

Epigenètica: un pont entre els gens i l'ambient

L'epigenètica ha sorgit en les nostres vides, i res ja no tornarà a ser el que era. La metilació del DNA i les modificacions de les histones són marques químiques que s'afegeixen a la seqüència de DNA i indiquen quins gens es poden expressar i quins no. L'ambient, l'envelliment i l'estil de vida afecten la nostra salut molt més profundament del que ens pensàvem i canvien l'expressió dels nostres gens. Aquestes modificacions són reversibles, i entendre com funcionen obre un ventall de possibilitats tant a escala farmacològica amb vista a conèixer l'etiologia de moltes malalties.

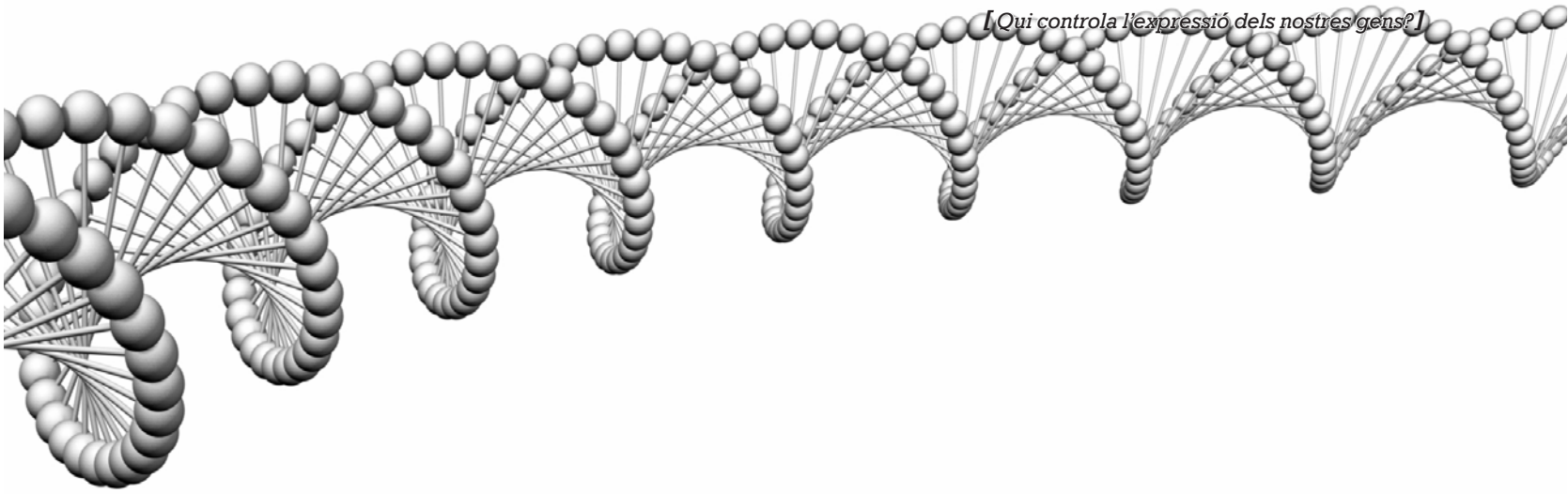
Escrit per

Sandra Pérez

Departament de Neuroquímica de la Universitat de Castellà la Manxa

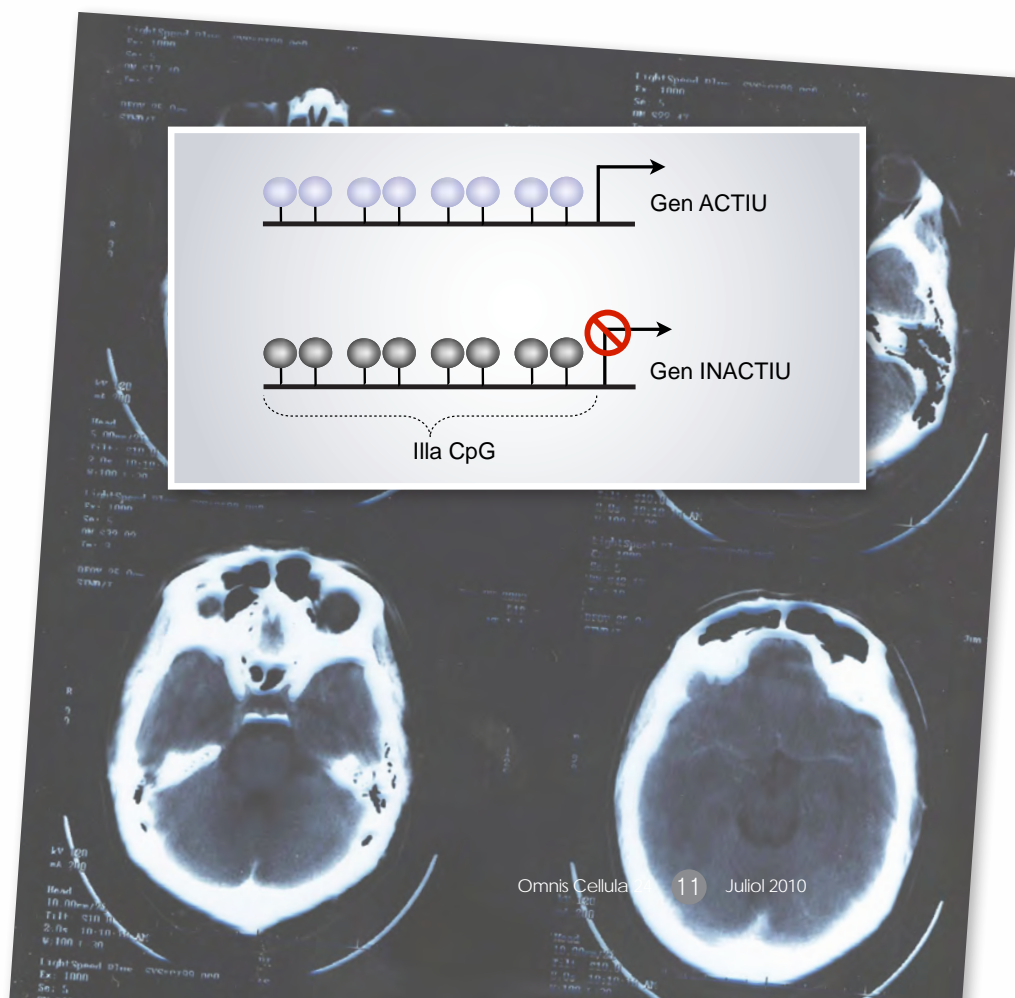
Al llarg de la nostra vida la seqüència de DNA és pràcticament la mateixa, tot i això, els canvis en el nostre aspecte són evidents: envellim. Canvien els nivells hormonals, la resposta immunitària, l'activitat de molts enzims i rutes metabòliques; és a dir, canvia el nostre programa de regulació gènica. Les claus per entendre aquests canvis es troben en les modificacions que els factors ambientals i l'envelliment provoquen sobre la regulació dels nostres gens. L'epigenètica és la maquinària responsable del control de l'expressió gènica i, per tant, ens permet entendre de quina manera l'ambient influeix en la nostra vida i en el desenvolupament de malalties. Una evidència de la importància de l'epigenètica han estat els estudis amb bessons monozigòtics. Aquests bessons comparteixen una mateixa seqüència de DNA, però, en certs casos, resulten discordants per a alguna malaltia o síndrome amb un clar component genètic. L'any 2005, el doctor Manel Esteller va publicar a la revista *Proceedings of the National Academy of Sciences* (PNAS) un estudi amb quaranta parelles de bessons monozigòtics entre els tres i els setanta-quatre anys. Aquest estudi va demostrar l'acumulació de canvis en els patrons epigenètics en funció de l'edat; és a dir, com més grans són els bessons, més diferents són. Per tant, l'envelliment i l'estil de vida tenen un paper en el desenvolupament de moltes malalties.

