Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana
ISSN: 0325-2957
ISSN: 1851-6114
actabioq@fbpba.org.ar
Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Argentina

Baralle, Francisco Ernesto; Mammarella, Carlos Alberto
Visión general y perspectivas futuras del estudio de las variaciones epigenéticas
Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, vol. 56,
núm. 4, 2022, Septiembre-Diciembre, pp. 397-406
Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53574785003

Cómo citar el artículo
Número completo
Más información del artículo
Página de la revista en redalyc.org

Sistema de Información Científica Redalyc
Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

*Reconocimiento a la trayectoria del Prof. Dr. Juan Miguel Castagnino†*

# Visión general y perspectivas futuras del estudio de las variaciones epigenéticas

Francisco Ernesto Baralle[1a*], Carlos Alberto Mammarella[2b]

[1] PhD MD.
[2] Doctor en Química.
[a] Fondazione Italiana Fegato-Onlus, Trieste, Italia
[b] Ex Gerente de Desarrollos Especiales de Asofarma S.A. Buenos Aires. Argentina.

* Autor para correspondencia.

**Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**
Incorporada al Chemical Abstract Service.
Código bibliográfico: ABCLDL.
**ISSN 0325-2957 (impresa)**
**ISSN 1851-6114 (en línea)**
**ISSN 1852-396X (CD-ROM)**

## Palabras en homenaje al Dr. Castagnino

*Para nosotros es un privilegio contribuir a esta publicación especial en homenaje al Dr. Juan Miguel Castagnino. Fue nuestro maestro, nuestro colega y amigo por más de 50 años. Nuestras carreras científicas y profesionales fueron tomando caminos divergentes con el correr de los años, pero no obstante ello, siempre nos mantuvimos en contacto.*

*Aprendimos con él y su equipo docente, "Análisis Biológicos", pero no sólo eso, aprendimos la importancia de las relaciones profesionales con nuestros maestros, las instituciones científicas y académicas.*

*El Dr. Castagnino fue un luchador incansable, preocupado por el reconocimiento profesional de quienes egresamos de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales en esa especialidad. A esa actividad dedicó muchos años, realizando innumerables gestiones con autoridades y responsables políticos para lograr el reconocimiento.*

*Siguió el curso de nuestros avances científicos y profesionales y siempre se interesó por nuestras actividades y los resultados de nuestros trabajos. Con su mente inquieta, muchas veces nos solicitó que diésemos alguna charla, en distintas instituciones académicas, cuando consideraba que nuestra experiencia y conocimiento eran de utilidad e importancia en el campo de la Bioquímica Clínica.*

*Fue un ejemplo de trabajo y perseverancia durante muchos años. Infatigable. En constante búsqueda de novedades que pudiesen aportar nuevos temas de interés para el docente, para el profesional y para los pacientes.*

*Nos dejó un ejemplo que siempre nos guiará.*

## Resumen

Los cambios epigenéticos juegan en el organismo un papel importante en el control de la expresión génica, durante el desarrollo y a lo largo de toda la vida, sobre todo durante el envejecimiento. En los últimos años se han acumulado evidencias que avalan la participación de los procesos epigenéticos en el desarrollo y evolución de diversas enfermedades como procesos tumorales, enfermedades genéticas, cardiovasculares y neurodegenerativas. Además, los marcadores epigenéticos (metilación del ADN, modificaciones en las histonas y los ARN no codificantes) podrían indicar la predisposición del individuo a determinados procesos patológicos. La administración de fármacos epigenéticos ha demostrado ser eficiente en el tratamiento de enfermedades tales como la aterosclerosis, neoplasias, procesos neurodegenerativos, enfermedades hepáticas, etc. En este artículo se abordarán algunos ejemplos de la contribución que las modificaciones epigenéticas dan a la patogenia de las enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares. En el futuro, la bioquímica clínica será frecuentemente utilizada en los análisis epigenéticos y ayudará al diseño de fármacos y estrategias terapéuticas dirigidas a modificar el epigenoma.


**Palabras clave: Marcadores epigenéticos; Envejecimiento; Aterosclerosis; Esclerosis lateral amiotrófica; Alzheimer; Parkinson; Fármacos epigenéticos**

## *Overview and future perspectives of the study of epigenetic variations*


## Abstract

*In the organism, epigenetic changes play an important role in the control of gene expression, during its development and throughout life, especially during ageing. In recent years, evidence has accumulated that supports the participation of epigenetic processes in the development and evolution of various diseases such as tumor processes, genetic, cardiovascular and neurodegenerative diseases. In addition, epigenetic markers (DNA methylation, histone modifications and non-coding RNAs) could indicate the predisposition to certain pathological processes. The administration of epigenetic drugs has proven to be efficient in the treatment of diseases such as atherosclerosis, neoplasms, neurodegenerative processes, liver diseases, etc. In this article we will address some examples of the contribution that epigenetic modifications give to the pathogenesis of neurodegenerative and cardiovascular diseases. In the future, clinical biochemistry will be frequently used in epigenetic analyzes and will help design drugs and therapeutic strategies aimed to modify the epigenome.*


***Keywords: Epigenetic markers; Aging; Atherosclerosis; Amyotrophic lateral sclerosis; Alzheimer; Parkinson; Epigenetic drugs***

## *Visão geral e perspectivas futuras do estudo das variações epigenéticas*


## Resumo

*As alterações epigenéticas têm no organismo um papel importante no controle da expressão gênica durante o desenvolvimento e ao longo de toda a vida, principalmente durante o envelhecimento. Nos últimos anos, foram acumuladas evidências que demonstram a participação dos processos epigenéticos no desenvolvimento e evolução de diversas doenças como, por exemplo, processos tumorais, doenças genéticas, cardiovasculares e neurodegenerativas. Além disso, os marcadores epigenéticos (metilação do DNA, modificações nas histonas e nos RNA não codificantes), poderiam indicar a predisposição do indivíduo a determinados processos patologicos. A administração de fármacos epigenéticos demonstrou ser eficiente no tratamento de doenças tais como a aterosclerose, neoplasias, processos neurodegenerativos, doenças hepáticas, etc. Neste estudo abordaremos alguns exemplos da contribuição que as alterações epigenéticas dão à patogenia das doenças neurodegenerativas e cardiovasculares. No futuro, a bioquímica clínica será frequentemente utilizada nas análises epigenéticas e ajudará ao desenho de medicamentos e estratégias terapêuticas dirigidas a modificar o epigenoma.*


