
REVISIÓN

Epigenética y síndrome metabólico

Epigenetics and Metabolic Syndrome

Tomás Fernández Gianotti¹, Carlos José Pirola¹

¹Departamento de Genética y Biología Molecular de Enfermedades Complejas, Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari-IDIM, UBA-CONICET, Combatientes de Malvinas 3150, C1427ARO - Ciudad Autónoma de Buenos Aires

RESUMEN

La epigenética puede definirse como los cambios estables y heredables en la expresión génica, que no son producidos por cambios en la secuencia del ADN. Las modificaciones epigenéticas más estudiadas son la metilación del ADN y las modificaciones postraduccionales de histonas. Estas podrían explicar cómo factores ambientales, nutricionales y otros, contribuyen a la modulación de la expresión de genes y al desarrollo de distintas enfermedades. El síndrome metabólico está definido por la presencia de obesidad, fundamentalmente central, hipertensión, diabetes, dislipemia, y un estado protrombótico y proinflamatorio, que son factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. La genética de estas enfermedades es compleja, y es sabido que tanto factores genéticos de susceptibilidad o resistencia, como factores ambientales contribuyen al desarrollo de este síndrome. Nuestro grupo ha estudiado la participación de las modificaciones epigenéticas en la fisiopatología del síndrome metabólico. Ellas podrían tener un rol importante no solo en el desarrollo de estas enfermedades en la vida adulta, sino predisponer al individuo desde desarrollo prenatal. En esta revisión describimos las principales modificaciones epigenéticas, y a través de nuestros hallazgos cómo sería su papel en el desarrollo del síndrome metabólico. Conocer cómo participarían las modificaciones epigenéticas en estas enfermedades, no solo permitirá mejorar el tratamiento de las mismas, sino establecer medidas preventivas desde la gestación. **Rev Argent Endocrinol Metab 52:35-44, 2015**

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Palabras clave: epigenética, síndrome metabólico, metilación ADN, histonas

ABSTRACT

Epigenetics can be defined as stable and heritable changes in gene expression that are not produced by changes in DNA sequence. The most studied epigenetic modifications are DNA methylation and histone post-translational modifications. Epigenetic modifications might explain how environmental, nutritional and others factors contribute to the modulation of gene expression and the development of different diseases. Metabolic syndrome is defined by the presence of mainly central obesity, hypertension, diabetes, dyslipidemia, and a prothrombotic and proinflammatory state, which are risk factors for cardiovascular disease. The genetic factors of these diseases are complex, and it is known that genetic susceptibility or resistance backgrounds as well as environmental factors contribute to the development of this syndrome. We have studied the involvement of epigenetic modifications in the pathophysiology of metabolic syndrome. These modifications might play an important role in the development of these diseases in adulthood, and according to our results, they might also predispose an individual from prenatal life. In this review, we describe the main epigenetic modifications, and which could be their role in the development of metabolic syndrome. Understanding how epigenetic modifications act in these diseases could not only help to identify new avenues of treatment but also to establish preventive measures from gestation. **Rev Argent Endocrinol Metab 52:35-44, 2015**

No financial conflicts of interest exist.

Key words: epigenetics, metabolic syndrome, DNA methylation, histone

BREVE INTRODUCCIÓN

A principios de la década de 1940, Conrad Waddington definió el término: epigenética, como la rama de la biología que estudia las interacciones causales entre los genes y sus productos, que llevan a un determinado fenotipo. En la actualidad, se puede definir la epigenética como los cambios estables y heredables en la expresión génica, que no son producidos por cambios en la secuencia del ADN⁽¹⁻³⁾. Las modificaciones epigenéticas más estudiadas son la metilación del ADN y las modificaciones postraduccionales de histonas, que participan en la regulación de la expresión de los genes junto a la presencia de determinados factores de activación o inhibición cada vez más complejos como los ARN no codificantes de diferente longitud. A continuación haremos una breve descripción de cada uno de ellos para luego resumir su posible papel en enfermedades no transmisibles y muy prevalentes del adulto contenidas en lo que se ha dado en llamar Síndrome Metabólico⁽⁴⁻⁶⁾.

METILACIÓN DEL ADN

La modificación epigenética más abundante en las células eucariotas es la metilación del ADN, que consiste en la incorporación de un grupo metilo en el carbono 5 de la citosina, generando la 5-metilcitosina (mC). Se estima que el 1 % de las bases del ADN es mC, y que se localiza en el 70-80 % de los dinucleótidos CG. Estos se distribuyen a lo largo de todo el genoma, pero se encuentran en ocasiones en las “islas CG”, regiones con más del 65 % de guanina y citosina que se localizan en su mayoría en regiones regulatorias o promotoras de los genes, cercanas al sitio de inicio de la transcripción de los genes^(7,8). Sin embargo, estas islas se caracterizan, en condiciones normales, por una pobre metilación. En general, la metilación de citosinas es una marca epigenética estable, que se hereda, y que se asocia a la represión de la transcripción, ya sea por impedir la unión de distintos factores de transcripción o por unión de proteínas a los grupos metilo, inhibiendo la transcripción⁽⁷⁾. También regula la estructura de la cromatina y la expresión de genes en tejidos específicos, y está involucrada en procesos como la inactivación del cromosoma X, imprinting de genes, embriogénesis, y gametogénesis⁽⁹⁾.

La metilación de citosinas es catalizada por la familia de enzimas metiltransferasas de ADN

(DNMTs), que transfieren un grupo metilo desde S-adenosil-metionina (SAM) al carbono 5 del anillo de pirimidina de la citosina⁽¹⁰⁾. Esta familia de enzimas está compuesta por 5 miembros, DNMT1, DNMT2, DNMT3a, DNMT3b y DNMT3L, de las cuales solo DNMT1, DNMT3a y DNMT3b participan en la metilación de ADN.

