

EPIGENETICA Y EPIGENOMA: UN PASO MAS ALLA EN LA ETIOLOGIA Y POTENCIAL TRATAMIENTO DE LAS ENFERMEDADES NEUROLOGICAS

SERGIO J. GONZALEZ¹, EDGARDO CRISTIANO², PABLO ARGIBAY¹

¹Unidad de Medicina Molecular y Genómica, Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental (ICBME),

²Servicio de Neurología, Hospital Italiano de Buenos Aires

Resumen Los mecanismos de regulación epigenética poseen una función muy importante en el desarrollo y en la función de todos los sistemas del organismo. El fracaso en el normal mantenimiento de esta regulación y desarrollo, debido a factores ambientales, podría contribuir al desarrollo de múltiples enfermedades en pacientes predispuestos genéticamente. Si bien la fisiopatología de gran parte de las enfermedades es desconocida en sus mecanismos moleculares más finos, existen evidencias de que la mayoría de los mecanismos fisiopatológicos convergerían a una interacción entre los genes y el ambiente. La epigenética nos permitiría estudiar la interacción mencionada en los niveles moleculares de regulación de la expresión o supresión de un gen y su relación con diversas enfermedades. Particularmente las enfermedades neurológicas, por su complejidad, la gran cantidad de genes involucrados y la influencia ambiental, son un ámbito más que apropiado para investigar potenciales mecanismos epigenéticos en su fisiopatología y desarrollo. La presente revisión tiene como objetivo describir en detalle los mecanismos de regulación epigenética y los hallazgos conocidos que provocarían la disfunción de estos mecanismos como posibles desencadenantes de diferentes enfermedades neurológicas.

Palabras clave: epigenética, expresión génica, ambiente

Abstract *Epigenetics and epigenome: A step forward in the etiology and potential treatment of neurological diseases.* The mechanisms of epigenetic regulation play an important role in the development and function of body systems. Failure in the maintenance of this regulation as well as environmental factors could contribute to the development of multiple diseases in genetically predisposed patients. Although the molecular mechanisms responsible for the etiology of most diseases are unknown, there is evidence of both genetic and environmental factors that could influence this development. Recent findings involve epigenetic mechanisms in the origin of various diseases. This review aims to describe in detail the mechanisms of epigenetic regulation and the known findings involving the dysfunction of these mechanisms as a possible cause of various diseases.

Key words: epigenetics, gene expression, environment

El genoma humano contiene aproximadamente 30 000 genes; sin embargo, cada tipo de célula sólo expresa una pequeña cantidad de genes necesarios para su funcionamiento adecuado. Por otra parte, especies distantes fenotípica y hasta filogenéticamente mantienen genomas con alto grado de homología. Luego de las expectativas puestas en el "proyecto genoma humano", se ha observado que sólo un reducido grupo de enfermedades se puede predecir por la presencia de tal o cual característica genética (mutación). Vale la pena aclarar que para varias

enfermedades se han encontrado factores de riesgo que denotan mayor o menor grado de probabilidad en el desarrollo de las mismas sin ser determinantes de su aparición. Además de su genoma, cada célula tiene un epigenoma, el cual es definido por el perfil de expresión génica en respuesta a estímulos ambientales y mecanismos regulatorios a nivel molecular. El término epigenética fue introducido por Conrad Waddington a principios de 1940¹⁻³, definiéndola como "la rama de la biología que estudia las interacciones causales entre los genes y sus productos que dan lugar al fenotipo"².

En la actualidad, se puede definir a la epigenética como aquellos cambios estables y heredables en la expresión génica, que no son atribuidos a alteraciones en las secuencias de ADN³. Estos cambios pueden afectar tanto la expresión de los genes como las propiedades de sus productos finales.

Para comprender mejor este concepto, podemos decir que la regulación de la expresión génica tiene dos

Recibido: 16-XI-2010

Aceptado: 7-VI-2011

Dirección postal: Dr. Pablo Argibay, Unidad de Medicina Molecular y Genómica, Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental, Hospital Italiano de Buenos Aires, Gascón 450, 1181 Buenos Aires, Argentina

Fax (54-11) 4959-0200 (int. 8919)

e-mail: pablo.argibay@hospitalitaliano.org.ar

componentes principales²: el primero está determinado por el control inmediato que ejercen activadores y represores de la transcripción sobre los genes. El segundo componente encargado de regular la expresión génica, está determinado por los controles epigenéticos que se ejercen sobre la expresión de la misma². Los mecanismos epigenéticos que actúan regulando la transcripción incluyen principalmente: a) la metilación del ADN; b) cambios en la configuración de la cromatina; c) la impronta génica; d) el silenciamiento de los genes por unión de ARN³⁻⁶. En conjunto, estos cuatro mecanismos epigenéticos junto con el control ejercido por activadores y represores, tienen la capacidad de regular qué genes se expresarán y en qué momento de la vida de la célula.