***Palavras-chave: Marcadores epigenéticos; Envelhecimento; Aterosclerose; Esclerose lateral amiotrófica; Alzheimer; Parkinson; Medicamentos epigenéticos***

## Introducción

La epigenética es una rama de la biología molecular que estudia los cambios en la expresión génica, dependiente de eventos que modifican transitoriamente el patrimonio genómico individual. Interviene en la regulación de muchos procesos celulares como la inactivación del cromosoma X, la diferenciación celular y el silenciamiento de transposones en mamíferos (1) (2). Los mecanismos epigenéticos responsables de la regulación de la expresión génica son la metilación del ADN, la metilación y acetilación en las histonas y los ARN no codificantes (ncRNA). Es interesante notar cómo los fenómenos epigenéticos pueden activarse en respuesta a estímulos ambientales, nutricionales o cronológicos, como los ritmos circadianos y el envejecimiento. El papel crucial de los cambios epigenéticos en el control de la expresión génica se ha demostrado en varias enfermedades, como la aterosclerosis, el cáncer y los trastornos inflamatorios. Finalmente, los mecanismos epigenéticos también pueden provocar la aparición de enfermedades genéticas como el síndrome de Prader-Willi o el síndrome de Angelman (3) (4).

La epigenética permite adaptar la respuesta celular a eventos fisiológicos de forma dinámica y reversible, abriendo la posibilidad de identificar fármacos o tratamientos para modificarlos. Los procesos epigenéticos, en particular la modificación del ADN y las histonas, se llevan a cabo por un conjunto de enzimas que introducen las modificaciones epigenéticas, pero también existe otro conjunto de enzimas que las eliminan, dando a la célula la capacidad de modular la expresión génica en forma temporaria. Dado que los procesos epigenéticos son dinámicos y reversibles, representan una nueva perspectiva de *targets* terapéuticos en numerosas patologías.

## Mecanismos epigenéticos básicos

El ADN y su complejo con las histonas (H2A, H2B, H3 y H4) forman la cromatina, que es la unidad básica fundamental para la transcripción o el silenciamiento de genes, la transducción de señales, la reparación y replicación del ADN. La cromatina puede sufrir un proceso de remodelación, pasando de un estado de condensación muy compacto (heterocromatina) a un estado de conformación abierta (eucromatina), lo que permite que factores de transcripción nuclear o proteínas accedan al ADN dando por resultado una alteración en la expresión génica (3). En mamíferos, las modificaciones en la cromatina, como la metilación del ADN y las modificaciones en las histonas, son eventos comunes en las células. La metilación del ADN es un proceso epigenético que transfiere de forma covalente un grupo metilo (-CH3) a las citosinas, principalmente en el sitio del dinucleótido CpG, lo que provoca la represión transcripcional. Por el contrario, la hipometilación del ADN se observa comúnmente en la región codificante de los genes y en las regiones de iniciación de la transcripción en los genes activos. Una situación similar se encuentra en la modificación de las histonas (siempre reversible) que también contribuye a la regulación génica (4).

## Metilación del ADN

La metilación del ADN es un sistema de represión transcripcional, conservado evolutivamente, presente en casi todos los organismos estudiados (5) (6).

La reacción de metilación (Fig. 1) está catalizada por ADN metiltransferasas (DNMT), enzimas que transfieren un grupo metilo de la S-adenosil-L-metionina (SAM) al C5 de un residuo de citosina, creando 5-metilcitosina (5mC).

La adición del grupo metilo a las citosinas dentro de los dinucleótidos CpG evita que los factores de transcripción o la maquinaria transcripcional reconozcan sus secuencias distintivas. De hecho, la mayoría de los factores de transcripción de mamíferos tienen elementos de reconocimiento de ADN que contienen motivos ricos en CpG. La metilación del ADN actúa como una obstrucción estérica que impide la unión de estos factores. Además, la adición de un grupo metilo también

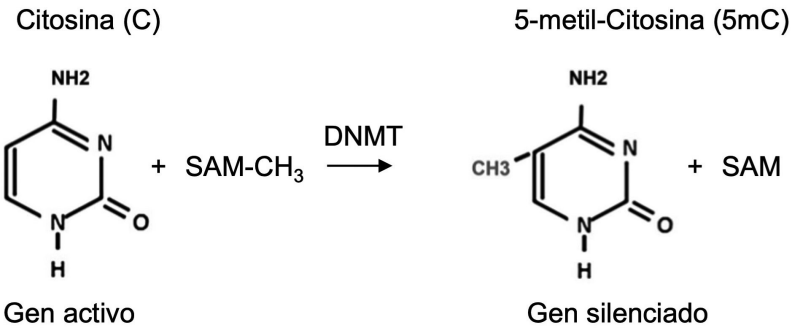


Figura 1. *La metilación del ADN. Las ADN metiltransferasas (DNMT) catalizan la transferencia del grupo metilo de una molécula de S-adenosil-L-metionina (SAM) al C5 de una citosina generando un silenciamiento génico.*

puede alterar la estabilidad o la posición del nucleosoma, excluyendo directamente el acceso de la maquinaria transcripcional (7). Dicha metilación puede alcanzar proteínas que poseen un dominio de unión al grupo metilo, "*methyl binding domain*" (MBD), las cuales están también involucradas en el silenciamiento de genes formando complejos que bloquean el acceso al ADN (8).

## Modificaciones en las histonas

El nucleosoma es la unidad básica de la cromatina y consiste en ADN enrollado alrededor de un octámero de histonas (H2A, H2B, H3 y H4) (9). Las "colas" de las histonas sobresalen del núcleo del nucleosoma y están sujetas a diferentes modificaciones postraduccionales que incluyen la fosforilación de serina y treonina, la acetilación de lisina, la metilación de lisina y arginina, la sumoilación y ubiquitinación de lisina y la isomerización de prolina (10). Las modificaciones de histonas (Figura 2) se convirtieron así en un objetivo para una variedad de factores de remodelación y/o asociación de la cromatina, mejorando o restringiendo el acceso de las proteínas reguladoras al ADN (11).