L'epigenètica estudia els canvis transmissibles a través de divisions mitòtiques que afecten l'expressió gènica sense alterar la seqüència de DNA; és a dir, estudia els mecanismes que modulen l'expressió dels gens. La molècula de DNA, on hi ha codificats aproximadament 25.000 gens, es troba encapsulada 10.000 vegades en el nucli cel·lular. Per aconseguir-ho, està sotmesa a un estricte mecanisme d'empaquetament que limita l'accés de la maquinària transcripcional a la seqüència del DNA. El grau de compactació i, per tant, l'expressió o no del gens, és regulada per les modificacions epigenètiques: la metilació del DNA, les modificacions de les histones i els RNA no codificants petits. La metilació del DNA és la principal modificació epigenètica que regula el silenciament gènec. En eucariotes, es basa en l'addició d'un grup metil en la posició C⁵ de les citosines precedides per guanines, anomenades *dinucleòtids CpG*. En el genoma, la proporció i distribució dels dinucleòtids CpG no és aleatòria, sinó que es troben enriquits en les regions promotores d'un 40 % dels gens de mamífers i s'anomenen *illes CpG*. En teixits sans, les illes CpG no es troben metilades i permeten l'expressió dels gens que controlen. En canvi, en un càncer, per exemple, certes illes CpG queden metilades i apaguen amb un interruptor l'expressió del gen (figura 1). La metilació del DNA és un procés essencial per a la vida que intervé en processos com la inactivació del cromosoma





X, en els gens empremtats i en alguns gens específics de teixit. D'altra banda, els dinucleòtids que no formen part de les illes CpG estan sempre metilats, cosa que permet l'estabilització cromosòmica i el silenciament de seqüències endoparàsites. L'epigenètica ha donat un impuls molt important al camp de l'oncologia. Ara sabem, que el càncer és una malaltia tant genètica com epigenètica, on s'ha descrit, per exemple, la hipermetilació de gens supressors de tumors i, per tant, l'apagada de gens que ens haurien de protegir davant la malaltia. El patró de metilació és específic de cada tipus de càncer. La hipermetilació del promotor de BRCA1, per exemple, és específica del càncer de mama i, per tant, detectar-la pot esdevenir una eina de diagnòstic important. El gran avantatge de l'epigenètica respecte a la genètica és que les modificacions epigenètiques són reversibles. Avui, es coneixen fàrmacs que poden restaurar el patró epigenètic i que han demostrat que són eficaços en el tractament d'algunes leucèmies i limfomes.

L'estudi del paper de l'epigenètica s'ha estès a altres disciplines, com ara als trastorns neurològics i a les malalties neurodegeneratives. Recentment s'han identificat canvis en la metilació de gens, tant per hipermetilació com per hipometilació, en les malalties d'Alzheimer, de Parkinson i de Huntington. A tall d'exemple, vam realitzar un estudi de la importància de la metilació del DNA en els canvis d'expressió gènica del receptor d'adenosina A_{2A} ($A_{2A}R$) en la malaltia de Parkinson (PD). Aquesta patologia afecta aproximadament, un 2 % de les persones de més de seixanta-cinc anys. Es caracteritza per la pèrdua progressiva del sistema nigroestriatal, i la principal marca histopatològica és la presència d'agregats de la proteïna α -sinucleïna, anomenats *cossos de Lewy*. La clínica apareix quan degeneren més del 60 % de les neurones dopaminèrgiques de la substància negra *pars compacta* (SNpc) i això provoca tremolor, rigidesa muscular, inestabilitat postural i bradicinèsia. Tradicionalment, aquests pacients han estat



◀ **Figura 1.** Illa CpG. Les illes CpG són regions d'alta densitat de dinucleòtids CpG no metilats en la regió promotora de molts gens. La metilació d'aquesta regió silencia l'expressió gènica.

