

## Epigenética y diabetes

Marcelina Párrizas Jiménez

Laboratorio de Diabetes y Obesidad, IDIBAPS, Barcelona. Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas (CIBERDEM)

### INTRODUCCIÓN

Toda la información necesaria para la regulación de la diferenciación y la función de los distintos tipos celulares se encuentra en la cadena de ácido desoxirribonucleico (ADN). Sin embargo, la conclusión del primer borrador del genoma humano evidenció que el conocimiento de la secuencia del genoma queda incompleto si no se comprende cómo cada tipo celular interpreta esta información. El esfuerzo invertido en la identificación de genes en décadas previas se redirige hoy hacia el estudio de su regulación en el espacio y el tiempo, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas<sup>1</sup>. El principio del siglo XXI dio así inicio a la era de la epigenética.

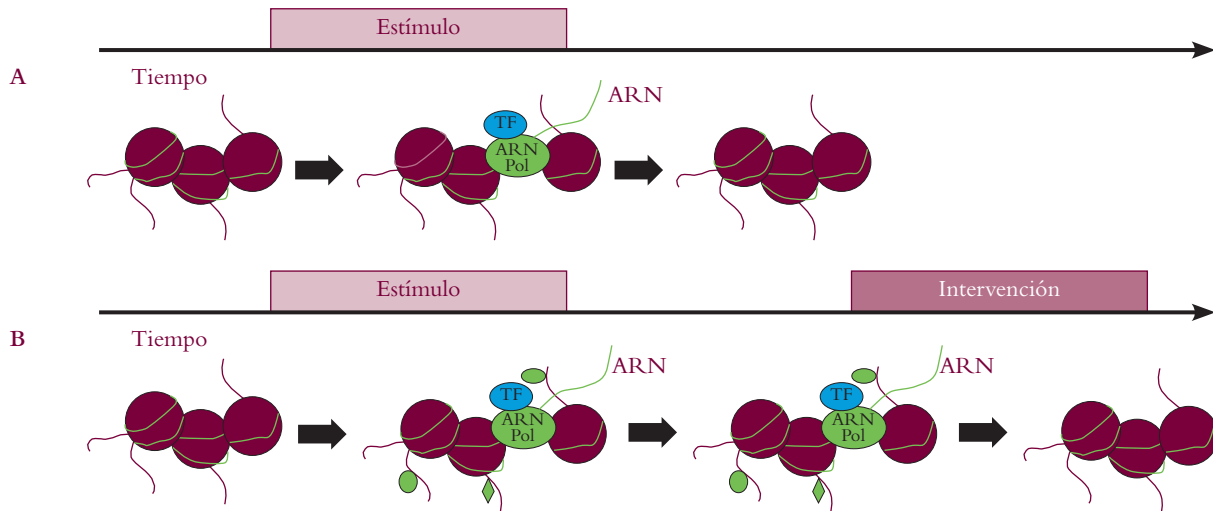
La epigenética estudia los mecanismos que controlan la institución de patrones estables de expresión génica que tiene lugar en ausencia de cambios en la secuencia del ADN<sup>2</sup>. Mediante el silenciamiento o la activación génica selectivos, la epigenética es parte integral de los procesos de diferenciación celular, y explica el hecho de que todas las células de un organismo contengan un genoma idéntico, pero expresen solo un subgrupo de genes para dar lugar a los diferentes fenotipos. Igualmente, procesos epigenéticos regulan los cambios de expresión estables a medio o largo plazo que tienen lugar en respuesta a señales ambientales y permiten al organismo adaptarse a nuevas situaciones<sup>3</sup>. Junto con el bagaje genético de un individuo, esta respuesta a las influencias ambientales determina la susceptibilidad a la enfermedad. Por otra parte, las señales epigenéticas son reversibles, a diferencia de la secuencia del ADN, que permanece invariable salvo en caso de mutaciones. Esto explica cómo intervenciones farmacéuticas o de estilo de vida pueden alterar estados transcripcionales y ejercer una influencia mensurable sobre el fenotipo.