Dado que la mayor parte de las enfermedades neurológicas son esporádicas, es muy difícil identificar los genes responsables de su desarrollo. Por otro lado, se han podido asociar diferentes genes al desarrollo de enfermedades neurológicas; el hecho de estar sólo asociados indica que no son la causa de las enfermedades sino simplemente marcadores de riesgo. De forma contraria, va en aumento el número de factores ambientales que han sido identificados y relacionados con el desarrollo de diferentes enfermedades neurológicas. La tendencia actual es considerar que los cambios ambientales influyen en el desarrollo de enfermedades a través de cambios en mecanismos epigenéticos.

Por lo previamente considerado y dada la importancia del concepto epigenético en diversas enfermedades, el presente trabajo tuvo como objetivo revisar el rol de la regulación epigenética en el desarrollo de las enfermedades y su posible aplicación terapéutica.

Los mecanismos epigenéticos

Determinamos que la epigenética consiste en un componente fundamental de regulación de la expresión génica. Los mecanismos epigenéticos utilizados con este fin, como previamente mencionamos son: a) la metilación del ADN; b) cambios en la configuración de la cromatina; c) la impronta génica; d) el silenciamiento por unión de ARN³⁻⁷.

a) Metilación del ADN

De las 4 bases del ADN, solo la citosina es fisiológicamente modificada a un análogo llamado 5´ metilcitosina por la adición de un grupo metilo en el carbono 5 del anillo de pirimidina. Las enzimas responsables de la metilación del ADN son las DNMTs (ADN metiltransferasas) que son divididas en grupos de acuerdo al ADN que utilizan como sustrato: A) metiltransferasas *de novo* (DNMT3a y DNMT3b) son responsables principalmente de agregar grupos metilos a citosinas en regiones CpG que no habían sido metiladas con anterioridad, B) la metiltransferasa de mantenimiento (DNMT1) copia patrones de metilación preexistentes en cadenas de ADN nuevas durante la re-

plicación. La metilación de las citosinas ayuda a mantener la integridad del genoma al generar el silenciamiento y la imposibilidad de expresarse del gen sobre el que se adicionó el grupo metilo. El mencionado evento en las islas CpG, reprime la transcripción génica, tanto en condiciones fisiológicas como de enfermedad^{2, 14-18}.

Las islas CpG son regiones cromosómicas donde están agrupados sitios CpG no metilados en el extremo 5´ de un gen formando parte de su promotor. Existen excepciones a esta definición, ya que algunos genes poseen esta región metilada, por ejemplo en uno de los cromosomas X de las mujeres, permitiendo su inactivación generando el efecto de compensación de dosis. Los dinucleótidos CpG que no están incrustados en las islas CpG se encuentran generalmente metilados y están esencialmente localizados en secuencias repetitivas o centroméricas, pudiendo además estar distribuidos en regiones génicas e intergénicas.

Por otro lado, las enzimas DNMTs jugarían un rol no enzimático en el silenciamiento transcripcional, influyendo en la remodelación de la cromatina al interactuar bioquímicamente con las histonas-metiltransferasas y con las histonas-desacetilasas.

Es importante señalar que la represión transcripcional no es el único evento mediado por la metilación del ADN. Se ha informado también que la metilación del ADN está asociada al mantenimiento de la integridad del genoma mediante la supresión de la recombinación mitótica y/o contribuyendo a la cuidadosa segregación de los cromosomas durante la mitosis. Inversamente, se ha descrito que cuando el ADN se encuentra hipometilado en zonas de alto riesgo de mutación, éste sufre una menor pérdida de genes, un menor silenciamiento génico y consecuentemente un mayor riesgo de mutación^{15, 16}.