DNMT1 es la responsable de mantener la metilación del ADN durante la replicación del ADN, ya que se crean sitios hemimetilados de ADN, que son sustrato preferencial de DNMT1 para copiar los patrones de metilación CG en la nueva cadena de ADN que se está sintetizando⁽⁷⁾.

A pesar de que la DNMT2 presenta las características estructurales y de secuencia de las ADN metiltransferasas, DNMT2 no participa en la metilación de ADN, pero metila una citosina específica del ARN de transferencia del aminoácido ácido aspártico (ARN^t_{Asp})⁽¹¹⁾.

Las enzimas DNMT3a y DNMT3b son responsables de la metilación de novo del ADN, metilando ADN a partir de ADN no metilado, y son críticas durante el desarrollo y la diferenciación celular. Son 2 enzimas de alta homología pero que presentan distintos patrones de expresión y blancos específicos. DNMT3a se expresa en las etapas tardías de la embriogénesis y en células diferenciadas; y es responsable del patrón de metilación del ADN en gametas maduras. Por otro lado, DNMT3b prevalece en las etapas tempranas de la embriogénesis, y es la principal enzima de la metilación del ADN durante la implantación^(7,12,13). Además de la metilación de novo, también se ha propuesto que DNMT3a y DNMT3b participan en el mantenimiento de sitios metilados que no lo fueron por DNMT1, cooperando con esta última en el mantenimiento de la metilación del ADN⁽⁷⁾.

Por último, DNMT3L presenta una alta homología con DNMT3a y DNMT3b, pero es catalíticamente inactiva⁽⁷⁾.

Los patrones de metilación cambian dinámicamente en la embriogénesis temprana, por ejemplo, cuando la metilación es esencial para la inactivación del cromosoma X⁽¹⁴⁾, y están fuertemente desregulados en cáncer. Se han postulado cambios en el estado de metilación, como la hipermetilación de promotores inactivando genes supresores de tumores, y la hipometilación activando oncogenes, que contribuyen a la oncogénesis^(9,15). Se ha observado también metilación del ADN en regiones intragénicas, que podrían modular sitios de transcripción alternativos o los sitios de *splicing*⁽⁷⁾.

DESMETILACIÓN DEL ADN

Recientemente se ha descubierto una nueva modificación del ADN de mamíferos, la 5-hidroximetilcitosina (5hmC)^(16,17), considerada la sexta base del genoma, contando los cuatro desoxinucleótidos clásicos y la mC.

Si bien las enzimas que participan en la metilación del ADN han sido bien caracterizadas, aún está poco estudiado el proceso de desmetilación del ADN⁽¹⁸⁾. Recientemente, se han identificado a las enzimas TET (de su nombre en inglés: **Ten Eleven Translocation**, un grupo de dioxigenasas dependiente de Fe(II) y 2-oxoglutarato) como las hidroxilasas de 5mC, oxidando 5mC a 5hmC^(17,19,20). Posiblemente esta reacción sea una parte necesaria del proceso de desmetilación del ADN, por lo que estas enzimas tendrían un rol potencial en la regulación epigenética⁽¹⁷⁾. La desmetilación del ADN tendría un rol importante en la rápida reactivación de genes silenciados previamente⁽¹⁸⁾. También se propone a las TET como las enzimas que oxidan 5hmC a 5-formilcitosina (5fC), y 5fC a 5-carboxicitosina (5-caC). Tanto 5-fC como 5-caC han sido encontradas en el ADN⁽²¹⁾, agregando un grado de complejidad mayor al tema.

En mamíferos, la familia de proteínas TET está compuesta por 3 integrantes, TET1, TET2 y TET3. Las proteínas TET tienen un amplio patrón de expresión en distintos tejidos, siendo TET2 y TET3 más abundantes en células hematopoyéticas^(22,23). TET1 es la enzima que ha sido más estudiada, y es crítica para iniciar el mecanismo de oxidación en la desmetilación del ADN en mamíferos⁽¹⁹⁾.

Un análisis de la distribución de 5hmC por escaneo del genoma de células stem embrionarias de ratón mostró niveles medianos y altos de 5hmC en zonas intragénicas, como así también en regiones promotoras de genes transcripcionalmente inactivos, sugiriendo una función dual de 5hmC en la regulación de la transcripción, por lo que se podría pensar que 5hmC contribuye tanto a la activación como a la represión de la transcripción, dependiendo del contexto en el que se encuentre⁽²⁴⁾.

MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES DE HISTONAS

Histonas

El ADN dentro del núcleo celular, dividido en cromosomas, se encuentra condensado en una estructura llamada cromatina, que está formada

por unidades de nucleosomas. La estructura del nucleosoma fue descrita por Kornberg hace 40 años, y está formado por 147 pares de bases de ADN que envuelven a un octámero de proteínas globulares, las histonas, de las que se encuentran 2 oligómeros de cada subtipo: H2A, H2B, H3 y H4. Hay una histona externa al octámero, H1, que participa en la compactación de los nucleosomas. En cada cromosoma, la cromatina se organiza en distintos dominios, como la eucromatina y la heterocromatina, que se definen por el grado de compactación y su asociación a la funcionalidad de los genes. La eucromatina está poco compactada y permite la transcripción de los genes, mientras que la heterocromatina está más condensada y se asocia a la represión de la transcripción^(21,25,26).