### LA DIABETES COMO UNA ENFERMEDAD EPIGENÉTICA

La diabetes tiene un claro componente genético, por lo general poligénico, que, sin embargo, apenas puede explicar

una pequeña fracción de los casos, exceptuando la diabetes monogénica o algunos síndromes poco frecuentes<sup>4</sup>. Por otra parte, se ha demostrado que la influencia del medio ambiente, transmitida mediante señales epigenéticas, regula la susceptibilidad a la enfermedad en el contexto de un trasfondo genético dado<sup>5</sup>. En el núcleo celular, el ADN se encuentra altamente compactado y asociado a histonas, proteínas estructurales junto con las cuales constituye la cromatina. En consecuencia, el acceso de complejos reguladores al ADN no se garantiza por defecto, como ocurre en bacterias, donde este se encuentra desnudo, sino que se convierte en el primer nivel de regulación de la expresión génica. Las marcas epigenéticas, que modifican plásticamente la estructura de la cromatina, participan en la regulación de la expresión génica al modular el acceso de proteínas reguladoras al ADN<sup>2</sup>. Al establecerse en respuesta a señales externas (como la dieta o el ejercicio) y permanecer en el tiempo incluso una vez retirado el estímulo causal, estas marcas epigenéticas actúan como una especie de memoria celular. Se habla así de «memoria metabólica» (figura 1). El patrón de marcas epigenéticas (el «epigenoma») de los diversos tipos celulares puede, por tanto, reflejar la exposición a factores dietéticos inadecuados, con lo que da lugar a respuestas transcripcionales alteradas que, a su vez, tienen como consecuencia el desarrollo de enfermedad. Este efecto sucede durante toda la vida, pero es particularmente marcado cuando la exposición ocurre durante el desarrollo embrionario o en etapas tempranas del desarrollo posnatal, lo que ha dado lugar a la hipótesis del origen embrionario de la enfermedad adulta. Esta hipótesis postula que exposiciones dietéticas inadecuadas durante el desarrollo temprano condicionan, mediante mecanismos epigenéticos, el establecimiento de un patrón metabólico anómalo que aumenta la susceptibilidad a la enfermedad en la etapa adulta<sup>6</sup>. En adultos diabéticos, por otra parte, modificaciones epigenéticas causadas, por ejemplo, por cambios en los niveles de glucosa u otros metabolitos conducen al desarrollo de las complicaciones asociadas a la diabetes. Además, hay que tener en cuenta que el patrón de modificaciones epigenéticas causado por un estímulo particular puede

**Figura 1.** Respuestas transcripcionales transitorias frente a fenómenos epigenéticos. La presencia de un estímulo puede afectar a la expresión de un gen mientras aquel esté presente. Si la respuesta es transitoria, una vez extinguido el estímulo la expresión de los genes afectados recupera la normalidad (A). Si, por el contrario, la exposición al estímulo causa la modificación epigenética del gen (por ejemplo, por adición de grupos acetilo o metilo a las histonas [representados por rombos o elipses de color verde]), la expresión alterada puede mantenerse tiempo después de retirado el estímulo (B). A pesar de ello, las modificaciones epigenéticas son reversibles, por lo que una intervención farmacológica o de estilo de vida podría revertir los efectos y retornar la expresión génica a sus niveles basales



ARN: ácido ribonucleico; ARN Pol: ARN polimerasa; TF: factor de transcripción.

que se manifieste solo en algunos tipos celulares pero no en otros, o hacerlo de forma diferente según el tejido. Esto tiene implicaciones de cara a su estudio, ya que se requiere acceso a los tejidos relevantes. Por ejemplo, la identificación de cambios epigenéticos en el gen de la insulina tiene interés en las células  $\beta$ -pancreáticas y, posiblemente, no se verán reflejados en otros tipos celulares, como los monocitos. En cambio, la secuencia de ADN es igual en todos los tejidos, por lo que el estudio de mutaciones o polimorfismos puede realizarse en tejidos accesibles, como la sangre.

### MECANISMOS EPIGENÉTICOS Y METABOLISMO

La manifestación molecular más característica de la influencia epigenética son marcas químicas aplicadas por distintas enzimas directamente sobre la cadena de ADN (metilación) o las histonas (acetilación, metilación o fosforilación, entre otras). Influencias externas (hormonas, nutrientes, vitaminas, etc.) pueden modificar la expresión o actividad de las enzimas encargadas de aplicar estas marcas. Por otra parte, dichas enzimas requieren como sustratos o cofactores diversos metabolitos e intermediarios del metabolismo celular, por lo que la disponibilidad de estos (y, por consiguiente, la dieta) puede también influir sobre su actividad<sup>7</sup>. En conjunto, la dieta modula la deposición de marcas epigenéticas en las regiones reguladoras de determinados genes, alterando su

expresión, lo que a su vez impacta sobre la regulación del metabolismo o el estado de la célula<sup>3</sup>.