A nivel molecular, existirían 2 mecanismos principales por los cuales la metilación del ADN inhibiría la expresión génica: 1) la modificación de la citosina inhibiría la unión de factores activadores de la transcripción sobre el ADN, impidiendo así la expresión génica; 2) una serie de proteínas que tienen la capacidad de reconocer y unirse a la 5´ metilcitosina (MBDs) por medio de diferentes dominios proteicos (MeCP2, MBD1, MBD2, MBD3 y MBD4) ejerciendo su capacidad represiva sobre la expresión del ADN metilado por mecanismos aún no del todo aclarados¹⁹. De esta manera, la metilación del ADN tendría un rol sumamente importante en la regulación de la expresión génica (Fig. 1).

b) Cambios en la configuración de la cromatina

El nucleosoma es la unidad fundamental de la cromatina. Está compuesto por un octámero de histonas (H2A, H2B, H3 y H4) rodeado por dos vueltas de ADN (146pb). Cada nucleosoma está unido con el siguiente por un pequeño segmento de ADN. El nucleosoma puede encontrarse condensado impidiendo la expresión génica o relajado permitiendo la transcripción. Esa variabilidad en

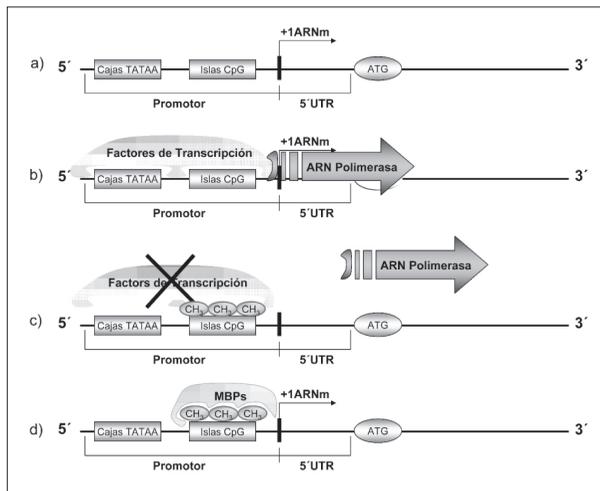


Fig. 1.– Inhibición de la transcripción génica por medio de metilación. a) Esquema de un promotor clásico. b) La unión de los factores de transcripción a los elementos promotores permite que se ubique correctamente la ARN polimerasa y comience con la transcripción. c) la adición de grupos metilos a las citosinas impide la unión de los factores de transcripción inhibiendo la transcripción. d) la unión de proteínas que reconocen metilcitosina (MBDs) inhiben la transcripción.

la arquitectura del nucleosoma y su estado de relajación o condensación, es regulada por enzimas nucleares que molecularmente tienen la capacidad de modificar el estado de acetilación de lisinas en la cola aminoterminal de las histonas. Estas enzimas son conocidas como histonas desacetilasas (HDACs) producen la desacetilación de las histonas y consecuentemente la condensación del nucleosoma impidiendo la transcripción génica. Por otro lado, el grupo de enzimas histonas acetiltransferasas (HATs) producen la hiperacetilación de las histonas y consecuentemente la relajación del nucleosoma, favoreciendo así la transcripción génica^{3, 7, 15, 17-19}. Ambos grupos de enzimas (HDACs y HATs) no sólo están implicados en el estado de acetilación de las histonas y regulación de la transcripción, sino que también tienen la capacidad de producir interacciones del tipo proteína-proteína, jugando un rol crítico en muchos procesos celulares incluyendo la progresión del ciclo celular, diferenciación y apoptosis^{17,20}.

Las histonas sufren cambios una vez traducidas. Esas modificaciones post-traduccionales de las histonas nucleosomales –tanto a nivel local como genómico, están siempre implicadas en la regulación transcripcional. Esta es la hipótesis del llamado código de las histonas, a través del cual se explica como diferentes modificaciones amino terminales de las histonas pueden generar interacciones sinérgicas o antagónicas de las proteínas asociadas a la cromatina, regulando de esta manera el acceso al ADN subyacente y a la transcripción^{15, 16, 19}. Funcionalmente, podemos resumir sobre este mecanismo regulatorio, que el genoma eucariota está dividido en eucromatina

y heterocromatina, las que son citológica, genómica y funcionalmente distintas. La eucromatina corresponde en general a regiones genómicas que poseen genes transcripcionalmente activos (o potencialmente activos) y que son descondensados durante la interfase. La secuencia regulatoria en estas regiones es accesible a nucleasas y está hiperacetilada sobre los residuos aminoterminales de lisinas. En general, los dominios eucromáticos replican temprano en fase S^{2, 15, 16}.