Las histonas acetiltransferasas (HAT) y las histonas desacetilasas (HDAC) promueven la adición o eliminación, respectivamente, del grupo acetilo en los residuos lisina de las histonas. Las lisinas acetiladas son plataformas de unión a proteínas que contienen un dominio específico (*bromodomain*) presente en algunos factores de transcripción, así como en subunidades de complejos remodeladores de cromatina (12). En general, la acetilación de los residuos de lisina en las histonas conduce a la activación transcripcional (13). Por el contrario, la eliminación del grupo acetilo de las colas de las histonas está asociada con la condensación de la cromatina y su pasaje a heterocromatina, bloqueando la maquinaria transcripcional al impedir su acceso al ADN, lo que resulta en el silenciamiento de la transcripción.

Por otro lado, las histonas metiltransferasas (HMT) catalizan la transferencia del grupo metilo a los residuos de lisina o arginina en las histonas H3 y H4. El efecto de la metilación de histonas, dependiendo de los residuos que se modifican, podría resultar en la represión (la metilación de H3K9, H3K27 y H4K20) o activación (la metilación de H3K4, H3K36 y H3K79) de la transcripción (14).

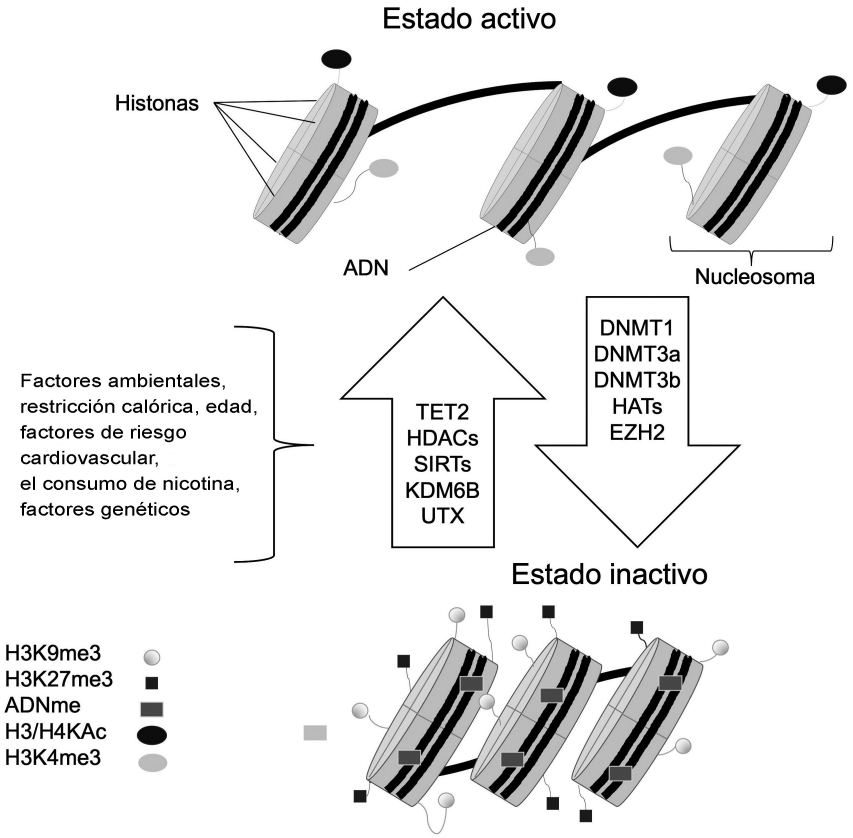


Figura 2. *Representación esquemática de la cromatina en sus dos estados, activa e inactiva. La interconversión es modulada por efectores epigenéticos, modificadores de la metilación del ADN y/o metilación o acetilación en las colas de las histonas.*

## ARN no codificantes

Los ARN no codificantes (ncRNA) son los actores más recientemente identificados en el campo de la epigenética. Los ncRNA mejor caracterizados son los microRNA (miRNA). Son pequeños ncRNAs que actúan a nivel postranscripcional, modulando la expresión génica. Si bien no alteran la estructura de la cromatina, se consideran mediadores de los mecanismos epigenéticos de regulación, ya que permiten cambios en la expresión génica sin alteraciones en la secuencia del ADN. Los ncRNA largos son una clase adicional de ARN no codificantes que desempeñan un papel importante en la regulación de la transcripción, a través de su interacción con la cromatina o los factores asociados a la cromatina. Este tema no será desarrollado en este artículo y se refiere al lector a la bibliografía (15) (16).

## Eventos epigenéticos en la aterosclerosis

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria crónica que conduce a eventos cardiovasculares agudos. A pesar de los esfuerzos por caracterizar los mecanismos subyacentes y comprender su compleja patogenia sigue siendo un punto crucial para la prevención de las enfermedades cardiovasculares (ECV), que son la principal causa de mortalidad en todo el mundo. Durante la última década, una información abrumadora respalda la participación de procesos epigenéticos en el desarrollo, la progresión y la vulnerabilidad de la placa ateromatosa. Las evidencias publicadas destacan la aplicación potencial de los fármacos epigenéticos para el tratamiento de esta patología. Estudios recientes sugieren que la metilación del ADN y las modificaciones de las histonas (en particular, la metilación y la acetilación) también juegan un papel importante en el desarrollo de otras enfermedades cardiovasculares (17).