Llegenda:
 Dinucleòtid CpG no metilat 
 Dinucleòtid CpG metilat 

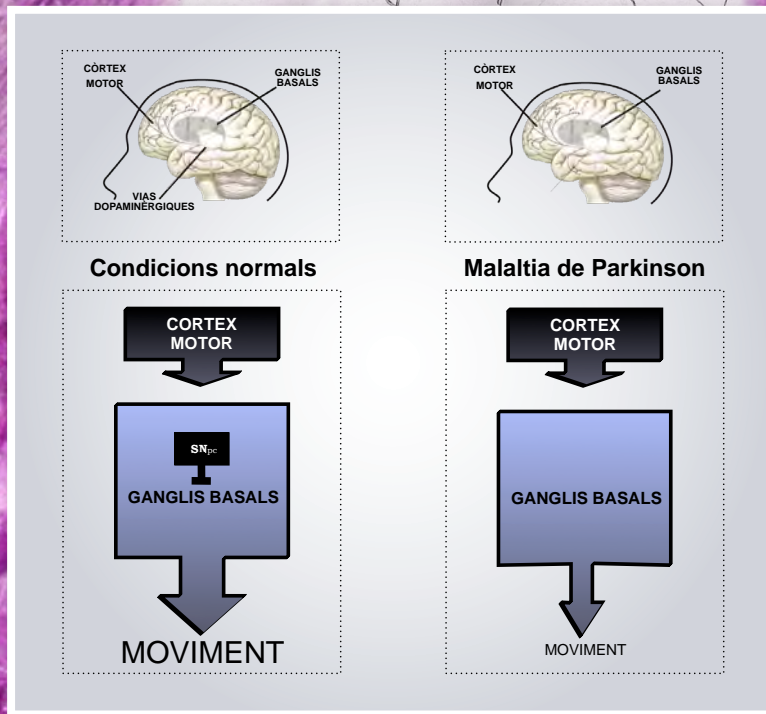
tractats amb L-dopamina (L-Dopa), una teràpia substitutiva de la dopamina. A partir dels dos anys de tractament, els pacients poden desenvolupar importants efectes secundaris dependents de la dosi de L-Dopa, com ara els moviments incontrolats o les discinèsies. La raó per la qual apareixen no es coneix, però s'ha descrit un augment del receptor d'adenosina $A_{2A}R$ en el nucli estriat de pacients de PD amb aquest tractament farmacològic. Recentment s'ha demostrat una correlació entre l'augment de $A_{2A}R$ i el progrés dels símptomes motors tant en pacients tractats amb L-Dopa com en els que no han rebut tractament.

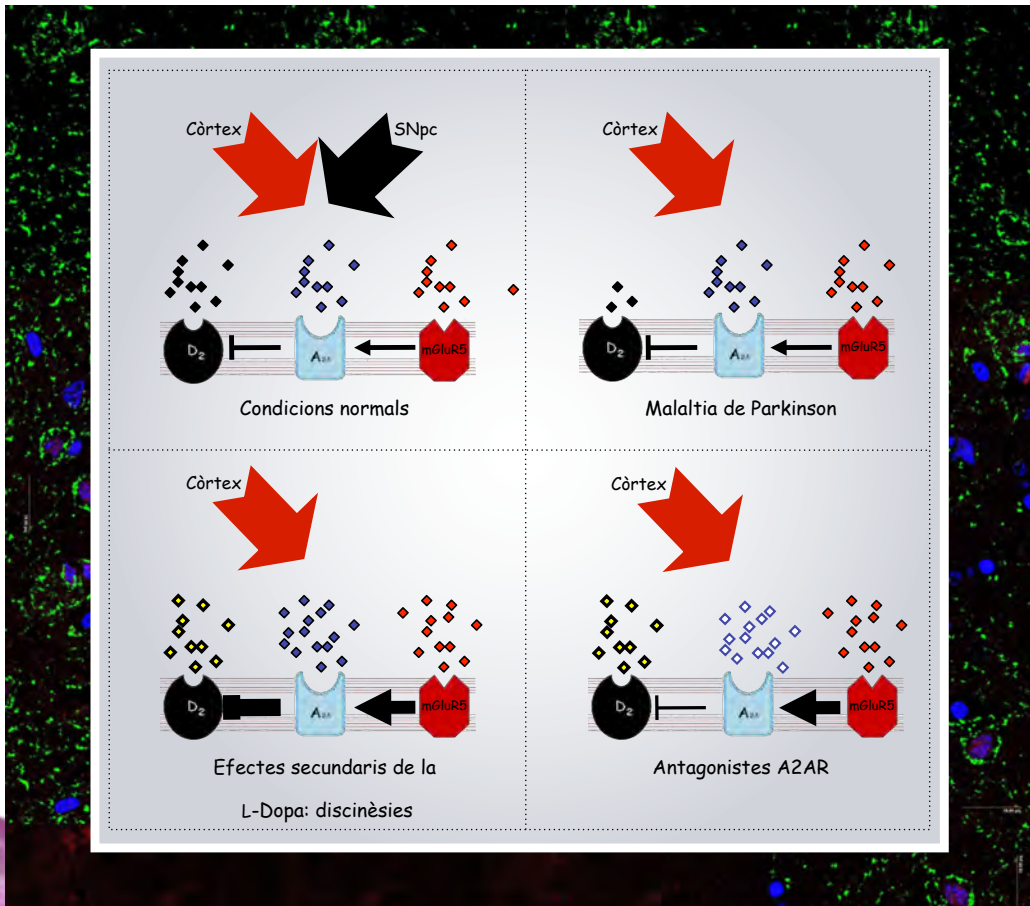
Per què és tan important el receptor d'adenosina $A_{2A}R$ en la malaltia de Parkinson?