Mientras que se define a la heterocromatina por su condensación genómica, como una zona transcripcionalmente inactiva, la heterocromatina está silenciada a través de mecanismos epigenéticos (hipoacetilación y metilación de histonas) impidiendo de esta manera la expresión génica en un momento determinado^{11, 15, 21, 45}. En este punto vale la pena aclarar que la metilación de residuos de histonas no siempre está relacionada con la inactivación de la transcripción. Las enzimas encargadas de metilar algunos de los residuos de las histonas son las histonas metiltransferasas (HMTs), que principalmente tienen una alta afinidad por los residuos arginina o lisina; a esta última se la puede encontrar mono, bi o trimetilada. La metilación de H3K4 es una marca constitutiva de eucromatina. Por otro lado, en un reciente trabajo se ha relacionado la metilación de H3K4 en promotores con bajos contenidos de CpG con un alto nivel de expresión génica en células T humanas. La metilación de arginina tanto en la H3 como en la H4 dirigen al proceso de activación transcripcional; de forma contraria, la metilación de H3K9 se asocia mayormente con la formación de heterocromatina^{15, 46, 47}. Se ha observado que la desmetilación de H3K4 por las desmetilasas específicas de lisinas (LSD1 y LSD2) está relacionada con la metilación del ADN dependiente de Dnmt3a-Dnmt3L⁴⁷.

c) Impronta génica

En humanos, existen varios genes bialélicos sobre los cuales se produce la expresión de un alelo parental, pudiendo ser el paterno o el materno pero nunca ambos. La expresión normalmente se produce en algunas células (exclusión alélica), aunque la secuencia de ambos alelos parentales sea normal³³. En algunos casos, la elección de cuál de las dos copias heredadas será expresada no es azarosa, siendo el alelo que siempre es heredado el paterno, mientras que en otros casos el alelo que es expresado es el materno. Este proceso es conocido como impronta genética (*imprinting*), definida como aquella modificación reversible de la actividad génica dependiendo del sexo parental del cual es transmitido el alelo determinado. El mantenimiento de la impronta genética se da por medio de la metilación del ADN alelo específico, permitiendo que la impronta genómica sea tejida específica o tipo celular específica^{22, 24}.

d) Silenciamiento por unión de ARN

El concepto tradicional es que los genes codifican proteínas a través de una molécula de ARNm interme-

diario. Evidencias recientes han demostrado que existen moléculas de ARN que no codifican proteínas (ncARNs, del inglés *nonprotein-coding RNAs*). Esas moléculas tendrían su origen en segmentos de ADN intrónico de genes codificantes de proteínas así como en intrones y exones de genes codificantes de productos no proteicos^{2, 23}. Dichos nc ARNs tendrían la capacidad de regular la expresión génica de muchas maneras, entre ellas afectando la transcripción, la cantidad de ARNm, la traducción y el remodelamiento de la cromatina. Surge de esta manera el concepto de ARNs transcritos en forma antisentido, (ncARNs tales como ARNi) o ARNs de interferencia (ARNi, ARN de doble cadena capaces de inducir procesos epigenéticos de silenciamiento génico a través de la degradación de los ARNm homólogos, resultando en la pérdida de producción de proteína)²³, implicados en el control de la arquitectura cromosómica, en los niveles de ARNm, en la regulación, transcripción y en el corte-empalme alternativo (*alternative splicing*) de las secuencias de ARNm. De esta manera, los ncARNs serían un mecanismo epigenético involucrado en el control de la expresión génica²³.

A través de los cuatro mecanismos previamente explicados, se produciría un control epigenético de la expresión génica celular, regulando de esta manera su función y diferenciación.

Epigenética y enfermedades neurológicas

Las investigaciones realizadas en cáncer, permitieron identificar la contribución de la epigenética en el desarrollo de varias enfermedades humanas. Las enfermedades neurológicas, particularmente aquellas de complejidad genética y clara influencia ambiental, están siendo cada vez más consideradas desde un punto de vista epigenético⁴ (Tabla 1). Incluso a nivel experimental, parecería que la modulación epigenética contribuiría al control de algunos signos.

Síndrome Rubinstein-Taybi (RTS)

Es un síndrome autosómico dominante, tiene una incidencia de 1:125 000 y se caracteriza por un componente importante de déficit cognitivo. El gen que codifica para la proteína ligando de CREB (CBP) es un co-activador transcripcional que posee actividad acetiltransferasa. Se han propuesto diferentes mutaciones en el dominio HAT de dicho gen, como responsables del desarrollo de RTS, permitiendo inferir que dichas mutaciones alteran productos génicos que estarían implicados en procesos epigenéticos que desencadenarían el desarrollo de la enfermedad.