El principal mecanismo por el cual la estructura y función de la cromatina es regulada es a través de las modificaciones postraduccionales de las histonas que luego se traducirán en metilación del ADN. Hay una gran variedad de estas modificaciones, en especial en el extremo N-terminal de cada histona que sobresale del octámero, entre las que podemos destacar: metilación y acetilación de lisina (K) y arginina (R), como así también fosforilación, glicosilación, ubiquitilación, y otras. Las enzimas que modifican las histonas muestran distinta especificidad entre las diferentes histonas, así como también por el aminoácido a modificar dentro de la histona en particular^(27,28).

La hipótesis del "código de histonas" se generó para establecer una unión entre los patrones de las modificaciones postraduccionales de las histonas y la funcionalidad de los genes, definiendo el estado de cromatina transcripcionalmente activa e inactiva. Así, las modificaciones de las histonas pueden alterar directamente la estructura de la cromatina, y permitir la accesibilidad al ADN de proteínas que regulan la replicación, reparación, recombinación y transcripción del ADN; también pueden permitir la unión de enzimas modificadoras de histonas. Algunas de las modificaciones de histonas pueden ser copiadas y propagadas a través de las distintas divisiones celulares, contribuyendo a la herencia epigenética del estado transcripcional^(29,30).

Metilación de histonas

La metilación de histonas ocurre en los aminoácidos básicos, arginina, lisina e histidina. La lisina puede ser monometilada, dimetilada o trimetilada; mientras la arginina puede ser monometilada o dimetilada en forma simétrica o asimétrica; y la histi-

dina se ha descrito como monometilada. Los sitios de metilación de histonas más estudiados han sido en la histona 3 (H3), la lisina (K) correspondiente a la posición 4,9,27,36 y 79 (H3K4, H3K9, H3K27, H3K36, H3K79, respectivamente) y en histona 4, K20 (H4K20). Con respecto a la arginina (R) varias han sido descritas, H3R2, H3R8, H3R17, H3R26, y H4R3. La metilación de histonas está asociada a estados de actividad transcripcional específicos de la cromatina; por ejemplo, la metilación de H3K4, H3K36 y H3K79 se asocia a un estado de activación de la transcripción, mientras que H3K9, H3K27 y H4K20 se asocia a un estado de inactividad de la cromatina^(28,30).

La reacción de metilación es catalizada por 3 familias de enzimas metiltransferasas de histonas (HMT) que agregan un grupo metilo, donado por S-adenosil-metionina, al aminoácido específico de la histona: 1- la familia de metiltransferasas de lisina con un dominio SET (KMT), 2- la familia de proteínas metiltransferasas de arginina (PRMT), y 3- la familia de metiltransferasas sin dominio SET (Dot1)^(28,30,31). Las metiltransferasas de lisina tienen una alta especificidad por la lisina que metilan, modificando una sola lisina de una histona en particular, activando o reprimiendo la transcripción⁽³²⁾. Tabla 1. Diferentes estudios muestran que las células presentan distintas proporciones de lisinas y argininas metiladas, dependiendo del tipo celular o tejido; y el estado preciso de metilación de una determinada histona, en un determinado gen, puede cambiar durante la activación de la transcripción. Si consideramos los sitios posibles de metilación de una histona, se esperaría tener un número muy grande de combinaciones posibles de estados de metilación que darían distintos niveles de la regulación de la transcripción (ejemplo: para 9 posiciones posibles de metilar, resultarían 262144 combinaciones posibles de estado de metilación). Si bien no todas estas posibles combinaciones son alternativas disponibles para un determinado gen, podemos ver que la metilación de histonas es de gran complejidad⁽³³⁾.

El proceso de metilación de histonas es reversible, siendo la desmetilación catalizada por las desmetilasas de histonas, que también se agrupan en 3 familias: deiminasas de arginina, amino oxidasas, e hidroxilasas con dominio Jumonji C (JmjC), estas dos últimas desmetilan metil-lisinas^(28,30), Tabla 2. Los miembros de la familia amino oxidasas (lisin-specific demetilase, LSD o KDM) desmetilan las lisinas por una reacción dependiente de FAD (flavine

adeninedinucleotide), mientras que las proteínas JmjC pertenecen a una familia de oxigenasas que desmetilan por una reacción dependiente de acetoglutaratato y $Fe^{+2(34)}$.

Acetilación de histonas

El balance entre la acetilación y desacetilación de histonas tiene un rol muy importante en la regulación de la expresión de genes, siendo mecanismos reversibles. La acetilación de histonas es catalizada por las acetiltransferasas de histonas (HAT) que a partir de acetil-coenzima A adicionan un grupo acetilo a una lisina presente en el extremo N-terminal de las histonas. En general, la acetilación de histonas se asocia con la activación de la transcripción, porque neutraliza la carga positiva de las mismas y se pierde la interacción con la carga negativa del ADN, promoviendo una estructura más relajada de la cromatina que facilita la unión de factores de transcripción^(35,36).

De acuerdo al mecanismo de catálisis y a la localización celular, las HAT se pueden clasificar en 2 grupos, HAT A y HAT B. Los miembros de la familia HAT A se localizan en el núcleo, y transfieren el grupo acetilo de la lisina luego de ensamblada la histona en el nucleosoma. En cambio, los miembros de la familia HAT B actúan en el citoplasma, transfiriendo el grupo acetilo a la histona libre, antes de que forme parte del nucleosoma⁽³⁶⁾.

