



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: Epigenética y patología humana**

Autor: Marta Echávarri de Miguel

Fecha: Junio 2020

Tutor: Pilar Iniesta Serrano

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.	2
3. OBJETIVOS.....	2
4. METODOLOGÍA.	3
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	3
5.1. Definición y mecanismos epigenéticos.	3
Metilación del ADN.	3
Modificación de histonas.	5
ARN no codificante.....	7
5.2. Impronta genómica.....	9
5.3. Detección de las marcas epigenéticas.	11
5.4. Epigenética y cáncer.....	12
Metilación del ADN.....	12
Modificación de histonas.	13
ARN no codificante.....	14
5.5. La influencia de los cambios epigenéticos en otras patologías.	14
Epigenética de la Diabetes Tipo 2.....	14
Epigenética y enfermedades autoinmunes.	15
Epigenética y enfermedades neurodegenerativas.....	16
5.6. Terapia epigenética.	16
6. CONCLUSIONES.	18
7. BIBLIOGRAFÍA.....	19

1. RESUMEN.

Desde la década de los 40, la epigenética comenzó a adquirir especial importancia y a día de hoy se presenta como uno de los grandes retos de la investigación. Se trata de la ciencia que estudia las modificaciones producidas en los genes pero sin deberse a alteraciones en la secuencia del ADN. Se dividen en 3 las modificaciones epigenéticas que podemos encontrar en las células, la metilación del ADN, las modificaciones de histonas y el ARN no codificante. Estas marcas son reversibles, heredables y específicas de cada célula. No obstante, el problema surge cuando estos mecanismos introducen cambios que alteran el funcionamiento normal de las células y se desarrollan multitud de patologías humanas. Por ejemplo, existen diversos síndromes relacionados con defectos en la impronta genómica, pero otras enfermedades como cáncer, diabetes, enfermedades autoinmunes y neurodegenerativas también presentan cambios epigenéticos.

Es difícil poder asegurar que una determinada marca epigenética es la causante de una patología en concreto porque por lo general las enfermedades dependen de múltiples factores y causas. Sin embargo, el campo de la epigenética amplía la información sobre el origen de diversas enfermedades. Además, al tratarse de cambios reversibles es posible el desarrollo de tratamientos, pero este campo aún es muy incipiente y se debe continuar investigando.

Palabras clave: epigenética, metilación, acetilación, histonas, ARN, ADN, cáncer.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

El campo de la epigenética surgió en la década de los 40, pero desde entonces no ha parado de crecer. La primera persona en emplear el término epigenética fue el biólogo inglés Conrad Hal Waddington. Concretamente, la palabra epigenética proviene de la fusión de la palabra “epigénesis”, que es la manera en la que se desarrolla un embrión, con la palabra “genética”, el estudio de los genes y la herencia. Waddington utilizó este término para explicar cómo las alteraciones del medio ambiente durante el desarrollo podían afectar al fenotipo de cada individuo (1,2).

Sin embargo, la definición de epigenética que se utiliza en la actualidad es muy diferente a la que el propio Waddington definió en 1942. Hoy en día la epigenética es la ciencia que estudia los cambios en la expresión genética que no se deben a alteraciones en la secuencia de nucleótidos, sino al silenciamiento o activación de genes por factores externos al ADN (1,2). Además estos cambios son potencialmente heredables y se ha demostrado que se pueden transmitir incluso a tres generaciones. De los padres al hijo, mediante el material genético del espermatozoide y el óvulo y el ambiente del útero, y a continuación desde el hijo a su descendencia (3).

Por ello, el campo emergente de la epigenética nos está aportando las herramientas necesarias para conocer cómo pueden influir en el desarrollo de distintas patologías los cambios genéticos que no están relacionados con alteraciones en la secuencia de ADN (1).

3. OBJETIVOS.

El objetivo de este trabajo es llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre la epigenética y su relación con diferentes patologías como cáncer, diabetes, enfermedades autoinmunes o neurodegenerativas. En concreto, se pretende revisar el estado actual y el conocimiento hasta la fecha de la epigenética, así como sus posibilidades y opciones de tratamiento.

4. METODOLOGÍA.

Se ha realizado una revisión bibliográfica descriptiva sobre la epigenética, su influencia en distintas patologías y posibles alternativas terapéuticas. Para ello se emplearon artículos procedentes de bases de datos como Pubmed, Google Scholar, Science Direct. Además, se recopiló información de varios libros adquiridos en la biblioteca de la Facultad de Farmacia.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1. Definición y mecanismos epigenéticos.

Como ya se ha mencionado anteriormente, la epigenética es la ciencia que estudia la modificación en la expresión de los genes mediante mecanismos que no alteran la secuencia del ADN. Debido a estos mecanismos, el epigenoma es alterado y específico del tipo de célula. Además el epigenoma se puede transmitir mediante mitosis a las células hijas, y estas a su descendencia por meiosis. Cabe destacar, que las mutaciones epigenéticas son reversibles, lo cual abre la puerta a poder desarrollar tratamientos que reviertan estas alteraciones no deseadas (1). Las características del epigenoma se contraponen a las del genoma. Este último también es heredable, pero es idéntico en todas las células de un organismo y las modificaciones que se produzcan en él no son reversibles (1).

Existen 3 mecanismos epigenéticos que pueden producir alteraciones insignificantes que no alteren la expresión de genes, o por el contrario desencadenar numerosas patologías. Estos mecanismos son 1) la metilación del ADN, 2) la modificación de histonas y 3) el ARN no codificante.

Metilación del ADN.

El mecanismo epigenético de metilación de ADN es el más conocido y estudiado de los 3 mencionados anteriormente. Tiene lugar después de la replicación del material genético y también durante la diferenciación de las células adultas. El mecanismo consiste en la adición de grupos metilo en la posición 5 del anillo de pirimidina, en las bases nitrogenadas de citosina. De esta manera se forma la 5-metilcitosina (1,2). La adición de este grupo metilo es realizada mediante las enzimas DNA metiltransferasas (DNMT), especialmente de las isoformas DNMT1, DNMT3A y DNMT3B. Estas enzimas adquieren el grupo metilo por transferencia desde el metabolito llamado S-adenosil metionina (SAM), es decir, actúa como donador de grupos metilo (4). Por otro lado, también pueden intervenir unas enzimas, conocidas como desmetilasas que se encargan de retirar el grupo metilo de las citosinas (2).