### Metilación del ácido desoxirribonucleico

El ADN puede ser covalentemente modificado por la adición de un grupo metilo en la posición 5 del anillo pirimidínico de la citosina. Esta modificación tiene lugar, principalmente, en dinucleótidos citosina-guanina<sup>2</sup>, que son simétricos, es decir, se encuentran en las dos cadenas de ADN, lo que permite la heredabilidad de los patrones de metilación durante la replicación. Por ello, la metilación del ADN fue prontamente reconocida como un mecanismo de memoria génica capaz de transmitir información de una generación celular a otra, al igual que la propia secuencia de ADN. Modificaciones en los patrones de metilación del ADN en respuesta a fluctuaciones ambientales pueden así perpetuar estados transcripcionales alterados que, a su vez, pueden desembocar en situaciones patológicas.

Las metiltransferasas de ADN son enzimas que transfieren un grupo metilo desde la S-adenosil-metionina hasta el ADN. Dadores de metilo aportados por la dieta (metionina, folato) aumentan los niveles de S-adenosil-metionina y pueden regular la metilación del ADN. Intervenciones nutricionales experimentales realizadas en modelos animales durante el embarazo muestran que la dieta materna puede causar

cambios epigenéticos en la descendencia. La restricción proteica en ratas preñadas, por ejemplo, da lugar en la descendencia a hipermetilación global en el hígado e hipo o hipermetilación en genes específicos en el hígado, el tejido adiposo o el páncreas<sup>8</sup>, lo que puede causar alteraciones del metabolismo de la glucosa y los lípidos que pueden paliarse al suplementar con folato la dieta pobre en proteínas de la madre. Sorprendentemente, la implementación de una dieta rica en grasas o de restricción proteica en el padre también tiene como consecuencia alteraciones en la descendencia, a pesar de que el macho solo aporta el núcleo del espermatozoide (que contiene la cromatina), no el citoplasma ni el entorno durante el embarazo. Así, la restricción proteica del padre se asocia en la descendencia con alteraciones en la metilación en ADN de diversos genes implicados en el mecanismo del colesterol en el hígado, mientras que la dieta rica en grasas da lugar a disfunción de la célula  $\beta$ -pancreática en las hembras de la descendencia<sup>8</sup>.

### Modificaciones postraduccionales de las histonas

La metilación es, hasta la fecha, la única señal epigenética descrita que afecta a la molécula de ADN. En cambio, las histonas son diana de un amplio surtido de modificaciones. Existe una clara relación entre el patrón de modificaciones de las histonas en un gen y su estado transcripcional. Así, la acetilación de residuos de lisina se correlaciona con la activación del gen asociado, mientras que el resultado de la metilación en lisinas (activación o silenciamiento génico) depende del residuo modificado. Esta relación causa/efecto entre el patrón de modificaciones de las histonas y la ocurrencia de determinados procesos dependientes del ADN (activación o silenciamiento génico, replicación celular) dio lugar a la proposición de la hipótesis del código de histonas. Esta hipótesis postula que el patrón de modificaciones en las histonas de una región genómica aporta una capa adicional de información sobre la transmitida por el código genético y participa de forma activa en su regulación<sup>2</sup>.

A pesar de que el mecanismo por el que las modificaciones de histonas se heredan no está tan claro como en el caso de la metilación del ADN, intervenciones nutricionales durante el embarazo pueden afectar al patrón de modificaciones de las histonas, dando lugar a enfermedades metabólicas en la descendencia. La restricción calórica global en la madre, por ejemplo, altera en la descendencia el patrón de modificaciones de las histonas y reduce la expresión de los factores de transcripción PDX1 y HNF4 $\alpha$  en el páncreas, y del transportador de glucosa tipo 4 estimulado por insulina en el músculo, lo que provoca una resistencia a la insulina que puede desembocar en diabetes en el adulto<sup>8</sup>.

Además, como en el caso de la metilación de ADN, la actividad de las enzimas que regulan la deposición y eliminación de las modificaciones de las histonas se ve influida por la disponibilidad de metabolitos y nutrientes. Experimentos de trazado que emplean glucosa marcada con <sup>13</sup>C mostraron que casi la mitad de los grupos acetilo presentes en histonas acetiladas derivan de la glucosa. Por otra parte, una familia de desacetilasas, las sirtuinas, emplea NAD<sup>+</sup> como cofactor, lo que puede en parte explicar por qué estas proteínas participan en el aumento de la longevidad mediado por restricción calórica. Asimismo, la primera demetilasa de histonas descrita, KDM1A, emplea FAD<sup>+</sup> como cofactor. El FAD<sup>+</sup> también actúa como cofactor durante la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos o el ciclo de Krebs, por lo que su disponibilidad refleja el estado energético de la célula, que puede ser así transferido a KDM1A, y puede modificar su actividad y, en última instancia, dar lugar a cambios transcriptómicos que afecten a genes encargados de la regulación metabólica<sup>7</sup>.