La desacetilación de histonas remueve un grupo acetilo de las histonas, y promueve la condensación de la cromatina por lo que se considera como represora de la transcripción. Esta reacción es catalizada por las enzimas desacetilasas de histonas (HDAC), de las que se han identificado 18 enzimas en humanos, y que forman una gran familia donde se pueden clasificar en 4 clases según su homología con las HDAC de levaduras y los requerimientos de coenzimas. Las HDAC clásicas son activadas por Zn^{+2} , y las HDAC relacionadas a Sir2 (sirtuinas) son activadas por $NAD^{+(37-39)}$, Tabla 3.

Síndrome metabólico

El síndrome metabólico o cardiometabólico, también conocido por Síndrome de resistencia a la insulina o Síndrome X (no confundir con el angor de pecho de igual nombre) está definido por la presencia de obesidad, fundamentalmente central, hipertensión, diabetes, dislipemia, y un estado protrombótico y proinflamatorio, que son factores de riesgo de enfermedad cardiovascular⁽⁴⁰⁾. Recientemente se ha incorporado la enfermedad grasa del

TABLA 1. Metiltransferasas de histonas según el aminoácido de la histona que es metilado y el grado de metilación del mismo. Entre paréntesis figuran los sinónimos de las enzimas^(28,31,66-68)

Histona y aminoácido	Metiltransferasas		
	Monometilación	Dimetilación	Trimetilación
H3K4	SETD1A (SET1A, KMT2F) SETD1B (SET1B, KMT2G) ASH1L (KMT2H) MLL (KMT2A) MLL2 (KMT2B) MLL3 (KMT2C) MLL4 (KMT2D) MLL5 (KMT2E)	SETD1A (SET1A, KMT2F) SETD1B (SET1B, KMT2G) MLL (KMT2A) MLL2 (KMT2B) MLL3 (KMT2C) MLL4 (KMT2D) MLL5 (KMT2E) SMYD3	SETD1A (SET1A, KMT2F) SETD1B (SET1B, KMT2G) ASH1L (KMT2H) MLL (KMT2A) MLL2 (KMT2B) MLL3 (KMT2C) MLL4 (KMT2D) SMYD3 PRDM9
H3K9	SETD7 (SET7/9, KMT7) SETDB1 (ESET, KMT1E) G9A (EHMT2, KMT1C) EHMT1 (GLP, KMT1D) PRDM2 (RIZ1, KMT8)	SUV39H1 (KMT1A) SUV39H2 (KMT1B) SETDB1 (ESET, KMT1E) G9A (EHMT2, KMT1C) EHMT1 (GLP, KMT1D) PRDM2 (RIZ1, KMT8)	SUV39H1 (KMT1A) SUV39H2 (KMT1B) SETDB1 (ESET, KMT1E) PRDM2 (RIZ1, KMT8)
H3K27		EZH1 EZH2 (KMT6)	EZH1 EZH2 (KMT6)
H3K36	SETD2 (SET2, KMT3A) NSD1 (KMT3B) NSD2 NSD3	SETD2 (SET2, KMT3A) NSD1 (KMT3B) NSD2 NSD3 SMYD2 (KMT3C)	SETD2 (SET2, KMT3A)
H3K79 H3R2	DOT1L (KMT4) CARM1 (PRMT4) PRMT5 PRMT6 PRMT7	DOT1L (KMT4) CARM1 (PRMT4) PRMT5 PRMT6 PRMT7	DOT1L (KMT4)
H3R8	PRMT5	PRMT5	
H3R17	CARM1 (PRMT4)	CARM1 (PRMT4)	
H3R26	CARM1 (PRMT4)	CARM1 (PRMT4)	
H4K20	SETD8 (PRSET7)	SUV4-20H1 (KMT5B) SUV4-20H2 (KMT5C)	SUV4-20H1 (KMT5B) SUV4-20H2 (KMT5C)
H4R3	PRMT1 PRMT5 PRMT6 PRMT7	PRMT1 PRMT5 PRMT6 PRMT7	

hígado de etiología no alcohólica (NAFLD) como el componente hepático de este síndrome^(41,42).

En la actualidad, aproximadamente el 30 % de la población adulta de los países de occidente presenta este síndrome, y este porcentaje se ha ido incrementando en los últimos años⁽⁴³⁾. El sobrepeso

y la obesidad también se han ido incrementando, tanto en mujeres como en hombres, adultos y jóvenes, siendo la prevalencia de la obesidad en población adulta cercana al 35 % en el mundo y aún en nuestro país^(43,44). Esto mismo ocurre en niños y adolescentes en los que, como nuestro

TABLA 2. Desmetilasas de histonas^(69,70)

Familia	Nombre	Sinónimo	Sustrato específico
LSD	KDM1A	LSD1, AOF2	H3K4me2/me1 H3K9me2/me1
	KDM1B	LSD2, AOF1	H3K4me2/me1
JMJC	KDM2A	FBXL11A, JHDM1A	H3K36me2/me1
	KDM2B	FBXL10B, JHDM1B	H3K36me2/me1
	KDM3A	JMJD1A, JHDM2A	H3K9me2/me1
	KDM3B	JMJD1B, JHDM2B	H3K9me2/me1
	KDM4A	JMJD2A, JHDM3A	H3K9me3/me2 H3K36me3/me2
	KDM4B	JMJD2B	H3K9me3/me2 H3K36me3/me2
	KDM4C	JMJD2C, GASC1	H3K9me3/me2 H3K36me3/me2
	KDM4D	JMJD2D	H3K9me3/me2/me1 H3K36me3/me2
	KDM4E	JMJD2E	H3K9me3/me2
	KDM5A	Jarid1A, RBP2	H3K4me3/me2
	KDM5B	Jarid1B, PLU1	H3K4me3/me2
	KDM5C	Jarid1C, SMCX	H3K4me3/me2
	KDM5D	Jarid1D, SMCY	H3K4me3/me2
	KDM6A	UTX, MGC141941	H3K27me3/me2
	KDM6B	JMJD3, KIAA0346, PHF8, KIAA1111, ZNF422	H3K27me3/me2 H3K9me2/me1 H4K20me1
	KDM7	KIAA1718	H3K9me2/me1 H3K27me2/me1
KDM8	JMJDS, FLJ13798	H3K3me2	