Como ya se ha mencionado anteriormente, la metilación tiene lugar en las citosinas, pero estas deben estar inmediatamente adyacentes a nucleótidos con bases de guanina. Estos se denominan dinucleótidos CpG (p representa el grupo fosfato que conecta los nucleótidos de C y G). Citosina y guanina son complementarias y unidas a través de 3 puentes de hidrógeno, por lo tanto ambos nucleótidos de citosina (uno de cada cadena de ADN), están ubicados diagonalmente entre sí y ambas cadenas de ADN se encuentran metiladas (1,2).

Por lo general, estos dinucleótidos CpG se encuentran muy próximos entre sí, de manera que se agrupan en regiones denominadas islas CpG. Estas islas son zonas ricas en citosinas y guaninas y se localizan en los promotores de los genes o cerca de ellos. El grupo metilo en 5 de las citosinas ocupa el surco mayor de ADN. Esta metilación desempeña un papel muy importante en la transcripción de genes. Si las islas CpG no se encuentran metiladas, se

permitirá la transcripción activa de los genes (Figura 1.A). Por el contrario, si las islas CpG son metiladas, estos grupos metilo impiden la transcripción de los genes, lo cual puede traer numerosas consecuencias (Figura 1.B) (2).

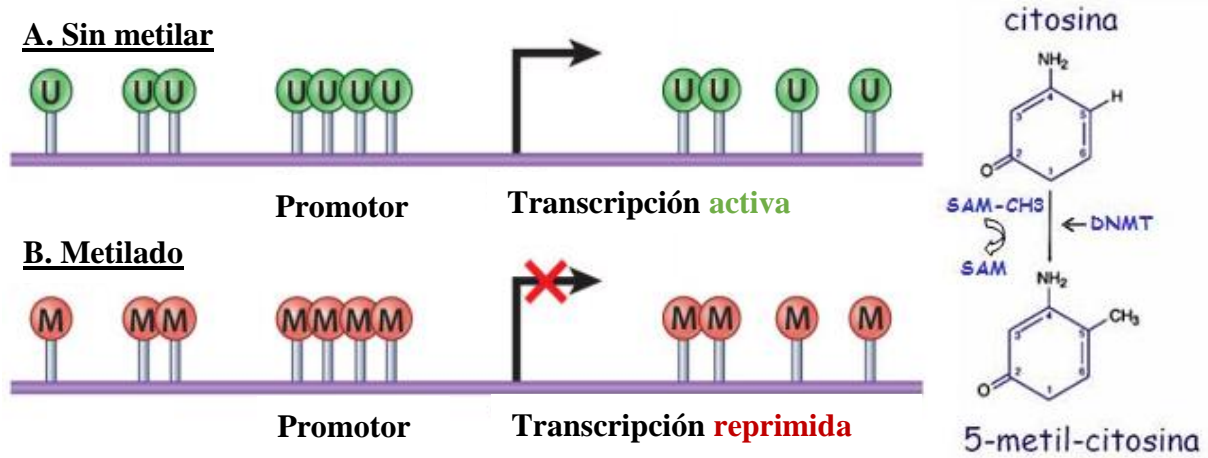


Figura 1. Regulación de la expresión génica mediante la metilación del ADN. (A) ADN sin metilar. (B) ADN metilado. Adaptado de (5,6).

Esta represión de la transcripción por la metilación del ADN tiene lugar por 3 mecanismos diferentes:

- La metilación de las secuencias promotoras impide la unión de factores de transcripción y otras proteínas necesarias para que tenga lugar la transcripción. (Figura 2.B).
- La metilación cerca de los promotores de los genes, es reconocida por proteínas (como MeCP1 y MeCP2) y se unen al ADN metilado evitando la transcripción (impidiendo la unión de los factores de transcripción o bloqueando el avance de la polimerasa). (Figura 2.C y 2.D respectivamente).
- Además, proteínas como MeCP2 atraen a moléculas correpresoras las cuales pueden reprimir el inicio de la transcripción mediante el reclutamiento de enzimas histonas desacetilasas. Estas enzimas retiran los grupos acetilo de los aminoácidos de lisina de las histonas, de este modo la cromatina se compacta y ya no es posible la transcripción de genes (2).

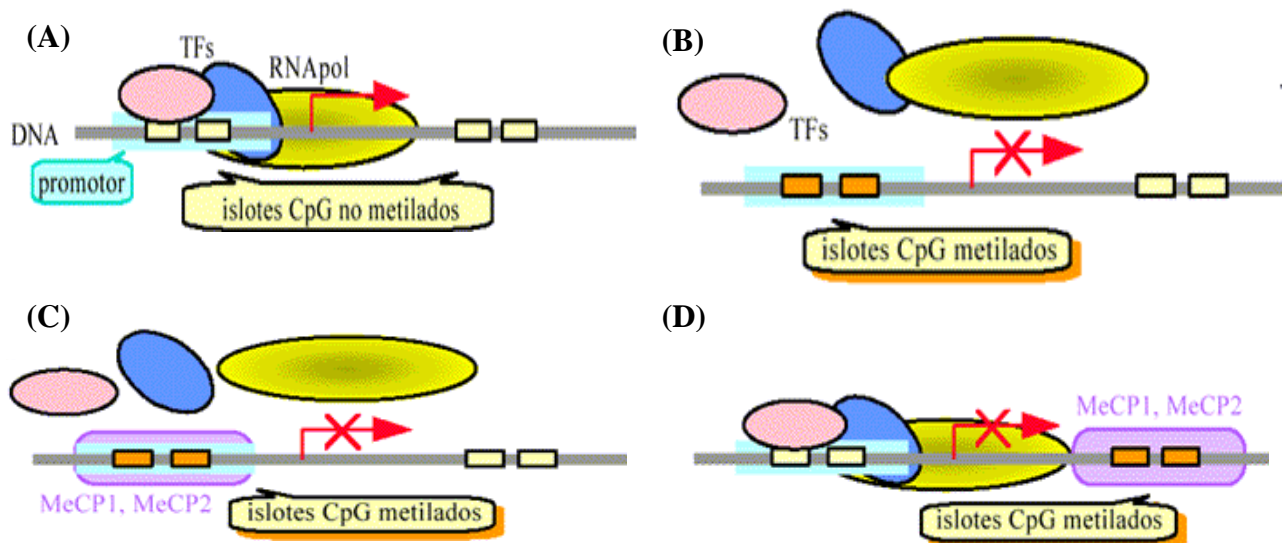


Figura 2. Represión de la transcripción por la metilación del ADN. (A) Situación normal con los islotes sin metilar. (B) Islotes metilados por lo que los factores de transcripción no se pueden unir. (C) Islotes metilados reconocidos por MeCP1 y MeCP2, lo cual evita la unión de los factores de transcripción. (D) Islotes metilados reconocidos por MeCP1 y MeCP2, por lo que se evita el avance de la polimerasa. Adaptado de (7).