Se ha concluido en que el desarrollo de RTS está asociado a desregulaciones en la configuración de la

TABLA 1.— *Enfermedades neurológicas asociadas con factores epigenéticos*

Enfermedad	Mecanismos epigenéticos
Síndrome de Rubinstein-Taybi	Hipoacetilación/ hipertrimetilación H3K9 (b)
Síndrome de Rett	Pérdida de actividad de MECP2 (a)
Enfermedad de Huntington	Hipoacetilación, hipertrimetilación (b)
Ataxia de Friedreich	Hipo/Hipermetilación (a) hipoaacetilación e hipertrimetilación H3K4 (b)
Enfermedad de Alzheimer	Hipo/hipermetilación (a) Acetilación, fosforilación(b)

Alteraciones en la metilación del ADN (a); Alteraciones en las histonas (b).

cromatina²⁴⁻²⁶. Los ratones deficientes en CBP, presentan alteraciones de la conducta. Aparentemente, la desregulación del gen CBP inhibiría la diferenciación de los precursores corticales de todos los tipos celulares. Esto coincide con alteraciones de CBP y la acetilación de las histonas a nivel de los promotores de genes proneurales.

En los modelos animales heterocigotas, la administración de inhibidores de la desacetilación produce la restauración de las habilidades de aprendizaje y plasticidad sináptica que estos animales presentan²⁷.

Síndrome de Rett

El síndrome de Rett se caracteriza por graves trastornos en el desarrollo neurológico y la sintomatología predominante está asociada a trastornos cognitivos. Su incidencia es de 1 por cada 15 000 niñas nacidas. Desde el punto de vista genético el síndrome de Rett ha sido asociado con mutaciones en los genes MeCP2 y CdkL5 del cromosoma X^{48, 49}. El gen MeCP2 produce proteínas de unión a metil-CpG, cumpliendo un rol importante en la regulación de la expresión de otros genes y en la plasticidad sináptica²⁸. Los antidepresivos y las drogas de abuso inducen la expresión del factor epigenético MeCP2, influyendo en la remodelación de la cromatina. En trabajos experimentales se ha demostrado que el aumento de los niveles de MeCP2 da lugar a la represión de CdkL5 en las estructuras cerebrales de ratas que habían sido tratadas con cocaína; el mismo resultado se observó en ratas expuestas a serotonina o con sobreexpresión de MeCP2. Por otra parte, se confirmó la regulación de la expresión de CdkL5 a través de la expresión de MeCP2 al observar un aumento en la expresión de CdkL5 cuando es inhibida la expresión de MeCP2 por ARNi, o cuando se tratan las

células con inhibidores de ADN-metiltransferasas. En el mismo trabajo se demostró que la metilación de CdKL5 y su metilación dependiente de unión de MeCP2 aumentaron en el *striatum* de ratas tratadas con cocaína²⁹.

Los ARNm (microARNs) son regulados por procesos como metilación del ADN. Esta marca epigenética es reconocida por reguladores de la transcripción tales como MeCP2. En un trabajo reciente se estudió la deficiencia en la regulación de ARNm causada por la ausencia de MeCP2 en un modelo murino de síndrome de Rett, obteniéndose como resultado cambios en los niveles de expresión de ARNm, que influirían en los niveles de expresión de Irak1³⁰. Por otro lado, se ha estudiado la posibilidad de utilizar vectores con el gen MeCP2 como posibles terapias contra el síndrome de Rett. Si bien los resultados experimentales fueron positivos, falta un tiempo aún para que la terapia génica se convierta en un tratamiento aprobado para esta enfermedad³¹.

Corea de Huntington

Es una enfermedad neurodegenerativa, autosómica dominante, con una penetrancia del 100% y una incidencia de 1-5:100 000. Se caracteriza por desórdenes del movimiento y trastornos cognitivos progresivos. Desde el punto de vista molecular se caracteriza por mutaciones en el gen de la proteína huntingtina (cromosoma 4). Al aumentar el número de repeticiones CAG (35-250) se generan interacciones anormales entre la proteína huntingtina y otras proteínas, conduciendo de manera no aclarada hasta el momento, al desarrollo de la enfermedad. Un dato interesante de la enfermedad es que la edad de comienzo de la misma está relacionada con el número de repeticiones. En varios trabajos se ha observado que las mutaciones en el gen de la huntingtina influyen a nivel nuclear en la expresión de otros genes en las neuronas al inhibir la función de acetilación de histonas realizada por CBP. Experimentalmente se puede contrarrestar este efecto usando inhibidores de la desacetilación. Es importante mencionar que otros trabajos no pudieron replicar estos resultados³²⁻³⁶.

Por otra parte, un gran número de trabajos sugieren el uso de ARNi como posible terapia para la corea de Huntington y se estudia la posibilidad de que el tratamiento sea alelo específico debido a que la mayoría de los pacientes son heterocigotas para la mutación, de manera que se podría disminuir en forma selectiva la expresión de la variable proteica aberrante.