### Ácidos ribonucleicos no codificantes

A las modificaciones covalentes del ADN y las histonas se ha sumado recientemente la regulación mediada por ácidos ribonucleicos no codificantes (ARNnc) como un nuevo mecanismo epigenético. Análisis transcriptómicos han evidenciado la existencia de una abundante población de moléculas de ácido ribonucleico (ARN) que no se traducen a proteína, globalmente conocidas como ARNnc. De hecho, el número de genes que codifican proteínas en humanos es sorprendentemente similar al encontrado en otros animales (incluyendo algunos tan sencillos como el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, que consta de tan solo 959 células somáticas). Es la proporción de ADN no codificante la que aumenta al crecer la complejidad del organismo, yendo desde < 25 % en procariontas hasta > 60 % en plantas y metazoos y un espectacular 98,5 % en humanos. Dentro de los ARNnc, los micro-ARN (miARN) representan la clase más estudiada. En su forma madura comprenden moléculas de ARN de cadena sencilla de unos 22 nucleótidos altamente conservados entre especies. Estos miARN se aparean con secuencias complementarias presentes en las regiones 3' no traducidas (3'-UTR) de sus genes diana y dan lugar a su degradación o silenciamiento traduccional<sup>9</sup>. Los miARN regulan una amplia variedad de procesos que van desde la proliferación, la diferenciación y la apoptosis hasta el metabolismo. Sin embargo, el hecho de que la mayor parte de los modelos genoanulados para diferentes miARN carezcan de fenotipo claro sugiere que generalmente actúan como moduladores en situaciones de estrés, como, por ejemplo, durante un desequilibrio metabólico, más que como reguladores fundamentales de la homeostasis o el desarrollo del organismo en situación basal<sup>9</sup>.

En ratones, la obesidad y la diabetes alteran el patrón de expresión de miARN en numerosos tipos celulares, incluidos los espermatozoides, lo que a su vez puede transmitir un fenotipo metabólico anómalo a las siguientes generaciones<sup>8</sup>.

### EPIGENÉTICA DE LAS COMPLICACIONES DE LA DIABETES

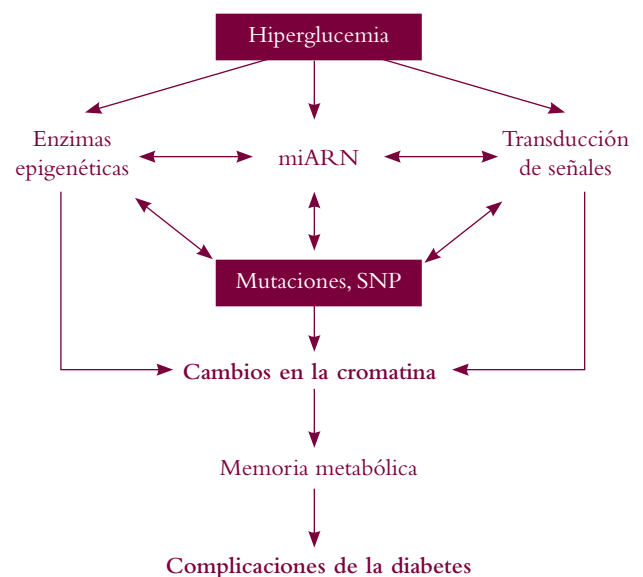
Aunque la etapa en que el epigenoma es más susceptible a la influencia del ambiente es durante el desarrollo temprano, la dieta y otros factores también pueden afectar al epigenoma de diversos tipos celulares en individuos adultos. Así, en pacientes diabéticos, alteraciones epigenéticas causadas en diferentes tejidos por la hiperglucemia mal controlada o cambios en los niveles de otros metabolitos pueden provocar complicaciones vasculares asociadas a la enfermedad (figura 2). En modelos animales, la hiperglucemia causa cambios en la metilación de histonas en células endoteliales o vasculares lisas, y favorece así el establecimiento de un estado proinflamatorio. Igualmente, en cardiomiocitos o monocitos humanos cultivados *in vitro*, el mantenimiento en un medio con altos niveles de glucosa produjo cambios en la metilación de histonas que se tradujeron en un aumento de los niveles de la citocina inflamatoria interleucina 6. Algunos de estos cambios se asocian a aumentos en la expresión de las enzimas encargadas de aplicar dichas marcas a las histonas, en particular las metiltransferasas SET7 o SUV39H1. Esta última, en concreto, parece ejercer un efecto protector en diferentes tejidos y su expresión se encuentra disminuida en diabetes. En células musculares lisas de un modelo animal de diabetes, la disminución de la expresión de SUV39H1 es mediada por el aumento de un miARN inhibidor, miR-125b<sup>10</sup>, lo que demuestra la sinergia que puede existir entre diferentes mecanismos epigenéticos. Finalmente, en pacientes diabéticos incluidos en el estudio DCCT, se ha descrito un aumento generalizado en los niveles de acetilación de histonas en monocitos en aquellos pacientes que seguían un tratamiento convencional, frente a aquellos que siguieron un tratamiento intensivo. Precisamente estas alteraciones pueden explicar el hecho de que pacientes que sufrieron picos transitorios de hiperglucemia sigan manteniendo una incidencia más alta de complicaciones incluso años después de alcanzar el control glucémico, y pone de manifiesto la importancia de las intervenciones tempranas.