Se ha establecido que los estímulos patológicos y múltiples factores de riesgo contribuyen a la complejidad de la aterosclerosis. Estos factores incluyen los clásicos de riesgo cardiovascular (hiperlipidemia, hiperglucemia, hiperhomocisteinemia y estrés psicológico), alteraciones hemodinámicas y factores ambientales como el tabaquismo, la nutrición y la microbiota intestinal (18) (19) (20). Entre éstos, por ejemplo, fumar tiene un fuerte efecto sobre la metilación del ADN a escala genómica, incluso después de dejar de fumar (21) (22) (23). La metilación del ADN es catalizada por ADN metiltransferasas 1 (DNMT1), 3a (DNMT3a) y 3b (DNMT3b) y es contrarrestada por las metilcitosina dioxigenasas pertenecientes a la familia Translocación Diez-Once 2 (TET1, 2 y 3) (Figura 2). El papel de la metilación del ADN mediada por DNMT1 y DNMT3a en la patogénesis de la aterosclerosis ha sido ampliamente confirmado (24) (25) (26). Estudios *in vitro* sugieren que la metilación del ADN está regulada por vías de señalización activadas por el proceso inflamatorio. Por ejemplo, en las células endoteliales vasculares, el flujo sanguíneo laminar deteriorado y las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (oxLDL) regulan las DNMT y HDAC, que luego reprimen la expresión de los factores de transcripción KLF4 y KLF2. El lipopolisacárido (LPS) induce la expresión del gen *KDM6B* en los macrófagos, que luego estimula la producción de varias citoquinas. Además, las HDAC tienen múltiples funciones en el control de la inflamación por los macrófagos. También intervienen controlando la regulación de la proliferación vascular de las células del músculo liso.

Experimentalmente, la exposición de las células endoteliales *human umbilical vein endotelial cells* (HUVEC) a estímulos proinflamatorios, como LDL oxidada (oxLDL), provoca un aumento de los niveles de la proteína DNMT1, que se asocia con la metilación del promotor del gen del factor 2 similar a Krüppel (*KLF2*) (27) (28) (29). Este gen pertenece a una familia de factores de transcripción antiinflamatorios, y su represión favorece la inflamación endotelial proaterogénica. El efecto de la oxLDL sobre la metilación de *KLF2* podría revertirse mediante el tratamiento de las células endoteliales con 5-azacitidina (5-AZA), un análogo químico de la citosina que bloquea la actividad de las DNMT. Se ha demostrado que la alteración del flujo laminar puede modificar la metilación del ADN, dando lugar a un posible efecto proaterogénico. De hecho, al reproducir las alteraciones del flujo laminar sobre células endoteliales en cultivo, se observó un aumento en los niveles de DNMT1 y DNMT3A y, en consecuencia, la hipermetilación de su genoma (30) (31). En modelos murinos *knockout* para el receptor de LDL (Ldlr -/-), la administración intraperitoneal de 5-AZA redujo considerablemente el número de lesiones ateroscleróticas (33). Esto conlleva considerar a la vía de metilación del ADN como un blanco promisorio para la tratamiento de la aterosclerosis, al igual que se ha verificado el uso de agentes hipometilantes para el tratamiento de algunos tipos de leucemias (34) (35).

Con respecto a las proteínas que contrarrestan la metilación, un estudio reciente en ratones deficientes en apoliproteína E (ApoE-/-) demostró que la sobreexpresión de TET2 evita el desarrollo de la aterosclerosis (mientras el silenciamiento la favorece), mediante la modulación de la autofagocitosis dependiente de Beclin1 (36). Estos resultados sugieren que TET2 también podría considerarse un blanco interesante para el tratamiento de la aterosclerosis. Un segundo mecanismo epigenético importante está representado por modificaciones de histonas (metilación y acetilación), que se ven afectadas, entre otras cosas, por el tipo celular. La dimetilación de la histona H3 sobre la

lisina 9 (H3K9me2) y la trimetilación sobre la lisina 27 (H3K27me3) son signos epigenéticos de silenciamiento que provocan la formación de heterocromatina. Por el contrario, la acetilación de la histona H4 sobre la lisina 16 (H4K16ac) y la trimetilación de la histona H3 sobre la lisina 4 (H3K4me3) favorecen la formación de eucromatina y activan la transcripción génica (32). El papel de las HATs y las HDACs, incluida la sirtuina, en la aterosclerosis, ha sido objeto de estudios recientes (33). Se propone que el gen *EZH2*, implicado en la patogenia de la mielodisplasia, también juega un papel importante en la aterosclerosis. De hecho, la sobreexpresión de este gen en ratones *ApoE -/-* favorece el desarrollo de la patología. El mecanismo estaría asociado a la promoción de la metilación del gen *transportador ATP-binding cassette A1* (*ABCA1*) dependiente de DNMT1, que favorece la acumulación de colesterol en los macrófagos y la formación de células espumosas (34).

## Metilación del ADN y procesos neurodegenerativos asociados con la edad

### Esclerosis lateral amiotrófica

Mientras que en el pasado los datos sobre la metilación del ADN provenían con mayor frecuencia de estudios sobre el cáncer, en la actualidad numerosas patologías relacionadas con la edad se han asociado con un contenido aberrante de 5mC. En nuestro laboratorio hemos observado que durante el envejecimiento, muchas proteínas que ligan el ARN modifican sus niveles. Dichos estudios se han focalizado en la proteína *TAR DNA binding protein 43* (TDP-43), la cual se une al ARN disminuyendo su nivel en forma específica de tejido. Esta disminución se conserva a través de la evolución, desde *Drosophila* hasta la especie humana, y se debe al menos en parte, a un incremento en la metilación de ADN (Fig. 3) y modificación de histonas en la región