Ataxia de Friedreich

Es una enfermedad autosómica recesiva, que afecta a 1-3 de 100 000 niños recién nacidos. Se presenta como un desorden neurodegenerativo grave. Es causada por

mutaciones de repeticiones numéricas de GAA en el gen FXN (proteína mitocondrial frataxina) reduciendo su expresión. Se han propuesto dos modelos para tratar de explicar este cambio en la expresión génica: el primero propone que al producirse un aumento en el número de repeticiones, el ADN adopta una conformación tridimensional diferente impidiendo la progresión de la ARN polimerasa reduciendo la transcripción génica; el segundo hace referencia a que el aumento en el número de repeticiones del triplete induce a la heterocromatización, al producirse una hipoacetilación de las histonas H3-H4, y a un aumento en la metilación de H3K9³⁷⁻³⁹.

Se ha demostrado en diferentes trabajos que el inhibidor de HDCA (HDACs) aumenta la expresión de FXN en modelos murinos. Sin embargo, no se obtiene el mismo resultado al administrar otros HDACs como SAHA (del inglés, *Suberoylanilide hydroxamic acid*) o TSA (del inglés, *sodium butyrate trichostatin A*)^{40, 41}.

Enfermedad de Alzheimer

Es la causa más común de demencia en edad avanzada. Es una enfermedad neurodegenerativa, que se manifiesta como deterioro cognitivo y trastornos conductuales. Se caracteriza en su forma típica por una pérdida progresiva de la memoria y de otras capacidades mentales. El mayor riesgo asociado es el avance de la edad. Si bien se han detectado variables genéticas de asociación, éstas no son significativas ni determinantes, por lo que se está estudiando el componente epigenético en el inicio y desarrollo de la enfermedad⁴². En modelos experimentales de enfermedad de Alzheimer, la administración de inhibidores de HDAC, revertiría algunos de los déficit cognitivos⁴³. Obviamente, gran parte de las investigaciones se centran en la modulación de la producción de APP (del inglés, *Amyloid Precursor Protein*)⁵⁰. En modelos animales de la enfermedad se han conseguido resultados muy alentadores con el tratamiento con ARNi alelo específicos en el hipocampo, logrando una importante mejoría cognitiva⁴⁴.

Concluimos en que gran parte de las enfermedades neurológicas carecen de una explicación de sus mecanismos moleculares específicos de producción. Parecería que la "llave" de entrada para la comprensión de estos mecanismos está en el conocimiento de la relación entre la información genética del individuo y las características ambientales capaces de modular la expresión de genes patogénicos o el silenciamiento de genes protectores. En la actualidad existen evidencias que indican que los factores ambientales producirían cambios fisiológicos a través de mecanismos epigenéticos que desencadenarían diferentes enfermedades en individuos genéticamente predispuestos. La comprensión de los mecanismos epigenéticos cobra importancia ya que permitiría el desarrollo de fármacos

mecanismo-específicos. Sin embargo, el nivel de conocimiento de los mecanismos moleculares implicados es aún relativamente bajo; por lo tanto, es de suma importancia ahondar en la investigación de estos procesos.

Conflictos de interés: Los autores no presentan conflictos de interés relacionados con este trabajo de revisión.