TABLA 3. Clasificación de las desacetilasas de histonas (HDAC)^(37,38)

HDAC Clase	Cofactor	Enzima	Localización celular
I	Zn ²⁺	HDAC 1, 2, 3 y 8	Núcleo
II	Zn ²⁺	HDAC 4, 5, 6, 7, 9 y 10	Núcleo y citoplasma
III	NAD ⁺	Sirtuins (SIRT 1 a 7)	Núcleo: SIRT1, 6 y 7 Mitocondria: SIRT3, 4 y 5 Citoplasma: SIRT2
IV	Zn ²⁺	HDAC 11	Núcleo y citoplasma

grupo reportó, la prevalencia del sobrepeso en adolescentes era de aproximadamente del 15,0 % y la de hipertensión del 5 % ya a fines de los años 90⁽⁴⁵⁾.

Es sabido que tanto factores genéticos de susceptibilidad o resistencia, como factores ambientales (dieta, actividad física, envejecimiento, cuidado de la salud, educación y estado socioeconómico entre otros) contribuyen al desarrollo del

síndrome metabólico^(46,47). La genética de estas enfermedades es compleja y puede variar desde raras formas monogénicas hasta las formas poligénicas y multifactoriales que son más comunes. Además de la carga genética que tiene un individuo que predispone al desarrollo de este síndrome, también pueden intervenir las modificaciones epigenéticas, aunque es un aspecto que ha sido poco estudiado

aún⁽⁴⁸⁾. Las modificaciones epigenéticas podrían participar y explicar la conocida “hipótesis de Barker”. Esta hipótesis relaciona el crecimiento fetal y posnatal con el desarrollo futuro de enfermedades en la vida adulta, entre las que encontramos diabetes, hipertensión e hiperlipidemia⁽⁴⁹⁾. Distintos estudios epidemiológicos, y experimentales en modelos animales, donde se observó que una restricción en el crecimiento intrauterino por déficit en la alimentación materna llevan al desarrollo de enfermedades metabólicas en la adultez, apoyan esta hipótesis⁽⁵⁰⁻⁵²⁾. No solo el bajo peso al nacer según la edad gestacional se relaciona con el desarrollo de enfermedades en la vida adulta, sino que también el alto peso al nacer mostró esta relación⁽⁵³⁻⁵⁵⁾, aunque los procesos biológicos que modulan la programación metabólica fetal son distintos en ambientes uterinos de sobrenutrición o de escasez de nutrientes⁽⁵⁶⁾. Distintos mecanismos se han propuesto para comprender la programación metabólica fetal y el desarrollo de enfermedades en el adulto, entre los cuales participarían las modificaciones epigenéticas. Al respecto, hemos reportado recientemente una correlación entre el índice de masa corporal materno y la metilación del promotor del gen *PPARGC1A* de cordón umbilical de sus hijos, sugiriendo un rol potencial de la metilación de este promotor en la programación metabólica del feto⁽⁵⁷⁾. Además, se observó un rol potencial de la metilación del promotor del factor de transcripción mitocondrial A (TFAM) en asociación con la insulinoresistencia en adolescentes con características del síndrome metabólico⁽⁵⁸⁾. Esto resulta muy interesante, ya que *PPARGC1A* y *TFAM* regulan la biogénesis mitocondrial, y la metilación de sus promotores podría ser la causa de la disminución del ADN mitocondrial observada en los recién nacidos de peso anormal (tanto en bajo peso, SGA, como de alto peso, LGA, para su edad gestacional) al nacer⁽⁵⁹⁾, como así también en adolescentes con resistencia a la insulina⁽⁶⁰⁾. En población adulta, comprobamos que la metilación del promotor del *PPARGC1A* está aumentada en pacientes con esteato hepatitis no alcohólica en comparación con aquellos con simple esteatosis y se correlaciona con la resistencia a insulina, la disminución del DNA mitocondrial y la menor actividad transcripcional del gen⁽⁶¹⁾. También reportamos por primera vez que el aumento de la metilación ocurría en el ADN mitocondrial de estos pacientes, con predominancia en la MT-ND6, componente esencial del complejo I de la cadena de la fosforilación oxidativa, lo que conlleva a una

menor actividad transcripcional del gen y menor nivel proteico lo que produciría una disfunción mitocondrial asociada a cambios morfológicos de las mitocondrias⁽⁶²⁾. Esta fue la primera descripción de que cambios epigenéticos que fueron descritos muy recientemente en el DNA mitocondrial⁽⁶³⁾ podrían estar asociados a procesos patológicos. Más interesante aún es que los cambios descritos serían modificables por hábitos de vida como el ejercicio físico moderado⁽⁶²⁾.

Por lo expuesto, mecanismos epigenéticos están involucrados en la función mitocondrial, y podrían participar en la programación mitocondrial fetal que contribuye al desarrollo de estas enfermedades en el adulto⁽⁵⁶⁾.