El receptor $A_{2A}R$ és un receptor associat a la proteïna G que té l'adenosina com a agonista endogen. Aquesta purina realitza una gran varietat de funcions fisiològiques a través de quatre

receptors específics repartits per tot l'organisme: A_1 , A_{2A} , A_{2B} i A_3 . Clàssicament, es divideixen segons l'efecte antagonista que tenen sobre l'acció de l'adenilat ciclasa, on els receptors A_1 i A_{2B} l'inhibeixen i els receptors A_{2A} i A_3 l'activen. En el sistema nerviós central, l'adenosina té un doble paper modulador: com a regulador homeostàtic, comú a tots els tipus cel·lulars i associat al metabolisme energètic; i com a neuromodulador, un efecte limitat al terminal sinàptic de neurones excitadores com les glutamatèrgiques, on s'allibera juntament amb el neurotransmissor. El receptor d'adenosina $A_{2A}R$ està altament expressat en el nucli estriat dels ganglis basals, on té un paper diferent del de la resta del cervell. Els ganglis basals són un conjunt de nuclis altament interconnectats, reponsables del control del moviment, formats pel nucli estriat, el globus pàl·lid, el nucli subtalàmic i la substància negra. En el diagrama anatómic s'observa que en la malaltia de Parkinson les vies d'informació dels ganglis basals s'alteren a conseqüència de la pèrdua de les neurones de la substància negra, fet

► **Figura 2.** En la malaltia de Parkinson, la degeneració de la substància negra produeix un canvi en el circuit dels ganglis basals que produeix l'extinció del moviment.



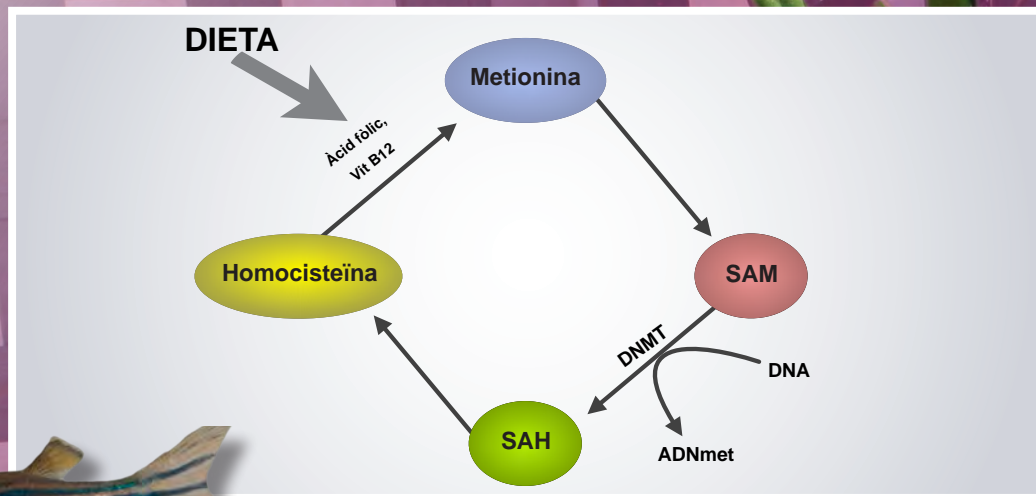


◀ **Figura 3.** Les neurones gabaèrgiques del circuit dels ganglis basals reben dues vies aferents: les vies glutamatèrgiques (corticals) i les vies dopaminèrgiques (SNpc). En la malaltia de Parkinson, la falta de dopamina és substituïda per la L-Dopa. Els tractaments a llarg termini generen efectes secundaris, com les discinèsies (moviments involuntaris en resposta a la dosi de L-Dopa). L'ús d'antagonistes del receptor A_{2A}R redueixen la dosi necessària i, per tant, els efectes secundaris. Adaptat de Schiffmann, S. N. [et al.], 2007 (6).