Bibliografía

- Waddington CH. Selection of the genetic basis for an acquired character. *Nature* 1952; 169: 625-6.
- Dupont C, Armant DR, Brenner CA. Epigenetics: definition, mechanisms and clinical perspective. *Semin Reprod Med* 2009; 27: 351-7.
- Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004; 429: 457-63.
- Urduingio RG, Sanchez-Mut JV, Esteller M. Epigenetic mechanisms in neurological diseases: genes, syndromes, and therapies. *Lancet Neurol* 2009; 8: 1056-72.
- Dolinoy DC, Jirtle RL. Environmental epigenomics in human health and disease. *Environ Mol Mutagen* 2008; 49: 4-8.
- Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10604-9.
- Lal G, Bromberg JS. Epigenetic mechanisms of regulation of Foxp3 expression. *Blood* 2009; 114: 3727-35.
- Shiraishi M, Oates AJ, Sekiya T. An overview of the analysis of DNA methylation in mammalian genomes. *Biol Chem* 2002; 383: 893-906.
- Klose RJ, Bird AP. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem Sci* 2006; 31: 89-97.
- Campoli M, Ferrone S. HLA antigen changes in malignant cells: epigenetic mechanisms and biologic significance. *Oncogene* 2008; 27: 5869-85.
- Lewis J, Bird A. DNA methylation and chromatin structure. *FEBS Lett* 1991; 285: 155-9.
- Floess S, Freyer J, Siewert C, et al. Epigenetic control of the foxp3 locus in regulatory T cells. *PLoS Biol* 2007; 5: e38.
- Kim HP, Leonard WJ. CREB/ATF-dependent T cell receptor-induced FoxP3 gene expression: a role for DNA methylation. *J Exp Med* 2007; 204: 1543-51.
- 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.
- Quina AS, Buschbeck M, Di Croce L. Chromatin structure and epigenetics. *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 1563-9.
- Waggoner D. Mechanisms of disease: epigenesis. *Semin Pediatr Neurol* 2007; 14: 7-14.
- Gray SG, Dangond F. Rationale for the use of histone deacetylase inhibitors as a dual therapeutic modality in multiple sclerosis. *Epigenetics* 2006; 1: 67-75.
- Heyse KS, Weber SE, Lipps HJ. Histone modifications are specifically relocated during gene activation and nuclear differentiation. *BMC Genomics* 2009; 10: 554.
- Lee CG, Sahoo A, Im SH. Epigenetic regulation of cytokine gene expression in T lymphocytes. *Yonsei Med J* 2009; 50: 322-30.
- Hewagama A, Richardson B. The genetics and epigenetics of autoimmune diseases. *J Autoimmun* 2009; 33: 3-11.
- Peng JC, Karpen GH. Epigenetic regulation of heterochromatic DNA stability. *Curr Opin Genet Dev* 2008; 18: 204-11.
- Jirtle RL, Sander M, Barrett JC. Genomic imprinting and environmental disease susceptibility. *Environ Health Perspect* 2000; 108: 271-8.
- Pushparaj PN, Melendez AJ. Short interfering RNA (siRNA) as a novel therapeutic. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33: 504-10.
- Bentivegna A, Milani D, Gervasini C, et al. Rubinstein-Taybi Syndrome: spectrum of CREBBP mutations in Italian patients. *BMC Medical Genetics* 2006; 7: 77.
- Roelfsema JH, White SJ, Ariyürek Y, et al. Genetic Heterogeneity in Rubinstein-Taybi Syndrome: Mutations in Both the CBP and EP300 Genes Cause Disease. *Am J Hum Genet* 2005; 76: 572-580.
- Murata T, Kurokawa R, Kronen A, et al. Defect of histone acetyltransferase activity of the nuclear transcriptional coactivator CBP in Rubinstein-Taybi syndrome. *Humman Molecular Genetics* 2001; 10: 1071-1076.
- Wang J, Weaver IC, Gauthier-Fisher A, et al. CBP histone acetyltransferase activity regulates embryonic neural differentiation in the normal and Rubinstein-Taybi syndrome brain. *Dev Cell* 2010; 18: 114.
- Gibson JH, Slobedman B, Karikrishnan NH, et al. Downstream targets of methyl CpG binding protein 2 and their abnormal expression in the frontal cortex of the human Rett syndrome brain. *BMC Neurosci* 2010; 11: 53.
- Carouge D, Host L, Aunis D, Zwiller J, Anglard P. CDKL5 is a brain MeCP2 target gene regulated by DNA methylation. *Neurobiol Dis* 2010; 38: 414-24.
- Urduingio RG, Fernandez AF, Lopez-Nieva P, et al. Disrupted microRNA expression caused by Mecp2 loss in a mouse model of Rett syndrome. *Epigenetics* 2010; 5: [Epub ahead of print].
- Rastegar M, Hotta A, Pasceri P, et al. MECP2 isoform-specific vectors with regulated expression for Rett syndrome gene therapy. *PLoS One* 2009; 4: e6810.
- Pérez P C, Miranda C M, Segura-Aguilar J. Availability of genetic diagnosis of Huntington disease in Chile. *Rev Med Chil* 2009; 137: 1128-9.
- Swami M, Hendricks AE., Gillis T, et al. Somatic expansion of the Huntington's disease CAG repeat in the brain is associated with an earlier age of disease onset. *Human Molecular Genetics* 2009; 18: 3039-47.
- Klevytska AM, Tebbenkamp AT, Savonenko AV, Borchelt DR. Partial depletion of CREB-binding protein reduces life expectancy in a mouse model of Huntington disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2010; 69: 396-404.
- Jiang H, Poirier MA, Liang Y, et al. Depletion of CBP is directly linked with cellular toxicity caused by mutant huntingtin. *Neurobiol Dis* 2006; 23: 543-51.
- Lee JM, Zhang J, Su AI, et al. A novel approach to investigate tissue-specific trinucleotide repeat instability. *BMC Syst Biol* 2010; 4: 29.
- Punga T, Buhler M. Long intronic GAA repeats causing Friedreich ataxia impede transcription elongation. *EMBO Mol Med* 2010; 2: 120-9.
- Li K, Singh A, Crooks DR, et al. Expression of Human Frataxin Is Regulated by Transcription Factors SRF and TFAP2. *PLoS One* 2010; 5: 1-8.
- Ditch S, Sammarco MC, Banerjee A, Grabczyk E. Progressive GAA.TTC repeat expansion in human cell lines. *PLoS Genet* 2009; 5: 1-12.
- Rai M, Soragni E, Chou CJ, et al. Two new pimelic diphenylamide HDAC inhibitors induce sustained frataxin upregulation in cells from Friedreich's ataxia patients and in a mouse model. *PLoS One* 2010; 5: 1-8.
- Xu C, Soragni E, Chou CJ, et al. Chemical probes identify a role for histone deacetylase 3 in Friedreich's ataxia gene silencing. *Chem Biol* 2009; 16: 980-9.