No solo hemos explorado la metilación del ADN de regiones promotoras de distintos genes, sino que también hemos estudiado modificaciones postraduccionales de histonas. Utilizando anticuerpos específicos dirigidos contra lisinas específicas trimetiladas de histona 3, H3K4Me3 (asociado a la activación de genes) y H3K9Me3 (asociado a la represión de genes), y por inmunoprecipitación de la cromatina, estudiamos el patrón de metilación de estas histonas en la región promotora de los genes *PPARGC1A* y *TFAM* en ADN extraído de cordón umbilical de recién nacidos de bajo y alto peso al nacer comparados con aquellos de peso normal para su edad gestacional. Hallamos que la trimetilación en la lisina 4 de la histona 3 (H3K4me3) en la región promotora de *TFAM* es un rasgo variable asociado al peso al nacer y podría depender de factores ambientales como el metabolismo de metilos, en este caso dado por lo niveles de homocisteína^(56,64).

Un simple análisis de Biología de Sistemas buscando en la literatura con las palabras clave “Epigenetics” y “Metabolic syndrome” mediante motores de búsqueda, se puede encontrar un “network” de genes relacionados, algunos ya mencionados (Figura 1), pero otros como componentes claves del reloj interno celular como el CLOCK cuyas variantes hemos encontrados asociadas a Obesidad y otros componentes del síndrome metabólico^(44,65) y que recientemente se han descrito como potencial blanco de modificaciones epigenéticas.

CONCLUSIÓN

Las modificaciones epigenéticas participan en la regulación de la expresión de los genes, y son relevantes en la salud del individuo adulto desde

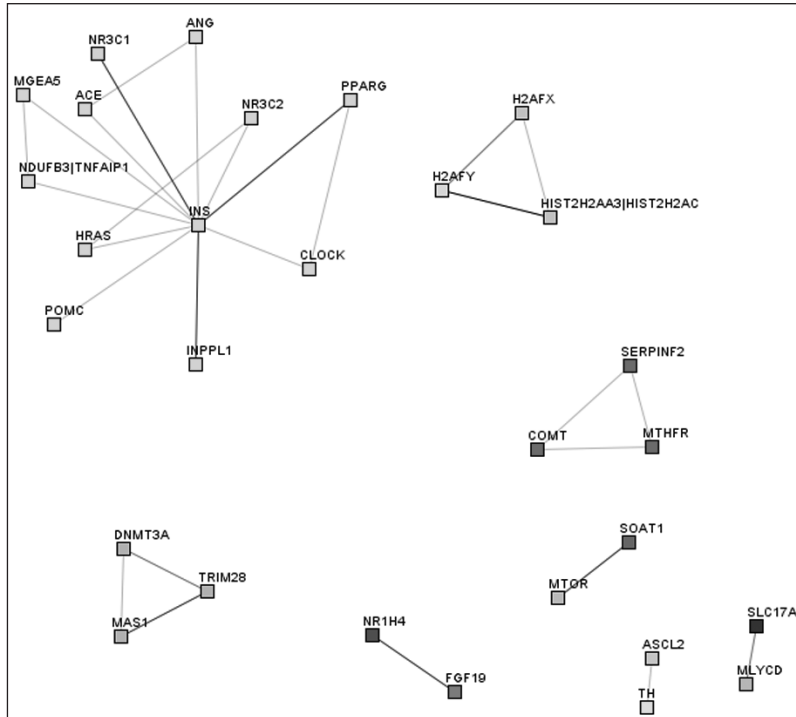


Figura 1. Network de genes obtenidos mediante la búsqueda utilizando el software Pescador (<http://cbdm.mdc-berlin.de/tools/pescador/>) con las palabras claves “epigenetics” AND “metabolic Syndrome” y el interactoma graficado utilizando el programa Medusa. Los colores indican clusters funcionales de nodos que se refieren a genes identificados por el HUGO gen ID, algunos de los cuales se mencionan como modificadores epigenéticos (DNMTs) o el CLOCK que se comentan y otros como ACE (Enzima de conversión de la angiotensina I), AGT (angiotensinógeno) e INS (insulina) forman parte de importantes vías metabólicas y son blancos terapéuticos ya utilizados.

su concepción, y en su descendencia. Estas modificaciones vincularían nuestra información genética con el medio ambiente, hábitos alimentarios y de estilo de vida, del comportamiento, etc., por lo que seríamos capaces de responder a un cambio en suplementos dietarios, por ejemplo al incorporar dadores de metilos como metionina, betaína, ácido fólico o a ciertos fármacos de uso en la práctica clínica. Es por ello que es muy importante investigar y conocer los procesos fisiológicos y patológicos en las que se encuentran involucradas para no solo poder realizar tratamientos no solo farmacológicos, efectivos de las distintas patologías, sino que también poder establecer medidas preventivas desde la gestación.

Financiamiento: TFG y CJP pertenecen al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. El trabajo fue realizado con fondos provenientes de subsidios de la ANPCYT (PICT2010-0441, PICT2012-0159) y UBACYT (CM04).