Como ya he mencionado anteriormente, los cambios epigenéticos son heredables y se pueden transmitir a otras células e incluso a generaciones futuras. Esto se debe al mantenimiento de la metilación del ADN de forma estable después de producirse la replicación del material genético. Los dinucleótidos CpG están metilados en las citosinas de ambas cadenas y se ubican diagonalmente entre sí. A continuación comienza la replicación, el ADN se separa y se sintetizan nuevas cadenas de ADN complementarias pero sin grupos metilo. Por lo tanto, cuando finalice la replicación habrá dos nuevas moléculas de ADN, pero solo una de las hebras de cada molécula de ADN presentará los grupos metilo, es decir, el ADN estará hemimetilado. Por último, los grupos metilo que se mantienen en el ADN son capaces de atraer enzimas metiltransferasas, que adicionan grupos metilo a la cadena no metilada. De esta manera se obtienen dos moléculas de ADN completamente metiladas y se puede mantener el patrón de metilación del ADN a través de la división celular (2). La enzima DNMT1 es la encargada de catalizar la metilación cuando el ADN se encuentra hemimetilado. Por el contrario, DNMT3A y DNMT3B pueden metilar los dinucleótidos CpG aunque la hebra complementaria no esté metilada, es decir, son metiltransferasas de novo (8).

- Un claro ejemplo en el que la metilación del ADN está relacionado con distintas patologías es la vía *p16*-ciclina D1-CDK4-Retinoblastoma (Rb) y su relación con el cáncer de pulmón. En el 10-40% de los cánceres no microcíticos de pulmón existen mutaciones en *p16*, concretamente el 30-70% se debe a la metilación del promotor lo cual produce la ausencia de la expresión de *p16*. La proteína *p16* es una proteína supresora de tumores, por lo que su ausencia ya no inhibe la cascada de señalización *p16*-ciclina D1-CDK4-Rb. Rb se desactiva al ser fosforilada, esto permite el tránsito a la fase S del ciclo celular y comienza la proliferación descontrolada de las células y en última instancia el desarrollo del tumor (1,9).

Modificación de histonas.

Otro mecanismo epigenético que es importante destacar consiste en la modificación de histonas. Las histonas son proteínas (H3, H4, H2A, H2B), que forman un octámero y cuyo alrededor se sitúa el ADN espiralizado. Esta combinación de octámero y ADN se denomina nucleosoma, y estos nucleosomas se compactan para finalmente dar lugar a la cromatina. Las histonas poseen cadenas que sobresalen de la estructura, ricas en aminoácidos de lisina y arginina, y sobre las cuales se producen las modificaciones oportunas (10).

Estas modificaciones consisten en la acetilación, metilación, fosforilación, ubiquinización, ribosilación, citrulinación y sumoilación de histonas. Son modificaciones covalentes, concretamente en secuencias aminoacídicas conservadas en las colas de la región N-terminal de las histonas. La adición de los distintos grupos químicos a las histonas, mayoritariamente a residuos de lisina pero también de serina y arginina, se lleva a cabo por distintas enzimas, entre las cuales destacan las histonas acetiltransferasas (HAT) (1,2,4). Cuando una HAT actúa, añade un grupo acetilo a las lisinas que se encuentran en las colas de las histonas. A continuación, estas histonas acetiladas desestabilizan la estructura de la cromatina lo cual permite que adquiera una configuración más abierta y no tan compacta, permitiendo de esta manera la

transcripción de los distintos genes. Los grupos acetilo neutralizan las cargas positivas de las histonas, por lo que se reduce la afinidad con las cargas negativas de los grupos fosfatos del ADN y la eucromatina (forma de la cromatina menos compacta) está preparada para ser transcrita (Figura 3.A) (10).

Sin embargo, el proceso anteriormente explicado es reversible, ya que las enzimas histona desacetiltransferasa (HDAC) pueden retirar estos grupos acetilo de los residuos de lisina. Sin estos grupos acetilo, las histonas vuelven a presentar una carga positiva debido a los grupos amino de sus aminoácidos y de esta manera se afianza la interacción con el ADN. Finalmente la cromatina presenta una forma más compacta, denominada heterocromatina, y como resultado tiene lugar el silenciamiento de los genes (Figura 3.B) (10).

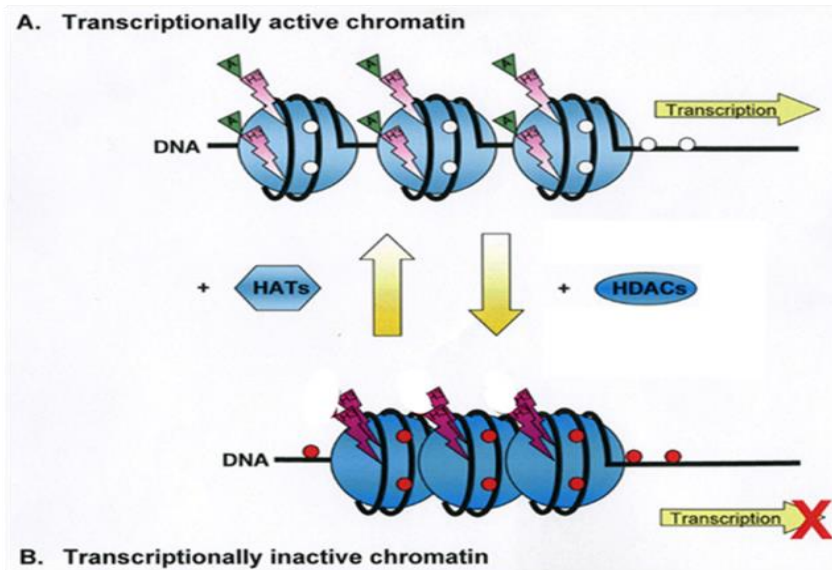


Figura 3. Regulación de la estructura de la cromatina mediante enzimas HAT e HDAC. Adaptado de (11).

Esta modificación de las histonas mediante la adición de grupos acetilo es solo una de las muchas modificaciones que pueden sufrir. También es muy frecuente la adición de grupos metilo mediante DNMT pero el resultado varía según el aminoácido específico que es metilado. Por ejemplo, la adición de 3 grupos metilo a la lisina 4 de la histona 3 permite la activación de la transcripción. Por el contrario, la metilación de la lisina 9 en la histona 3 o de la lisina 20 en la histona 4 tiene como resultado el silenciamiento de la transcripción. Además, no solo las DNMT pueden añadir grupos metilo. Existe un grupo grande de proteínas que reprimen la transcripción al añadir 2 o 3 grupos metilo a la lisina 27 de la histona 3. Se trata de las proteínas del grupo polycomb, concretamente el complejo represor polycomb2 (1,2).