que provoca l'extinció del moviment (figura 2). El nucli estriat es considera la porta d'entrada dels ganglis basals i està format per un 90 % de neurones de projecció gabaèrgiques amb alta densitat d'espines dendrítiques. Cada espina rep dues aferències principals: les glutamatèrgiques i, per tant, excitadores, i les dopaminèrgiques, que són inhibidores. En les neurones gabaèrgiques, el receptor A_{2A}R es troba formant un heterodímer amb el receptor de dopamina 2 (D₂R) i amb el receptor metabotròpic de glutamat 5 (mGluR5), on el receptor mGluR5 activa el receptor A_{2A}R i aquest inhibeix al receptor D₂R. En la malaltia de Parkinson, quan la dopamina desapareix es produeix un augment de la inhibició del receptor D₂R, cosa que agreuja la simptomatologia. S'han realitzat estudis clínics amb antagonistes del receptor A_{2A}R, que permeten reduir la dosi de L-Dopa i retarden l'aparició de les discinèsies (figura 3). Tot i que aquest receptor ha estat molt estudiat des del punt de vista farmacològic, se sap molt poc sobre la regulació transcripcional a què està sotmès. Per tal de conèixer els mecanis-

mes moleculars responsables de l'increment patològic del receptor A_{2A}R en pacients que tenen la malaltia de Parkinson, vam estudiar un aspecte clau de la seva regulació transcripcional: la metilació del DNA. L'estudi bioinformàtic del gen ADORA2A, que codifica pel receptor d'adenosina A_{2A}R, ens va permetre delimitar una regió de 15.000 parells de bases de la regió 5'UTR com a candidata per a l'estudi del perfil de metilació. El treball es va realitzar amb dues línies cel·lulars: les HeLa, d'origen epitelial, i les U87-MG, que provenen de glioblastoma. Aquestes dues línies presenten nivells d'expressió del receptor molt diferents: les HeLa en presenten un nivell molt baix i les U87-MG, un nivell molt alt. Aquest estudi ens va permetre observar una relació inversa entre els nivells d'expressió dels receptors i el percentatge de metilació en la regió promotora del gen ADORA2A. Aquest fet obre les portes a pensar que l'increment patològic del receptor A_{2A}R en els pacients amb Parkinson descrit en diferents articles pot ser causat per una pèrdua de metilació de la regió promotora.

► **Figura 4.** Esquema del metabolisme de metilació del DNA.



Actualment existeixen tractaments farmacològics que permeten canviar el patró de metilació, tant amb agents desmetilants, com l'azacitidina, com a través d'agents metilants. Durant l'embaràs, per exemple, les dones amb un baix aport de folat en la dieta (un donador de grups metil) tenen un risc més gran que els seus fills pateixin defectes en el tub neural, és a dir, espina bífida. Per aquest motiu, les dones embarassades reben folat com a complement, cosa que redueix el percentatge de naixements amb aquesta malformació congènita (figura 4). En aquest sentit, en el nostre treball vam observar com l'ús d'agents desmetilants permeten augmentar l'expressió del receptor en les línies cel·lulars amb un alt percentatge de metilació, com les HeLa. Paral·lelament l'ús d'agents metilants com *S*-adenosilmetionina (SAM) en la línia cel·lular U87-MG, amb un percentatge de metilació menor, reduïa els nivells d'expressió del receptor $A_{2A}R$ tant en el mRNA com en les proteïnes. El SAM és un donador endogen de grups metil per mitjà de reaccions de transmetilació en àcids nucleics, proteïnes, lípids i amines biològiques. Aquest compost dona grups metil al DNA gràcies a les DNA-metiltransferases

(DNMTs). El cicle metabòlic està controlat per l'aport de cofactors per mitjà de la dieta com el folat i les vitamines B (B12 i B6) (figura 4). Una evidència de la importància de la dieta en el control epigenètic de l'expressió gènica són en els ratolins agutins. Aquests ratolins blancs poden canviar el color del seu pelatge a castany, si afegim a la seva dieta donadors de grups metil. El canvi de color és conseqüència de la metilació d'un promotor específic. A més, s'han descrit tractaments amb SAM, tant en línies cel·lulars com en ratolins transgènics models de la malaltia d'Alzheimer, que permeten reduir l'expressió de gens específics com la presenilina-1, una γ -secretasa important en la síntesi del pèptid β -amiloide.