BIBLIOGRAFÍA

1. **Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA.** Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 429:457-463, 2004
2. **Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E.** Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell* 128:635-638, 2007
3. **Jiang YH, Bressler J, Beaudet AL.** Epigenetics and human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 5:479-510, 2004
4. **Reaven GM.** Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev* 75:473-486, 1995
5. **Grundey SM.** Hypertriglyceridemia, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 83:25F-29F, 1999
6. **Reaven G.** Metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation* 106:286-288, 2002
7. **Auclair G, Weber M.** Mechanisms of DNA methylation and demethylation in mammals. *Biochimie* 94:2202-2211, 2012
8. **Kim JK, Samaranyake M, Pradhan S.** Epigenetic mechanisms in mammals. *Cell Mol Life Sci* 66:596-612, 2009

9. **Gopalakrishnan S, Van Emburgh BO, Robertson KD.** DNA methylation in development and human disease. *Mutat Res* 647:30-38, 2008
10. **Miranda TB, Jones PA.** DNA methylation: the nuts and bolts of repression. *J Cell Physiol* 213:384-390, 2007
11. **Goll MG, Kirpekar F, Maggert KA, Yoder JA, Hsieh CL, Zhang X, Golik KG, Jacobsen SE, Bestor TH.** Methylation of tRNAAsp by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2. *Science* 311:395-398, 2006
12. **Goll MG, Bestor TH.** Eukaryotic cytosine methyltransferases. *Annu Rev Biochem* 74:481-514, 2005
13. **Okano M, Bell DW, Haber DA, Li E.** DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell* 99:247-257, 1999
14. **Reik W.** Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. *Nature* 447:425-432, 2007
15. **Gal-Yam EN, Saito Y, Egger G, Jones PA.** Cancer epigenetics: modifications, screening, and therapy. *Annu Rev Med* 59:267-280, 2008
16. **Kriaucionis S, Heintz N.** The nuclear DNA base 5-hydroxymethylcytosine is present in Purkinje neurons and the brain. *Science* 324:929-930, 2009
17. **Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, Pastor WA, Bandukwala H, Brudno Y, Agarwal S, Iyer LM, Liu DR, Aravind L, Rao A.** Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science* 324:930-935, 2009
18. **Nabel CS, Kohli RM.** Molecular biology. Demystifying DNA demethylation. *Science* 333:1229-1230, 2011
19. **Guo JU, Su Y, Zhong C, Ming GL, Song H.** Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain. *Cell* 145:423-434, 2011
20. **Ito S, Shen L, Dai Q, Wu SC, Collins LB, Swenberg JA, He C, Zhang Y.** Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Science* 333:1300-1303, 2011
21. **Fu Y, He C.** Nucleic acid modifications with epigenetic significance. *Curr Opin Chem Biol* 16:516-524, 2012
22. **Langemeijer SM, Aslanyan MG, Jansen JH.** TET proteins in malignant hematopoiesis. *Cell Cycle* 8:4044-4048, 2009
23. **Mohr F, Dohner K, Buske C, Rawat VP.** TET genes: new players in DNA demethylation and important determinants for stemness. *Exp Hematol* 39:272-281, 2011
24. **Wu H, D'Alessio AC, Ito S, Wang Z, Cui K, Zhao K, Sun YE, Zhang Y.** Genome-wide analysis of 5-hydroxymethylcytosine distribution reveals its dual function in transcriptional regulation in mouse embryonic stem cells. *Genes Dev* 25:679-684, 2011
25. **Kornberg RD, Lorch Y.** Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. *Cell* 98:285-294, 1999
26. **Li G, Reinberg D.** Chromatin higher-order structures and gene regulation. *Curr Opin Genet Dev* 21:175-186, 2011
27. **Bannister AJ, Kouzarides T.** Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res* 21:381-395, 2011
28. **Greer EL, Shi Y.** Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet* 13:343-357, 2012
29. **Justin N, De M, V, Aasland R, Gambelin SJ.** Reading, writing and editing methylated lysines on histone tails: new insights from recent structural studies. *Curr Opin Struct Biol* 20:730-738, 2010
30. **Yokoyama A, Fujiki R, Ohtake F, Kato S.** Regulated histone methyltransferase and demethylase complexes in the control of genes by nuclear receptors. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 76:165-173, 2011
31. **Del Rizzo PA, Trievel RC.** Substrate and product specificities of SET domain methyltransferases. *Epigenetics* 6:1059-1067, 2011
32. **Teperino R, Schoonjans K, Auwerx J.** Histone methyl transferases and demethylases; can they link metabolism and transcription? *Cell Metab* 12:321-327, 2010
33. **Bannister AJ, Schneider R, Kouzarides T.** Histone methylation: dynamic or static? *Cell* 109:801-806, 2002
34. **Variar RA, Timmers HT.** Histone lysine methylation and demethylation pathways in cancer. *Biochim Biophys Acta* 1815:75-89, 2011
35. **Grunstein M.** Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature* 389:349-352, 1997
36. **Peserico A, Simone C.** Physical and functional HAT/HDAC interplay regulates protein acetylation balance. *J Biomed Biotechnol* 2011:371832, 2011
37. **de Ruijter AJ, van Gennip AH, Caron HN, Kemp S, van Kuilenburg AB.** Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem J* 370:737-749, 2003
38. **Kim HJ, Bae SC.** Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action and clinical trials as anti-cancer drugs. *Am J Transl Res* 3:166-179, 2011
39. **Nakagawa T, Guarente L.** Sirtuins at a glance. *J Cell Sci* 124:833-838, 2011
40. **Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report.** *Circulation* 106:3143-3421, 2002
41. **Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, McCullough AJ, Natale S, Forlani G, Melchionda N.** Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 50:1844-1850, 2001
42. **Sookoian S, Burgueno AL, Castano G, Pirola CJ.** Should nonalcoholic fatty liver disease be included in the definition of metabolic syndrome? A cross-sectional comparison with adult treatment panel III criteria in nonobese nondiabetic subjects: response to Musso et al. *Diabetes Care* 31:e42, 2008
43. **Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, Carnethon MR, Dai S, de SG, Ford ES, Fox CS, Fullerton HJ, Gillespie C,**