Como se puede comprobar, las histonas pueden ser modificadas de muchas maneras, y además estas modificaciones se localizan en muy diferentes sitios, incluso se conocen más de 100 modificaciones post-traduccionales diferentes de las histonas. Sin embargo, todas estas modificaciones aisladas no determinan por sí solas la actividad de transcripción de un gen. Se ha descubierto que la presencia combinada de diversas marcas epigenéticas es lo que de verdad determina si un gen se transcribe o no. Asimismo, las múltiples modificaciones de histonas pueden reclutar a otras enzimas y proteínas que alteran los aminoácidos de otras histonas distintas y así sucesivamente. Esto lo explica la hipótesis del código de las histonas (12).

Como se ha indicado anteriormente, se conoce el mecanismo por el cual se mantiene la metilación durante la replicación. Sin embargo, no se conoce muy bien cómo se mantienen las modificaciones de histonas a través de la división celular. Existen varias hipótesis sobre este tema. Se piensa que durante el proceso de replicación, las histonas de la hebra antigua se

distribuyen entre el ADN de la hebra nueva, manteniéndose las marcas epigenéticas que tenían previamente. A continuación, se unen las histonas nuevas para así completar el octámero de histonas en las nuevas moléculas de ADN. Puesto que se piensa que las marcas epigenéticas de las histonas antiguas se mantienen, estas marcas atraen enzimas que permiten añadir los cambios necesarios a las nuevas histonas. Sin embargo, los detalles de este mecanismo todavía no se conocen con claridad por lo que se espera que con el tiempo se pueda explicar en más profundidad (2).

- Un ejemplo de cómo modificaciones en histonas pueden producir una patología es el Síndrome de Rubinstein–Taybi. Este síndrome está causado por mutaciones en el gen que codifica a la proteína CBP y por mutaciones en *EP300*, gen que codifica a la proteína p300. Ambas proteínas presentan actividad histona acetiltransferasa y son necesarias para el normal funcionamiento del organismo. Por lo tanto, dichas mutaciones impiden que las proteínas CBP y p300 puedan acetilar las histonas y en consecuencia la cromatina presentará una configuración cerrada favoreciendo el silenciamiento de muchos genes. Como resultado, las personas con esta mutación tienen discapacidad intelectual, los pulgares y dedos de los pies anchos, anomalías faciales, defectos cardíacos congénitos y un aumento en el riesgo de formación de tumores (13,14).

ARN no codificante.

El tercer y último mecanismo epigenético está mediado por moléculas de ARN no codificante, es decir, ARN que no codifica para ninguna proteína (15). La información que se tiene sobre este proceso es más escasa que la de los anteriores mecanismos puesto que fue el último en descubrirse. El ARN no codificante se divide en ARN largo no codificante, formado por más de 200 nucleótidos (16), y ARN pequeño no codificante, con unos 17-25 nucleótidos en su estructura (4). A su vez, el ARN pequeño no codificante se puede diferenciar en ARN pequeño nucleolar, ARN pequeño de doble cadena, microARN (miARN) y ARN corto de interferencia (siARN), siendo estos dos últimos los más importantes (13). El miARN y siARN tienen características fisicoquímicas en común pero también diferencias que se resumen en la siguiente tabla (Tabla 1) (15).

	<i>siARN</i>	<i>miARN</i>
Antes del procesamiento por la Ribonucleasa III, denominada Dicer	ARN de doble cadena que contiene desde 30 a más de 100 nucleótidos	Precursor de miARN (pre-miARN), formado en el núcleo, que contiene 70-100 nucleótidos con desajustes intercalados y una estructura de horquilla
Estructura	ARN de doble cadena con 21-23 nucleótidos y 2 nucleótidos que sobresalen en el extremo 3'	ARN de doble cadena con 19-25 nucleótidos y 2 nucleótidos que sobresalen en el extremo 3'
Complementariedad	Completamente complementario al ARNm	Parcialmente complementario al ARNm, dirigido a la región de 3' sin traducir del ARNm
ARNm diana	Solo 1	Múltiples, puede cubrir más de 100 al mismo tiempo

Tabla 1. Comparación de las propiedades generales entre *siARN* y *miARN*. Adaptado de (15).

Estos ARN pueden actuar de diferentes maneras. El siARN se une a complejos proteicos dando lugar a complejos de silenciamiento (*RNA-Induced Silencing Complexes*), conocido como RISC. A continuación, secuencias de ARNm se unen a secuencias complementarias al siARN que forma esos complejos de silenciamiento. En el caso de que el ARNm sea complementario a ese siARN, entonces el ARNm es acortado y se destruye, silenciando de forma efectiva el gen (Figura 4). Si por el contrario, el siARN no es perfectamente complementario a ese fragmento de ARNm tiene lugar una sub-regulación de la expresión génica (1,2).



Figura 4. Formación de los complejos RISC al unirse a miARN y siARN y el posterior silenciamiento de genes. Adaptado de (15).

También puede ocurrir que el siARN se una a complejos proteicos, pero en este caso se forman complejos de silenciamiento transcripcional (*RNA-Induced Transcriptional Silencing*), conocido como RITS. Estos complejos RITS permiten la formación de heterocromatina facultativa, cromatina muy compacta que impide la transcripción de los genes (1,2).

Otro mecanismo por el cual actúan los siARN consiste en la unión de estos a regiones promotoras complementarias del ADN. Esto provoca el bloqueo del ensamblaje del complejo de preiniciación de la transcripción, impidiendo la unión de factores de transcripción como TFIIB y de la ARN polimerasa (1,2).

Otro tipo de ARN no codificante muy importante son los miARN. Estos pueden regular la función de hasta 200 ARNm e incluso pueden intervenir en la expresión del 60% de los genes que codifican para proteínas (4). Los miARN pueden alterar la estabilidad del ARNm o incluso provocar su destrucción con el consiguiente resultado de inhibición de la traducción (Figura 4). Además, es capaz de interactuar con el ADN, pudiendo inhibir la transcripción, debido a la complementariedad de bases, y con numerosas proteínas entre las cuales destacan enzimas modificadoras de histonas y componentes de complejos de remodelación (8).

Desafortunadamente, se tiene poca información sobre la manera en la que estos cambios epigenéticos se mantienen a lo largo de las sucesivas divisiones celulares. Se piensa que pueden estar involucrados algunos ARN pequeños que se transmiten mediante el citoplasma (2).

