6):665-676. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871403X17300625>
26. Martorell R, Ascencio M, Tacsan L, Alfaro T, Young MF, Addo Y, et al. Effectiveness evaluation of the food fortification program of Costa Rica: impact on anemia prevalence and hemoglobin concentrations in women and children. Am J Clin Nutr [Internet]. 2015 Jan [citado 8 Ene 2018];101(1): 210-217. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajcn/article/101/1/210/4564282>

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

Recibido: 27-3-2018 / Aprobado: 18-1-2019

Noel Taboada Lugo. Centro Provincial de Genética Médica. Calle 1ra e/ A y B, Reparto Escambray. Santa Clara, Villa Clara, Cuba. Código Postal: 50200 Teléfono: (53)42221456 noeltl@infomed.sld.cu <http://orcid.org/0000-0002-1254-8087>