Un altre punt que pot ser interessant és comparar el perfil de metilació en diferents regions cerebrals de qualsevol gen. Totes les cèl·lules de l'organisme tenen la mateixa seqüència de DNA, tot i que cada tipus cel·lular presenta silenciats un conjunt de gens específic i genera un transcriptoma diferent, i, per tant, una identitat cel·lular independent. L'estudi del perfil de metilació en diferents regions cerebrals pot ser la

resposta, tot i que no l'única, als diferents nivells d'expressió del receptor en el cervell. L'estudi dels nivells d'expressió, tant en condicions normals com patològiques, i l'estudi de compostos que en regulin l'encesa o apagada pot ser una resposta alternativa a la farmacològica.

L'ús d'antagonistes del receptor $A_{2A}R$ per reduir l'activitat del receptor en la malaltia de Parkinson ha estat un objectiu farmacològic durant els últims anys i ja es troba en assaigs clínics. L'epigenètica emergeix com una nova font de coneixement que, en pocs anys, donarà un nou impuls en la investigació de moltes malalties neurodegeneratives i desordres neurològics, com ho ha fet amb el càncer. La metilació del DNA i la modificació d'histones són modificacions químiques reversibles que obren les portes a un nou espectre de dianes farmacològiques i a l'esperança de noves teràpies. |



Referències bibliogràfiques

- BUIRA, S. P., [et al.] (2010). «DNA methylation regulates adenosine A(2A) receptor cell surface expression levels». *Journal of Neurochemistry*, vol. 112, núm. 5, p. 1273-1285.
- CALON, F., [et al.] (2004). «Increased adenosine A2A receptors in the brain of Parkinson's disease patients with dyskinesias». *Brain*, núm. 127, p. 1075-1084.
- CUNHA, R. A. (2001). «Adenosine as a neuromodulator and as homeostatic regulator in the nervous system: different roles, different sources and different receptors». *Neurochemistry International*, vol. 38, núm. 2, p. 107.
- DOLINOY, D. C. (2008). «The agouti mouse model: an epigenetic biosensor for nutritional and environmental alterations on the fetal epigenome». *Nutrition Reviews*, núm. 66 (supl. 1 S), p. 7-11.
- FRAGA, M. F., [et al.] (2005). «Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins». *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 102, núm. 30, p. 10604-10609.
- FUSO, A. (2008). «B-vitamin deprivation induces hyperhomocysteinemia and brain S-adenosylhomocysteinine, depletes brain S-adenosylmethionine, and enhances PS1 and BACE expression and amyloid-beta deposition in mice». *Molecular and Cellular Neuroscience*, núm. 37, p. 731-746.
- LADD-ACOSTA, C. (2007). «DNA methylation signatures within the Human Brain». *The American Journal of Human Genetics*, núm. 81, p. 1304-1315.
- SCHIFFMANN, S. N., [et al.] (2007). «Adenosine A2A receptors and basal ganglia physiology». *Prog Neurobiol*, vol. 83, núm. 5, p. 277-292.
- URDINGUIO, R. G., [et al.] (2009). «Epigenetic mechanisms in neurological diseases: genes, syndromes, and therapies». *The Lancet Neurology*, vol. 8, núm. 11, p. 1057-1072.
- VARANI, K., [et al.] (2009). «A2A adenosine receptor overexpression and functionality, as well as TNF- α levels, correlate with motor symptoms in Parkinson's disease». *FASEB J*, vol. 24, núm. 2, p. 587-598.

Sandra Pérez Buira

(El Vendrell, 1979)



Sandra Pérez és llicenciada en bioquímica per la Universitat Autònoma de Barcelona (2006)

i ha obtingut el grau de doctora en ciències biològiques el 2010. Ha redactat la tesi a l'Institut de Neuropatologia de l'Hospital de Bellvitge sota la direcció del doctor Isidre Ferrer i la doctora Marta Barrachina. Actualment treballa en el Laboratori de Neuroquímica de la Universitat de Castella-La Manxa, Ciudad Real, sota la direcció de la Dra. Mairena Martín Lopez.