- Un ejemplo en el cual interviene el ARN no codificante es en la desactivación del cromosoma X. Un hombre tiene dos cromosomas sexuales, un cromosoma X y un cromosoma Y, mientras que la mujer tiene dos cromosomas X. Sin embargo, en las mujeres se produce el fenómeno de desactivación de un cromosoma X. Esto ocurre porque debe haber igual expresión de genes ligados al cromosoma X en hombres y mujeres. Los principales genes involucrados en esta desactivación son los genes *Xist*, *Tsix*, *Jpx* y *Xite*, que se sitúan en el centro de desactivación de X. *Xist* codifica para un ARN largo no codificante (ARNlnc) de 17000 pares de bases de longitud. Este recubre al cromosoma X y atrae al complejo represor polycomb 1 y 2. Estas proteínas se encargan de la trimetilación de la lisina 27 en la histona 3, lo cual reprime la transcripción y se induce el silenciamiento del cromosoma X. Por el contrario, el gen *Tsix* codifica un ARNlnc que reprime la expresión de *Xist* en el cromosoma X que permanece activo. Asimismo, el gen *Jpx* codifica otro ARNlnc que estimula la transcripción de *Xist* en el cromosoma X inactivo, y el gen *Xite* codifica otro ARNlnc que mantiene la expresión de *Tsix* en el cromosoma X activo (Figura 5) (2).

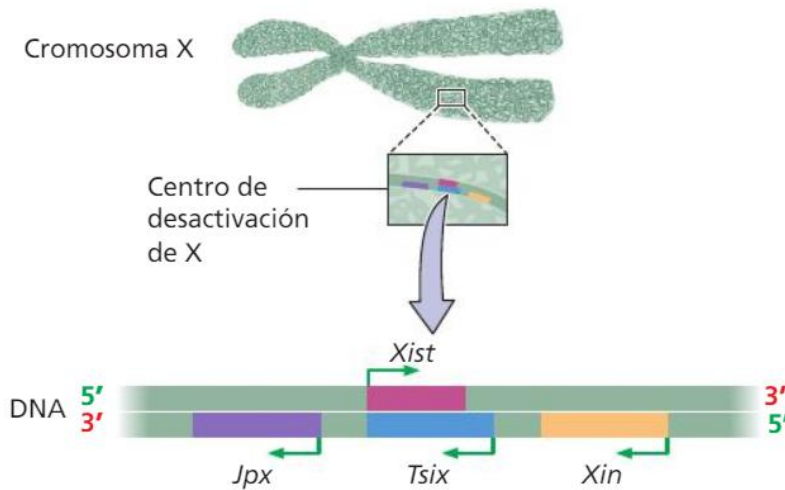


Figura 5. Genes que regulan la desactivación del cromosoma X. Adaptado de (2).

5.2. Impronta genómica.

Cada gen está representado por dos alelos, uno de la madre y otro del padre. La mayoría de los genes se expresan en ambos alelos, sin embargo un pequeño porcentaje de genes es expresado únicamente por el alelo paterno o por el alelo materno. Estos genes se conocen como genes impresos. Un ejemplo, es el gen que codifica el factor de crecimiento similar a la insulina (*Igf2*), que solo es expresado por el alelo paterno (1,17). Por lo tanto, la impronta genómica se puede definir como un fenómeno epigenético mediante el cual se expresa selectivamente un gen según el sexo del progenitor que lo transmite (8,17).

De los tres mecanismos epigenéticos explicados anteriormente, la metilación es el más común en la impronta genómica. La metilación diferencial normalmente ocurre durante la embriogénesis y el desarrollo, y estas regiones modificadas epigenéticamente y contiguas a los genes se denominan regiones de control de impronta (ICR). Además la mayoría de los genes con impronta genómica se encuentran adyacente, y agrupados en 3-12 unidades en una región delimitada del cromosoma. Por otro lado, cabe destacar que la mayoría de genes impresos identificados codifican para factores de crecimiento u otros genes que regulan el crecimiento. Por lo general, los genes impresos expresados en el alelo materno suprimen el crecimiento, mientras que los genes impresos del alelo paterno potencian el crecimiento (1,2).

Existen dos mecanismos regulatorios de la impronta genómica.

- El primero es el modelo en el cual se utiliza ARNlnc. Un ejemplo de este tipo es el locus *KCNQ1*, que codifica el ARNlnc de expresión paterna, *Kcnq1ot1*. En este caso, el ICR (designado IC2 en el humano) incluye un promotor de metilación diferencial que regula la expresión del ARNlnc (*Kcnq1ot1*). Cuando IC2 no está metido, el ARNlnc se expresa y reprime los genes *CDKN1C* y *KCNQ1*. En cambio, cuando IC2 está metilado, el ARNlnc se reprime y se expresan los genes mencionados. Sin embargo, no está claro cómo el ARNlnc silencia dichos genes (Figura 6.A) (17).
- Otro mecanismo de impresión más común utiliza un aislante denominado CTCF y que se emplea en los genes impresos *H19/Igf2*. El gen *H19* solo es expresado por el alelo materno mientras que el gen *Igf2* lo expresa el alelo paterno. En el alelo materno, CTCF se une a 7 sitios de unión dentro del ICR (denominado IC1), actuando como aislante lo cual impide que *Igf2* acceda a los potenciadores compartidos que se encuentran en el lado *H19* del aislante. En el cromosoma paterno, la metilación en IC1 evita que la CTCF se una, permitiendo a *Igf2* acceder a los potenciadores situados en el lado de *H19*. Además la metilación del ADN silencia el promotor *H19* en el alelo paterno (Figura 6.B) (17).

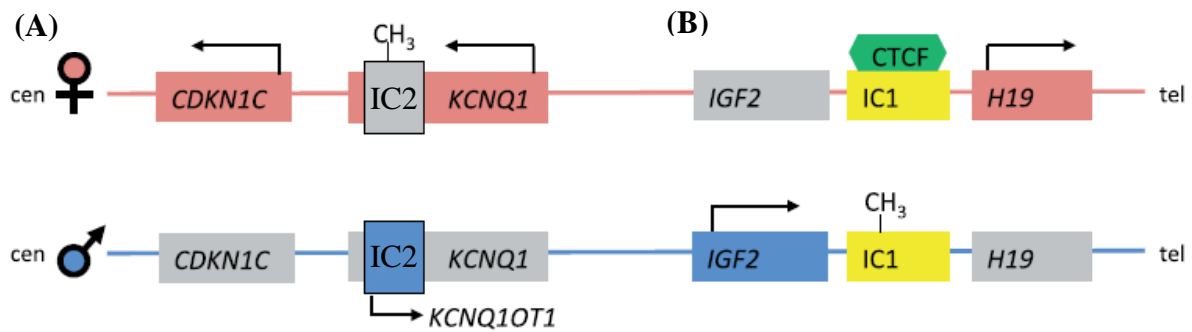


Figura 6. Mecanismos regulatorios de la impronta genómica. (A) Modelo de regulación mediado por un ARNlnc. (B) Modelo de regulación que emplea un aislante denominado CTCF. Adaptado de (1,17).