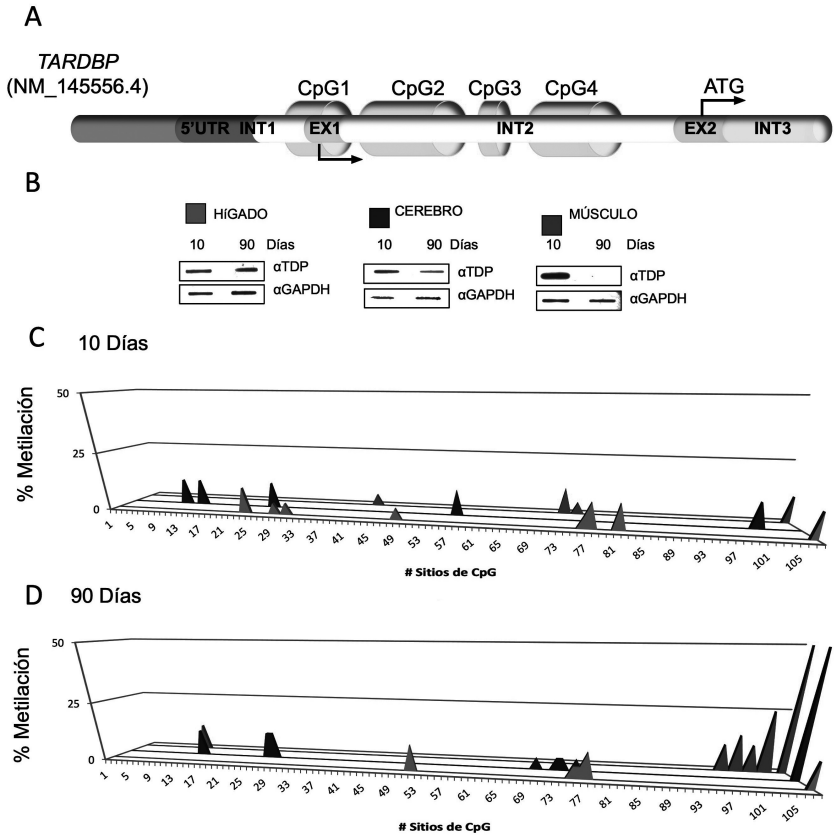


Figura 3. *(A) Estructura de la zona promotora TARDBP, representación esquemática del fragmento del promotor de TARDBP proveniente de un modelo animal murino: El análisis informático de la secuencia indica las "islas CpG" distribuidas dentro del promotor divididas en cuatro regiones distintas (CpG1, CpG2, CpG3 y CpG4). (B) Medición del nivel de TDP-43 en distintos tejidos a distintas edades. Se observa que los niveles de proteína tienen un comportamiento diverso en los tres tejidos: no se observa variación entre 10 y 90 días en el hígado, hay una moderada disminución en el cerebro y una marcada disminución en el músculo. Esquema de los resultados del análisis de secuenciación con bisulfito, del promotor TARDBP que alberga 108 sitios CpG (representados en número en el eje x) en músculo esquelético, cerebro e hígado a los 10 (C) y 90 días (D). El porcentaje de metilación de cada uno de los 108 sitios CpG se muestra con picos de distinta tonalidad según el tejido. Los niveles de metilación del promotor TARDBP también muestran especificidad de tejido y etapa de desarrollo consistente con los niveles de proteína (35).*

del promotor, que es distinta según el tejido (35) (36). Este fenómeno y sus consecuencias patológicas han sido observados durante el estudio de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA o la abreviatura inglesa ALS).

La característica histopatológica fundamental de ELA en el cerebro es la presencia de cuerpos de inclusión, formados casi exclusivamente de TDP-43 plegada en una conformación no natural, insoluble (37). Estas inclusiones son capaces de secuestrar TDP-43 sintetizada *de novo*. Ambos fenómenos, la formación de cuerpos de inclusión y la disminución de los niveles de TDP-43 con el paso de la edad, pueden actuar como eventos desencadenantes de los síntomas de ELA. Cuando a una cierta edad los bajos niveles de síntesis de TDP-43 neuronal son superados por su secuestro en los cuerpos de inclusión, esto trae como consecuencia un déficit de TDP-43 nuclear funcional (Fig. 4), originando una serie de desequilibrios en el proceso de ARN-*splicing*. Con el propósito de disolver los cuerpos de inclusión, se ha evaluado el efecto de fármacos específicos que aumentan su eliminación por el proceso de autofagia (38).

Con respecto al mecanismo por el cual manifiestan su efecto las *RNA binding proteins*, debe ser un mecanismo muy general considerando la amplia gama de pro-