### CONCLUSIONES

Influencias ambientales interactúan con el trasfondo genético del individuo, sobre todo en etapas tempranas, estableciendo fenotipos celulares anómalos en diferentes tejidos y modificando la susceptibilidad a desarrollar enfermedad. En

adultos, la influencia ambiental puede traducirse en cambios en el patrón de expresión génica que se mantienen en el tiempo, incluso una vez retirado el estímulo (figura 1). Así, en individuos diabéticos, picos de hiperglucemia pueden alterar la expresión o función de factores de transcripción proinflamatorios y dar lugar a un patrón de expresión patológico en diferentes tipos celulares. Estos cambios, en principio transitorios, pueden perpetuarse si la función de enzimas epigenéticas como las metiltransferasas de ADN o de histonas se ve afectada (figura 2). Todo ello evidencia la importancia de efectuar intervenciones tempranas para el control de la glucemia, ya que el efecto deletéreo de exposiciones a hiperglucemia puede perpetuarse durante años y derivar en una mayor incidencia de complicaciones vasculares en individuos que sufrieron períodos de descontrol glucémico.

**Figura 2.** La hiperglucemia activa mecanismos epigenéticos responsables del desarrollo de las complicaciones de la diabetes. Picos de hiperglucemia en diabetes mal controlada, en combinación con el trasfondo genético del individuo (presencia de mutaciones o polimorfismos), desencadena cambios en la expresión de microácidos ribonucleicos y la activación de factores de transcripción proinflamatorios (NFKB o TGFB) que producen cambios transitorios en la estructura de la cromatina de sus genes diana en diferentes tejidos, estableciendo un patrón de expresión génica patológico. Al mismo tiempo, la hiperglucemia y los cambios en los metabolitos causados por esta afectan a la función de enzimas y cofactores epigenéticos que pueden estabilizar el patrón de expresión génica anómalo. Este patrón alterado puede así mantenerse en el tiempo incluso tras la retirada del estímulo (memoria metabólica), influyendo en el desarrollo de las complicaciones de la diabetes



miARN: microácido ribonucleico; NFKB: factor nuclear kappa beta; SNP: polimorfismo de nucleótido único; TGFB: factor de crecimiento transformante beta.

## BIBLIOGRAFÍA

---

1. ENCODE project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 2012;489:57-74.
2. Bernstein BE, Meissner A, Lander ES. The mammalian epigenome. *Cell* 2007;128:669-81.
3. El-Osta A. Glycemic memory. *Curr Opin Lipidol* 2012;23:24-9.
4. Florez JC. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and implications for therapy. *J Diabetes Sci Technol* 2009;3:690-6.
5. Ruchat SM, Hivert M-F, Bouchard L. Epigenetic programming of obesity and diabetes by in utero exposure to gestational diabetes mellitus. *Nutr Rev* 2013;71(Suppl 1):S88-94.
6. McMillen IC, Robinson JS. Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiol Rev* 2005;85:571-633.
7. Lu C, Thompson CB. Metabolic regulation of epigenetics. *Cell Metab* 2012;16:9-17.
8. Yajnik CS. Transmission of obesity-adiposity and related disorders from the mother to the baby. *Ann Nutr Metab* 2014;64:8-17.
9. Mendell JT, Olson EN. MicroRNAs in stress signaling and human disease. *Cell* 2012;148:1172-87.
10. Reddy MA, Zhang E, Natarajan R. Epigenetic mechanisms in diabetic complications and metabolic memory. *Diabetologia* 2015;58:443-55.