Defectos en la impronta genómica tienen como resultado diversas patologías como por ejemplo la osteodistrofia hereditaria de Albright, el Síndrome de Angelman, el Síndrome de Beckwith-Wiedemann, el Síndrome de Prader-Willi, el Síndrome de Silver-Russell y la Disomía uniparental 14. De entre todos ellos, el Síndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS) es el trastorno más común ligado a la impronta genómica. Son muchos los mecanismos por los cuales se desencadena este síndrome pero destaca uno de ellos. La región de control de la impronta (ICR) denominada IC1 es metilada en el alelo materno, lo cual impide la unión del aislante CTCF y esto lleva a una sobreexpresión del factor de crecimiento *Igf2* y a la represión del gen *H19*. En condiciones normales *H19* codifica un ARNlnc y un miARN implicados en la supresión del crecimiento. Por lo tanto, la expresión de *Igf2* tanto en el alelo materno como paterno, y la represión de *H19* producen un sobrecrecimiento fetal y extraembrionario, incluyendo macrosomía, macroglosía, visceromegalia, placentomegalia y aumento de la incidencia de tumores embrionarios (Figura 7) (1,17).

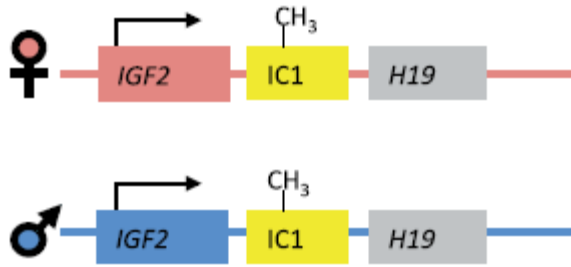


Figura 7. Mecanismo epigenético del Síndrome de Beckwith-Wiedemann. Adaptado de (1,17).

5.3. Detección de las marcas epigenéticas.

Para poder determinar la repercusión de las modificaciones epigenéticas, es esencial poder detectarlas y saber en qué posición se encuentran. Las técnicas más utilizadas hoy en día son 4: 1) conversión con bisulfito de las bases de citosina a uracilo, 2) el empleo de enzimas de restricción específicas, 3) inmunoprecipitación de la cromatina y 4) la secuenciación por nanoporos (18).

La conversión de residuos de citosina en uracilo mediante bisulfito es la técnica más empleada y eficiente. El proceso consiste en la adición de bisulfito sódico a una muestra de ADN genómico. El bisulfito convierte químicamente la citosina no metilada en uracilo, sin embargo la metilación de la citosina evita que el bisulfito la convierta en uracilo. A continuación, la PCR amplifica y secuencia las cadenas de ADN, los uracilos serán secuenciados como timinas y las citosinas metiladas como citosinas. Finalmente, si comparamos la secuenciación del ADN tratado con bisulfito y sin él, podremos localizar todas las moléculas de 5-metilcitosina en el ADN. El problema de esta técnica es que la secuenciación del genoma completo de una célula es un proceso largo y se requiere secuenciar grandes cantidades de genoma para obtener unos datos fiables. Por ello se han desarrollado alternativas, que también emplean el bisulfito sódico pero de diferente manera. Destaca la técnica conocida como *BiSulfite Amplicon Sequencing (BSAS)*. El proceso es muy parecido al anterior, pero en lugar de secuenciar todo el genoma, se utilizan *primers* específicos de zonas concretas del genoma que se quieren amplificar y secuenciar, y de esta manera solo se secuencian las zonas que interesan (Figura 8) (18,19).



Figura 8. Detección de las marcas epigenéticas mediante *BiSulfite Amplicon Sequencing (BSAS)*. Adaptado de (17).

El segundo método utiliza enzimas de restricción. El ADN es extraído de las células y se somete a 4 reacciones de digestión. Una reacción que no utiliza enzimas, otra con enzimas sensibles a la metilación (que no corta una secuencia con 5-metilcitosina), otra con enzimas no sensibles a la metilación (que si corta en 5-metilcitosina) y la última con enzimas sensibles y no sensibles a la metilación. Una vez terminadas las reacciones, se lleva a cabo la qPCR en las 4 digestiones, y las diferencias en el ADN secuenciado permiten saber que lugares están metilados (20).

El tercer método consiste en la inmunoprecipitación de la cromatina. Las células son lisadas y los fragmentos de cromatina son aislados del núcleo mediante sonicación o digestión por nucleasas. A continuación, tiene lugar la inmunoprecipitación de los complejos ADN-histonas añadiendo anticuerpos específicos para una modificación específica en las histonas. Estos complejos precipitan y se separan de aquellos que no tienen modificación. Por último, se añaden enzimas que degradan las histonas y los fragmentos de ADN obtenidos se secuencian para saber dónde se encontraba la marca epigenética (21).

Y finalmente, el último método, que es el más novedoso a la vez que menos utilizado de los 4, es la secuenciación mediante nanoporos. Esta tecnología permite el análisis directo y en tiempo real de largos fragmentos de ADN. Funciona monitorizando los cambios en la corriente eléctrica a medida que los ácidos nucleicos pasan a través de un nanoporo. Estos cambios en la corriente son específicos según la molécula que atraviese el poro y la señal resultante proporcionará la secuencia específica de ADN (22).

5.4. Epigenética y cáncer.

La relación entre los cambios epigenéticos y el cáncer ha sido y sigue siendo un tema muy estudiado por los investigadores. En 1980 Fienberg y Vogelstein observaron por primera vez la relación entre la epigenética y el cáncer. Demostraron que las células del cáncer de colon presentaban una metilación global menor que las células normales de ese mismo tejido. Sin embargo, antes de este descubrimiento, se creía que el cáncer se originaba en una célula, la cual presentaba mutaciones dominantes y recesivas que le permitían escapar de los mecanismos de control del ciclo celular (1).

Actualmente, el cáncer se conoce como una enfermedad en la que están implicados tanto cambios genéticos como cambios epigenéticos. Estos descubrimientos abren la puerta al desarrollo de nuevas terapias, como la terapia epigenética y el empleo de nuevos biomarcadores útiles en la práctica clínica (1).