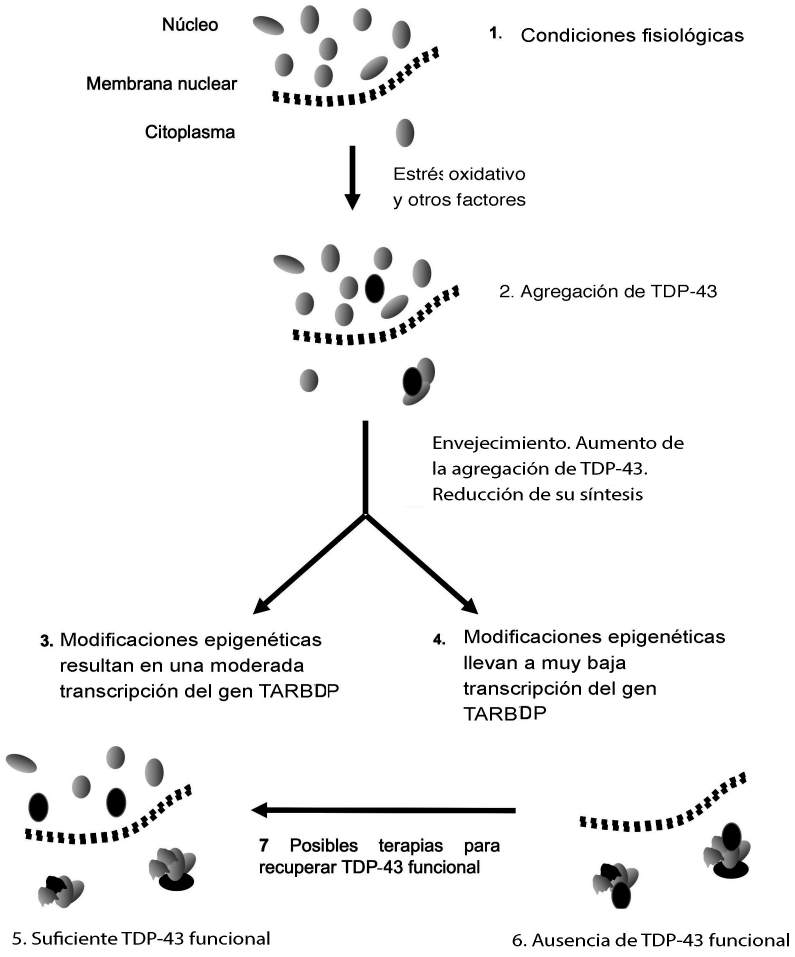


Figura 4. *Esquema del mecanismo patogénico postulado para la esclerosis lateral amiotrófica. [1] TDP-43 (círculos grises) está presente en la célula en forma difusa predominantemente en el núcleo; alrededor del 5% se encuentran en el citoplasma. [2] Algunas moléculas de TDP-43 pierden su conformación habitual y forman agregados insolubles, los cuales secuestran TDP-43 sintetizada de novo (círculos negros). [3] El "background" genético y las influencias ambientales determinan las modificaciones epigenéticas durante el envejecimiento. Si estas modificaciones mantienen un discreto nivel de transcripción se tendrán niveles suficientes de TDP-43 funcional, no obstante su agregación y secuestro parcial de la proteína sintetizada de novo por los agregados. [4] Modificaciones epigenéticas (como la hipermetilación del promotor TARDBP) causan una baja transcripción y consiguientes bajos niveles de TDP-43 sintetizada de novo. Su secuestro por los agregados deja a la célula sin TDP-43 funcional. [5] La célula tiene TDP-43 soluble y funcional suficiente para presentar un fenotipo normal. [6] La célula no posee TDP-43 soluble y funcional suficiente lo que resulta en sufrimiento neuronal y/o muerte celular causando un fenotipo patológico. [7] Posibles terapias (a) uso de fármacos estimuladores de la eliminación de las inclusiones (38), (b) aumento de la transcripción de TDP-43 mediante el uso de fármacos que actúan sobre las modificaciones epigenéticas y aumentan la transcripción.*

teínas con las que pueden interactuar, como las que intervienen en el procesamiento del ARN y otras involucradas en distintas enfermedades.

### Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno en el cual se encuentran elevados los niveles del péptido amiloide-β (Aβ) debido, entre otras razones, a la hipometilación específica de la región promotora del gen *APP147*. Además, los pacientes con EA presentan una disminución de los niveles cefalorraquídeos de folato y SAM. Concomitantemente se ha observado un estado de hipometilación en genes nucleares de las neuronas presentes en la neocorteza temporal (39) (40). Simultáneamente, la expresión del gen *tau* también se vio afectada por hipermetilación en el sitio de unión del activador transcripcional SP1 en la región promotora. Dicha alteración pudo observarse en pacientes con EA y otras "taupatías" relacionadas con la edad. Estos hallazgos fueron confirmados en autopsias de la corteza frontal y del hipocampo humano (41).

### Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson es una enfermedad progresiva del sistema nervioso que altera la coordinación del movimiento. Su diagnóstico histológico se caracteriza por la presencia de masas esféricas de α-sinucleína agregada, llamadas cuerpos de Lewy. Desde el punto de vista epigenético, el incremento en la expresión de dicha proteína surge de la hipometilación de la isla CpG 2 del promotor del gen que la codifica (*SCNA*). Por otro lado, variantes de duplicación o triplicación en este gen también resultan en la acumulación de la proteína, y posteriormente una mayor agregación y un fenotipo más severo (42).

## ADN metiltransferasas: variantes genéticas

Recientemente se ha observado en seres humanos, que variantes en DNMT1 causan una forma de neurodegeneración y neuropatía sensorial acompañada de demencia. Dichas variaciones inducen una reducción de la actividad de la metiltransferasa, que trae aparejada una hipometilación global del genoma (43). Estudios llevados a cabo en la última década, han aportado grandes cambios al panorama epigenético relacionado con el envejecimiento y los trastornos neurodegenerativos, de los cuales podrían surgir biomarcadores y blancos terapéuticos promisorios para el diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades. El hecho de que los cambios involucrados sean reversibles, los constituye en objetivo tentador para la intervención terapéutica.

## Terapia basada en la modulación de las modificaciones epigenéticas

El rol de los mecanismos epigenéticos en enfermedades como ELA, degeneración lobular frontotemporal (DLFT), aterosclerosis y otras, sugiere la posibilidad de utilizar los fármacos epigenéticos, actualmente disponibles, para el tratamiento de estas enfermedades. Algunos de estos medicamentos epigenéticos ya se usan ampliamente en la terapia antineoplásica o en ensayos clínicos relacionados con el cáncer, como los inhibidores de HDAC, los compuestos activadores de las *histone deacetylases* (como el resveratrol), los inhibidores de la metilación del ADN (como la azacitidina y sus análogos de nucleósidos) y los inhibidores de la metilación de histonas (como los inhibidores de EZH2) (Tabla I). Es importante tener en cuenta para el uso de algunos de estos fármacos, la toxicidad que presentan a largo plazo, que conlleva evaluar cuidadosamente la posología en el caso de enfermedades crónicas.

El uso de un determinado fármaco depende de las modificaciones epigenéticas halladas en la patología. Por esta razón, la bioquímica clínica jugará un papel cada vez más importante en el análisis del epigenoma. Muchos laboratorios, equipados con técnicas avanzadas como la PCR y la secuenciación de ADN, se utilizan para hallar dichas modificaciones. Efectivamente el papel central de 5mC ha resultado en una serie de avances centrados en técnicas de perfilado de todo el genoma. Históricamente, los métodos utilizados fueron: a) El uso de enzimas de restricción *MspI y HpaII* que reconocen la secuencia CCGG, respectivamente pero HpaII no digiere los CCGG metilados. En consecuencia, según el estado de metilación del ADN, la digestión producirá diferentes fragmentos con cada enzima. b) El tratamiento del ADN genómico con bisulfito de sodio, que desamina las citosinas (C) no metiladas a uracilo (U), mientras que los residuos de C metilados no se ven afectados. Este tratamiento es seguido de la amplificación y secuenciación del área objetivo (44). c) A los pasos mencionados en el punto anterior, se unió la matriz de metilación. Esta técnica consiste en el tratamiento con bisulfito y amplificación por PCR, seguida de la hibridación del ADN en matrices que contienen sondas prediseñadas para distinguir entre C metiladas y no metiladas. Una variación más laboriosa de este análisis es cuando se aplica la secuenciación del genoma completo. Hoy también se cuenta con la capacidad para secuenciar el ADN y analizar el estado de metilación en su estado nativo sin ningún tratamiento enzimático o químico previo y sin necesidad de amplificación por PCR (45). Qué tecnología es la mejor para usar debe determinarse por el costo y el estudio específico en cuestión.