- Greenlund KJ, Hailpern SM, Heit JA, Ho PM, Howard VJ, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Makuc DM, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, McDermott MM, Meigs JB, Moy CS, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Rosamond WD, Sorlie PD, Stafford RS, Turan TN, Turner MB, Wong ND, Wylie-Rosett J.** Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 123:e18-e209, 2011
44. **Sookoian S, Gemma C, Gianotti TF, Burgueno A, Castano G, Pirola CJ.** Genetic variants of Clock transcription factor are associated with individual susceptibility to obesity. *Am J Clin Nutr* 87:1606-1615, 2008
 45. **Porto PI, García SI, Dieuzeide G, González C, Landa MS, Pirola CJ.** Clinical features of the metabolic syndrome in adolescents: minor role of the Trp64Arg beta3-adrenergic receptor gene variant. *Pediatr Res* 55:836-841, 2004
 46. **Alberti KG, Zimmet P, Shaw J.** Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 23:469-480, 2006
 47. **Grundy SM, Brewer HB, Jr., Cleeman JI, Smith SC, Jr., Lenfant C.** Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 109:433-438, 2004
 48. **Sookoian S, Pirola CJ.** Metabolic syndrome: from the genetics to the pathophysiology. *Curr Hypertens Rep* 13:149-157, 2011
 49. **Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Phillips K, Clark PM.** Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 36:62-67, 1993
 50. **Breier BH, Vickers MH, Ikenasio BA, Chan KY, Wong WP.** Fetal programming of appetite and obesity. *Mol Cell Endocrinol* 185:73-79, 2001
 51. **Godfrey KM, Barker DJ.** Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr* 71:1344S-1352S, 2000
 52. **Seki Y, Williams L, Vuguin PM, Charron MJ.** Minireview: Epigenetic programming of diabetes and obesity: animal models. *Endocrinology* 153:1031-1038, 2012
 53. **Barker DJ, Osmond C.** Low birth weight and hypertension. *BMJ* 297:134-135, 1988.
 54. **Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Spiegelman D, Ascherio AL, Stampfer MJ.** Birth weight and adult hypertension, diabetes mellitus, and obesity in US men. *Circulation* 94:3246-3250, 1996
 55. **Poston L.** Gestational weight gain: influences on the long-term health of the child. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 15:252-257, 2012
 56. **Sookoian S, Gianotti TF, Burgueno AL, Pirola CJ.** Fetal metabolic programming and epigenetic modifications: a systems biology approach. *Pediatr Res* 73:531-542, 2013
 57. **Gemma C, Sookoian S, Alvarinas J, Garcia SI, Quintana L, Kanevsky D, Gonzalez CD, Pirola CJ.** Maternal pregestational BMI is associated with methylation of the PPARGC1A promoter in newborns. *Obesity (Silver Spring)* 17:1032-1039, 2009
 58. **Gemma C, Sookoian S, Dieuzeide G, García SI, Gianotti TF, González CD, Pirola CJ.** Methylation of TFAM gene promoter in peripheral white blood cells is associated with insulin resistance in adolescents. *Mol Genet Metab* 100:83-87, 2010
 59. **Gemma C, Sookoian S, Alvarinas J, García SI, Quintana L, Kanevsky D, González CD, Pirola CJ.** Mitochondrial DNA depletion in small- and large-for-gestational-age newborns. *Obesity (Silver Spring)* 14:2193-2199, 2006
 60. **Gianotti TF, Sookoian S, Dieuzeide G, García SI, Gemma C, González CD, Pirola CJ.** A decreased mitochondrial DNA content is related to insulin resistance in adolescents. *Obesity (Silver Spring)* 16:1591-1595, 2008
 61. **Sookoian S, Rosselli MS, Gemma C, Burgueno AL, Fernández GT, Castano GO, Pirola CJ.** Epigenetic regulation of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease: impact of liver methylation of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1alpha promoter. *Hepatology* 52:1992-2000, 2010
 62. **Pirola CJ, Gianotti TF, Burgueno AL, Rey-Funes M, Loidl CF, Mallardi P, Martino JS, Castano GO, Sookoian S.** Epigenetic modification of liver mitochondrial DNA is associated with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Gut* 62:1356-1363, 2013
 63. **Shock LS, Thakkar PV, Peterson EJ, Moran RG, Taylor SM.** DNA methyltransferase 1, cytosine methylation, and cytosine hydroxymethylation in mammalian mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:3630-3635, 2011
 64. **Fernández Gianotti, T, Gemma, C., Alvarinas, J., González, C. D., Sookoian, S., and Pirola, C. J.** Las modificaciones epigenéticas de histonas se asocian a niveles plasmáticos de homocisteína y peso corporal en neonatos. *Medicina (Buenos Aires)* 70(Suppl II), 144-(Abs). 2010
 65. **Sookoian S, Castano G, Gemma C, Gianotti TF, Pirola CJ.** Common genetic variations in CLOCK transcription factor are associated with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 13:4242-4248, 2007
 66. **Albert M, Helin K.** Histone methyltransferases in cancer. *Semin Cell Dev Biol* 21:209-220, 2010
 67. **Nimura K, Ura K, Kaneda Y.** Histone methyltransferases: regulation of transcription and contribution to human disease. *J Mol Med (Berl)* 88:1213-1220, 2010
 68. **Petrossian TC, Clarke SG.** Uncovering the human methyltransferasome. *Mol Cell Proteomics* 10:M110, 2011
 69. **Kooistra SM, Helin K.** Molecular mechanisms and potential functions of histone demethylases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 13:297-311, 2012
 70. **Lohse B, Kristensen JL, Kristensen LH, Agger K, Helin K, Gajhede M, Clausen RP.** Inhibitors of histone demethylases. *Bioorg Med Chem* 19:3625-3636, 2011