Metilación del ADN.

Tanto la hipometilación como la hipermetilación del ADN producen cambios en la expresión de genes asociados con el cáncer como los genes supresores de tumores, proto-oncogenes y genes implicados en diversas funciones celulares, incluyendo el ciclo celular, la diferenciación, la adhesión y la apoptosis.

La hipometilación del ADN contribuye al desarrollo del cáncer de diferentes maneras:

- Incrementa la inestabilidad cromosómica debido a la activación transcripcional de secuencias de ADN transponibles como secuencias LINE y SINE.
- También permitiendo la pérdida de la impronta genómica en muchos genes. Esta hipometilación puede causar el Síndrome de Beckwith-Wiedemann entre otros, como se ha explicado en el apartado 5.2.
- Favoreciendo la recombinación mitótica, produciendo deleciones y translocaciones y un incremento de las reorganizaciones cromosómicas y de los cambios en el número de cromosomas.
- La metilación en lugares donde era necesaria se elimina, por lo que ya no hay una inactivación de genes y comienza una transcripción no restringida. Se pueden expresar ciertos oncogenes (23).

Una hipometilación global del genoma se ha observado en múltiples tipos de cáncer como en el cáncer de colon, de mama, de pulmón, de riñón, de hígado y de vejiga (23).

Sin embargo, el mecanismo epigenético más comúnmente conocido por producir el desarrollo de neoplasias es la hipermetilación de ADN. En las islas CpG la hipermetilación desactiva genes importantes como lo son los genes supresores de tumores. Estos genes regulan la entrada de las células en el ciclo celular e inhiben la proliferación celular excesiva, lo que impide el desarrollo de tumores. Uno de los más importantes genes supresores de tumores es *p53*. La hipermetilación del promotor de este gen se ha visto en gliomas, cáncer de mama, suprarrenal, de cabeza y cuello, leucemia linfoblástica aguda y leucemia mieloide crónica (24). También, la metilación del promotor del gen supresor de tumores *BRCA1* está relacionado con cáncer de mama y ovario. Esta metilación se debe principalmente a la DNMT3B e impide que *BRCA1* realice sus funciones. Los procesos moleculares mediados por *BRCA1* son la reparación y resección del ADN, intervención en los puntos de control del ciclo celular, interacción con la ARN polimerasa II, activación transcripcional y duplicación del centrosoma. Por todo ello es un gen de vital importancia (25). Otros genes supresores de tumores también muy importantes son *p16*, *MLH1* y *VHL* (23).

Asimismo, mutaciones, deleciones o alteraciones en la expresión de los elementos que producen estas marcas epigenéticas también pueden provocar alteraciones en la expresión de los genes. Por ejemplo, se han observado mutaciones *missense* heterocigóticas en el residuo R882 dentro del dominio catalítico de la enzima DNMT3A, en leucemia mieloide aguda (26).

Los cambios epigenéticos en el ADN también se pueden utilizar como biomarcadores epigenéticos para la detección de cáncer, el pronóstico de tumores y la predicción de respuestas al tratamiento, un campo conocido como farmacoepigénica. Sin duda, la marca epigenética relacionada con la metilación y la detección del cáncer que tiene más probabilidades de éxito como biomarcador epigenético, es la hipermetilación del gen de la glutatión S-transferasa (*GSTP1*) en cáncer de próstata. *GSTP1* está hipermetilado en el 80-90% de los cánceres de próstata, y en menor porcentaje en cáncer de hígado, de pecho y de riñón. Además no se encuentra hipermetilado en las lesiones benignas de próstata, por lo tanto se puede utilizar para distinguir entre cáncer y lesiones benignas. Se puede detectar en fluidos biológicos y muestras de biopsia, por lo que también se podría emplear la orina en la práctica clínica (23,27).

También existe la posibilidad de utilizar el estado de metilación de las islas CpG para predecir la respuesta a la quimioterapia, analizando genes que codifican para enzimas que reparan el ADN. Por ejemplo, el gen *MLH1* en el tratamiento del cáncer de ovario con cisplatino, el gen *WRN* para el cáncer colorrectal utilizando irinotecan, la fijación del factor de crecimiento similar a la insulina proteína-3 para el cisplatino en tumores pulmonares y *BRCA1* para inhibidores de la ribosa polimerasa en el cáncer de mama (27).

Modificación de histonas.

Aunque la metilación del ADN es uno de los procesos más estudiados, especialmente la hipermetilación, la modificación de histonas también introduce cambios en el material genético que influyen en el desarrollo de neoplasias. Uno de los ejemplos más característicos es la reducción global de la trimetilación de la lisina 20 en la histona 4 y la desacetilación de la lisina 16 en la histona 4, junto con una hipometilación del ADN, en secuencias repetidas de muchos tumores primarios (27). Estos cambios en las histonas pueden ser inducidos por la hipermetilación de las islas CpG de promotores de genes supresores de tumores, es decir, que

las modificaciones en la metilación del ADN tienen como resultado modificaciones en las histonas (23).

Estos cambios en las histonas se deben a distintas enzimas. EZH2 es una histona metiltransferasa (HMT) específica de la lisina 27 en la histona 3, y está sobreexpresada en tumores sólidos de próstata, mama, colon, piel y pulmón. El incremento de la expresión endotelial de EZH2 promueve la angiogénesis silenciando el gen que codifica a la vasohibina-1, al menos en el cáncer de ovario. Además, descubrimientos recientes demuestran mutaciones en EZH2 que la inactivan en linfomas difusos y foliculares de células B grandes (27).

En el caso del gen supresor de tumores *p53*, las enzimas HAT e HDAC también pueden acetilar o desacetilar este gen por lo tanto *p53* es un importante regulador de la cromatina. Por ejemplo, la acetilación de la histona del promotor del *p21* está mediada por *p300:p53*. Además *p53* también puede desplazar la HDAC1 del promotor de *p21*. Incluso estudios in vitro de líneas celulares tumorales también han demostrado la interacción directa del *p53* con la maquinaria básica de la subunidad de transcripción de TFIID mientras regula los genes que se van a transcribir (24).

ARN no codificante.

El ARN no codificante es el último mecanismo epigenético descubierto hasta la fecha por lo que se sabe poco sobre él. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que miARN-25 y miARN-30d son capaces de suprimir la transcripción de *p53*.

Además, *p53* es un importante regulador de miARN-107, miARN-145, miARN-34, miARN-15a/16-1, miARN-194, miARN-195 y miARN-215, que, a su vez, regulan el ciclo celular y la proliferación en diferentes cánceres. Concretamente miARN-145 está involucrado en cánceres de próstata (24).