Tabla I. *Fármacos modificadores epigenéticos en uso clinico o experimental*

| Clase | Compuesto | Enfermedad y estado de las pruebas clínicas |
|---|---|---|
| Inhibidores de AND metal transferasas (DNMT) | | |
| Análogos nucleosídicos | Azacitidina | AML[f], MDS [f],CMML [f], tumores sólidos [I] |
| | Decitabina | AML[f], MDS [f],CMML [f], tumores sólidos [I] |
| | Guadecitabina (SGI-110) | AML[f], MDS [f] |
| | Tio-2'-desoxicitidina (TdCyd) | Tumores sólidos |
| Análogos no nucleosídicos | Hidralacina | Hipertensión [f], tumores pulmonares [I], riñón poliquístico [I] |
| | MG98 | Tumores sólidos [I] |
| Inhibidores de *histone deacetilases* (HDACi) | Vorinostat (SAHA) | CTCL [f] |
| | | Sarcoma de tejidos blandos (STM) [II] |
| | | Enfermedad de Neimann-Pick [I/II] |
| | Valproato | Toxoplasmosis [IV], esquizofrenia [IV], enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo V [II], CLL [I/II], metástasis cerebrales[I] |
| | Romidepsina | CTCL [f], tumores sólidos [f], linfomas [I] |
| Inhibidores de la metilación histónica | EPZ-5676 | Leucemia [I] |
| | | AML[f], ALL [f] |
| Inhibidores del bromodominio (BET) | JQ1 | Tumores: pulmón, seno, próstata, colon, hígado |
| | RVX208 | Diabetes [II], aterosclerosis [ii], coronariopatías [ii], dislipidemias [I/II], enfermedades cardiovasculares[I I/II] |

Abreviaturas: f, aprobado por la FDA; I, Ensayo clínico Fase I; II, Fase II; III, Fase III; IV, Fase IV; AML, leucemia mieloide aguda; MDS, síndromes mielodisplásicos; CMML, leucemia mielomonocítica crónica; CTCL, linfoma cutáneo de células T; CLL, leucemia linfocítica crónica; MLL, leucemia de linaje mixto.

**Agradecimientos**. Los autores agradecen profundamente a la Dra. Lubna Abou Assali por su contribución a la preparación y edición del manuscrito y al Dr. Marco Baralle por su ayuda en la preparación de las figuras.

**Fuentes de financiación.** Este trabajo ha sido financiado con fondos de la Fundación Italiana Fegato.

**Conflictos de intereses.** Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

## Correspondencia

FRANCISCO E. BARALLE PhD MD
Fondazione Italiana Fegato-Onlus, Bldg. Q, AREA Science Park, ss14, Km 163.5, Basovizza, 34149 Trieste, Italia
Correo electrónico: baralle@fegato.it

# Referencias bibliográficas

1. Evsikov AV, Marín de Evsikova C. Friend or foe: epigenetic regulation of retrotransposons in mammalian oogenesis and early development. Yale J Biol Med 2016; 89: 487-97.
2. Gendrel AV, Heard E. Noncoding RNAs and epigenetic mechanisms during X-chromosome inactivation. Annu Rev Cell Dev Biol 2014; 30: 561-80.
3. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. Cell 2007; 128: 693-705.
4. Khyzha N, Alizada A, Wilson MD, Fish JE. Epigenetics of atherosclerosis: emerging mechanisms and methods. Trends Mol Med 2017; 23: 332-47.
5. Casadesús J, Low D. Epigenetic gene regulation in the bacterial world. Microbiol Mol Biol Rev 2006; 70: 830-56.
6. Zemach A, McDaniel IE, Silva P, Zilberman D. Genome-wide evolutionary analysis of eukaryotic DNA methylation. Science 2010; 328: 916-9.
7. Bird AP, Wolffe AP. Methylation-induced repression--belts, braces, and chromatin. Cell 1999; 99: 451-4.
8. Jones PL, Veenstra GJ, Wade PA, Vermaak D, Kass SU, Landsberger N, *et al*. Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription. Nat Genet 1998 Jun; 19 (2): 187-91.
9. Luger K, Mäder AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ. Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 A resolution. Nature 1997; 389: 251-60.
10. Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. Science 2001; 293: 1074-80.
11. Gonzalo S. Epigenetic alterations in aging. J Appl Physiol (1985) 2010; 109: 586-97.
12. Dhalluin C, Carlson JE, Zeng L, He C, Aggarwal AK, Zhou MM. Structure and ligand of a histone acetyltransferase bromodomain. Nature 1999; 399: 491-6.
13. Grunstein M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. Nature 1997; 389: 349-52.
14. Kouzarides T. Histone methylation in transcriptional control. Curr Opin Genet Dev 2002; 12: 198-209.
15. Cech TR, Steitz JA. The noncoding RNA revolution-trashing old rules to forge new ones. Cell 2014; 157: 77-94.