42. Wang SC, Oelze B, Schumacher A. Age-specific epigenetic drift in late-onset Alzheimer's disease. *PLoS One* 2008; 3: e2698.
43. Kilgore M, Miller CA, Fass DM, et al. Inhibitors of class 1 histone deacetylases reverse contextual memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Psychiatry Neurosci* 2010; 35: 870-80.
44. Rodríguez-Lebrón E, Gouvion CM, Moore SA, Davidson BL, Paulson HL. Allele-specific RNAi mitigates phenotypic progression in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Mol Ther* 2009; 17: 1563-73.
45. Allfrey VG, Faulkner R and Mirsky AE. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Biochemistry* 1964; 51: 786-94.
46. Karlić R, Chung HR, Lasserre J, Vlahovičekb K, and Vingron M. Histone modification levels are predictive for gene expresión. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 2926-31
47. Cheng X, Blumenthal RM. Coordinated chromatin control: structural and functional linkage of DNA and histone methylation. *Biochemistry* 2010; 49: 2999-3008.
48. Ruggieri V, Arberas C. Trastornos generalizados del desarrollo. *Medicina (Buenos Aires)* 2007; 67: 569-85.
49. Campos-Castello J, Fernández-Mayoralas DM, Muñoz-Jareño N, San Antonio-Arce V. Síndrome de Rett: 50 años de historia de un trastorno aún no bien conocido. *Medicina (Buenos Aires)* 2007; 67: 531-42.
50. Leal MC, Fernández Gamba A, Morelli L, Castaño EM. Proteólisis cerebral del péptido amiloide β : Relevancia de la enzima degradadora de insulina en la enfermedad de Alzheimer. *Medicina (Buenos Aires)* 2009; 69: 466-72.

Le génie génétique a soulevé passion et hostilité. Il est même devenu l'une des principales sources de la méfiance éprouvée à l'égard de la biologie. Pas tellement à cause des dangers que l'on a agités et qui n'excèdent pas ceux que l'on surmonte depuis longtemps avec l'expérimentation sur les bactéries et les virus pathogènes. Mais surtout parce que l'idée que l'on peut prélever des gènes chez un organisme, pour les insérer dans un autre, nous perturbe. La notion de ce que l'on a appelé "manipulations génétiques" ou "ADN recombinant" nous paraît toucher au surnaturel. Elle fait resurgir, de la nuit des temps, certains des mythes ancrés dans l'angoisse de l'homme. Elle évoque la terreur que provoque en nous la vision des monstres, la répugnance associée à l'idée des hybrides, des êtres unis contre nature.

La ingeniería genética ha levantado pasiones y hostilidad. Incluso se ha convertido en una de las principales fuentes de la desconfianza que se experimenta ante la biología y no tanto por causa de los peligros que se han esgrimido y que no son otros que los superados desde hace tiempo con los experimentos con bacterias y virus patógenos, sino sobre todo porque la idea de que podemos sacar los genes de un organismo para insertarlos en otro nos perturba. La noción de lo que se ha dado a llamar "manipulaciones genéticas" o "ADN recombinante" nos parece que raya en lo sobrenatural. Hace resurgir, de la noche de los tiempos, ciertos mitos anclados en la angustia humana: evoca el terror que provoca en nosotros la visión de monstruos, la repugnancia asociada a la idea de los híbridos, de los seres unidos contra natura.

Francois Jacob

La souris, la mouche et l'homme. Paris: Editions Odile Jacob, 1997, p 178
(El ratón, la mosca y el hombre, Barcelona: Critica, 1998, p 147)