16. Costa FF. Non-coding RNAs: meet thy masters. Bioessays 2010; 32: 599-608.
17. van der Harst P, de Windt LJ, Chambers JC. Translational perspective on epigenetics in cardiovascular disease. J Am Coll Cardiol 2017; 70: 590-606.
18. Forkosh E, Ilan Y. The heart-gut axis: new target for atherosclerosis and congestive heart failure therapy. Open Heart 2009; 6: e000993.
19. Jonsson AL, Bäckhed F. Role of gut microbiota in atherosclerosis. Nat Rev Cardiol 2017; 14: 79-87.
20. Tilg H, Moschen AR. Food, immunity, and the microbiome. Gastroenterology 2015; 148: 1107-19.
21. de Carvalho LSF. Smoking-epigenetics interaction: what do microRNAs tell us about susceptibility to atherosclerotic disease in smokers? Atherosclerosis 2017; 263: 309-10.
22. Gao X, Jia M, Zhang Y, Breitling LP, Brenner H. DNA methylation changes of whole blood cells in response to active smoking exposure in adults: a systematic review of DNA methylation studies. Clin Epigenetics 2015; 7: 113.
23. Nielsen CH, Larsen A, Nielsen AL. DNA methylation alterations in response to prenatal exposure of maternal cigarette smoking: a persistent epigenetic impact on health from maternal lifestyle? Arch Toxicol 2016; 90: 231-45.
24. Aavik E, Babu M, Ylä-Herttuala S. DNA methylation processes in atheosclerotic plaque. Atherosclerosis 2019; 281: 168-79.
25. Greißel A, Culmes M, Napieralski R, Wagner E, Gebhard H, Schmitt M, *et al*. Alternation of histone and DNA methylation in human atherosclerotic carotid plaques. Thromb Haemost 2015; 114: 390-402.
26. Jiang D, Sun M, You L, Lu K, Gao L, Hu C, *et al.* DNA methylation and hydroxymethylation are associated with the degree of coronary atherosclerosis in elderly patients with coronary heart disease. Life Sci 2019; 224: 241-8.
27. Kumar A, Kumar S, Vikram A, Hoffman TA, Naqvi A, Lewarchik CM, *et al*. Histone and DNA methylation-mediated epigenetic downregulation of endothelial Kruppel-like factor 2 by low-density lipoprotein cholesterol. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2013; 33: 1936-42.
28. Patel R, Varghese JF, Singh RP, Yadav UCS. Induction of endothelial dysfunction by oxidized low-density lipoproteins via downregulation of Erk-5/Mef2c/KLF2 signaling: amelioration by fisetin. Biochimie 2019; 163: 152-62.
29. Yan Z, Deng Y, Jiao F, Guo J, Ou H. Lipopolysaccharide downregulates Kruppel-Like Factor 2 (KLF2) via inducing DNMT1-mediated hypermethylation in endothelial cells. Inflammation 2017; 40: 1589-98.
30. Jiang Y-Z, Jiménez JM, Ou K, McCormick ME, Zhang L-D, Davies PF. Hemodynamic disturbed flow induces differential DNA methylation of endothelial Kruppel-Like Factor 4 promoter *in vitro* and *in vivo*. Circ Res 2014; 115: 32-43.
31. Zhou J, Li Y-S, Wang K-C, Chien S. Epigenetic mechanism in regulation of endothelial function by disturbed flow: induction of DNA hypermethylation by DNMT1. Cell Mol Bioeng 2014; 7: 218-24.
32. Smith E, Shilatifard A. The chromatin signaling pathway: diverse mechanisms of recruitment of histone-modifying enzymes and varied biological outcomes. Mol Cell 2010; 40: 689-701.
33. Zheng X, Zhou T, Wang X-A, Tong X, Ding J. Histone deacetylases and atherosclerosis. Atherosclerosis 2015; 240: 355-66.
34. Lv Y-C, Tang Y-Y, Zhang P, Wan W, Yao F, He P-P, *et al.* Histone methyltransferase enhancer of zeste homolog 2-mediated ABCA1 promoter DNA methylation contributes to the progression of atherosclerosis. PLoS ONE 2016; 11, e0157265.
35. Cragnaz L, Klima R, De Conti L, Romano G, Feiguin F, Buratti E, *et al.* An age-related reduction of brain TBPH/TDP-43 levels precedes the onset of locomotion defects in a *Drosophila* ALS model. Neuroscience 205; 311: 415-21.
36. Pacetti M, De Conti L, Marasco LE, Romano M, Rashid MM, Nubiè M, *et al.* Physiological tissue-specific and age-related reduction of mouse TDP-43 levels is regulated by epigenetic modifications. Dis Model Mech 2022; 15, dmm049032.
37. Baralle M, Buratti E, Baralle FE. The role of TDP-43 in the pathogenesis of ALS and FTLD. Biochem Soc Trans 2013; 41: 1536-40.
38. Cragnaz L, Spinelli G, De Conti L, Bureau EA, Brownlees J, Feiguin F, *et al.* Thioridazine reverts the phenotype in cellular and *Drosophila* models of amyotrophic lateral sclerosis by enhancing TDP-43 aggregate clearance. Neurobiol Dis 2021; 160: 105515.
39. Morrison LD, Smith DD, Kish SJ. Brain S-adenosylmethionine levels are severely decreased in Alzheimer's disease. J Neurochem 1996; 67: 1328-31.
40. Mastroeni D, McKee A, Grover A, Rogers J, Coleman PD. Epigenetic differences in cortical neurons from a pair of monozygotic twins discordant for Alzheimer's disease. PLoS ONE 2009; 4: e6617.
41. Mukaetova-Ladinska EB, Harrington CR, Roth M, Wischik CM. Alterations in tau protein metabolism during normal aging. Dementia 1996; 7: 95-103.
42. Matsumoto L, Takuma H, Tamaoka A, Kurisaki H, Date H, Tsuji S, *et al*. CpG demethylation enhances alpha-synuclein expression and affects the pathogenesis of Parkinson's disease. PLoS ONE 2010; 5: e15522.
43. Klein CJ, Botuyan M-V, Wu Y, Ward CJ, Nicholson GA, Hammans S, *et al*. Mutations in DNMT1 cause hereditary sensory neuropathy with dementia and hearing loss. Nat Genet 2011; 43: 595-600.
44. Sato T, Issa J-PJ, Kropf P. DNA hypomethylating drugs in cancer therapy. Cold Spring Harb Perspect Med 2017; 7: a026948.
45. Sharma P, Garg G, Kumar A, Mohammad F, Kumar SR, Tanwar VS, *et al.* Genome wide DNA methylation profiling for epigenetic alteration in coronary artery disease patients. Gene 2014; 541: 31-40.

**Recibido: 27 de junio de 2022**
**Aceptado: 16 de agosto de 2022**