5.5. La influencia de los cambios epigenéticos en otras patologías.

A día de hoy existe mucha información acerca de la relación entre el cáncer y la epigenética. Sin embargo, los cambios epigenéticos no solo contribuyen al desarrollo del cáncer, también de muchas otras enfermedades.

Epigenética de la Diabetes Tipo 2.

Para determinar si la epigenética contribuye en la enfermedad, es esencial comparar un grupo de personas sanas con otro que presente dicha patología. Además es un muy importante estudiar si los cambios epigenéticos son la causa de la enfermedad o si son la consecuencia. Puesto que las marcas epigenéticas se presentan en células específicas, se deben analizar tejidos que sean importantes en cada enfermedad. En el caso de la diabetes se deberían analizar los islotes pancreáticos, el músculo esquelético, el tejido adiposo y el hígado (3).

Por ello, los primeros estudios epigenéticos en diabetes analizaron la metilación del ADN en genes implicados en la diabetes en el tejido de los islotes pancreáticos. Se analizaron los genes *INS* (que codifica para la insulina), *PDX1*, *PPARGC1A* (codifica para PGC1 α), y *GLP1R* (que codifica el receptor GLP-1), y comprobaron que el ADN estaba hipermetilado lo que significa una menor expresión de estos genes y como resultado final una menor o nula secreción de insulina. Por otro lado, los genes *CDKN1A*, *PDE7B* y *SEPT9* estaban sobreexpresados en las células β , debido a la hipometilación del ADN, lo cual tenía como resultado una disminución

de la glucosa y ya no se estimulaba la secreción de insulina. Además la sobreexpresión de *CDKN1A*, que codifica para un inhibidor de la progresión del ciclo celular a G1, produce una inhibición del crecimiento de las células β (3).

Sin embargo, el efecto de cada cambio epigenético en el cómputo global de la enfermedad es muy modesto. La diabetes es una enfermedad muy compleja, poligénica y con muchos factores desencadenantes por lo tanto es muy improbable que la metilación de unas pocas islas CpG produzca por si sola la enfermedad (3).

Epigenética y enfermedades autoinmunes.

Aunque las enfermedades autoinmunes sistémicas pueden presentar cualquiera de las marcas epigenéticas explicadas, la marca epigenética común en todas ellas es una hipometilación global de genes implicados en esta enfermedades. El lupus eritematoso sistémico es la enfermedad autoinmune más estudiada en relación con la epigenética. Las personas con lupus presentan neutrófilos y granulocitos totalmente hipometilados, al igual que muchos genes de linfocitos T. En la artritis reumatoide también se observa una hipometilación de los linfocitos T y B y en los fibroblastos sinoviales (16).

Por otro lado, la hipometilación de las células CD4+ en la esclerosis sistémica determina la sobreexpresión de varios genes relacionados con el progreso de la enfermedad, como *CD40L*, *CD11* y *CD70*. Por último, en el Síndrome de Sjögren encontraron que la sobreexpresión del gen coestimulador *CD70* en las células T CD4+, se debe a la hipometilación del promotor de *CD70* en estas personas (16). Estos cambios epigenéticos no son la causa determinante en estas enfermedades pero contribuyen a su desarrollo, al igual que los cambios resumidos en la siguiente tabla (Tabla 2).

<i>Enfermedad autoinmune</i>	<i>Metilación del ADN</i> (↓ <i>Hipometilación</i> , ↑ <i>Hipermetilación</i>)	<i>Modificaciones de histonas</i>	<i>miARN</i>
<i>Lupus eritematoso sistémico</i>	↓ <i>CD70</i> , ↓ <i>CD11a</i> , ↓ <i>CD40L</i> , ↓perforinas, ↓Células T, ↓ <i>IFN</i>	↑Metilación en H3, H4, ↑Acetilación en H3, H4	↑miR-21, ↑miR-148a
<i>Artritis reumatoide</i>	↓Células T, ↑Sinoviocitos	↑Acetilación en H3	↑miR-146a, relación fuerte entre muchos miARN y la metilación del ADN
<i>Esclerosis sistémica</i>	↓Células T, ↓Fibroblastos, ↑Genes de la cascada Wnt	Fibroblastos: ↓Acetilación en H3, H4	↑miR-29a, ↑miR-196a
<i>Síndrome de Sjögren</i>	↓ <i>IFN</i> tipo 1, ↓Células T	No se han realizado estos análisis	↑miR-146a

Tabla 2. Cambios epigenéticos en enfermedades autoinmunes sistémicas. Adaptado de (16).

Epigenética y enfermedades neurodegenerativas.

Está ampliamente aceptado que para el normal funcionamiento y desarrollo del cerebro es necesario la normal metilación del ADN y modificaciones en histonas, puesto que su desregulación puede resultar en la aparición de distintas enfermedades neurodegenerativas (4).

Por ejemplo, en el caso del Alzheimer, se ha observado una reducción de SAM (mayor del 85%), de su metabolito desmetilado SAH, de folato y de vitaminas B12 y B6, necesarias para mantener los niveles de SAM. Debido a esta disminución de SAM, ya no se encuentra disponible el grupo metilo y se observa una hipometilación global de las islas CpG. Esta hipometilación del ADN también se observa en la enfermedad de Parkinson debido a que la α -sinucleína se puede asociar a la DNMT1 y secuestrarla hacia el citoplasma, bloqueando su acción. Sin embargo, en la enfermedad de Huntington se ha observado la hipermetilación de regiones promotoras de genes de importancia en la neurogénesis (28).

También, diversos estudios han demostrado cambios en las histonas en todas estas enfermedades. En el Alzheimer se ha observado la acetilación global de histonas en el lóbulo temporal, pero también cambios en sitios específicos como el incremento de acetilación de la histona 3 en la región promotora del gen *BACE1*. Por otro lado, la α -sinucleína se puede asociar a las histonas, reduciendo los niveles de acetilación en el Parkinson. Asimismo, la enfermedad de Huntington está asociada con histonas hipoacetiladas e hipermetiladas (28).

Al igual que en las enfermedades hasta ahora descritas, estos cambios epigenéticos puntuales no son los determinantes últimos de la enfermedad. Además puede ocurrir que cada enfermedad presente un patrón general de hipometilación, pero también puntos específicos de hipermetilación, acetilación de histonas o incluso la acción de ARN no codificante.

5.6. Terapia epigenética.

Entender los mecanismos epigenéticos que regulan los genes ha permitido el desarrollo de fármacos que modifican estas marcas epigenéticas. Sin embargo, el campo de la terapia epigenética todavía es muy reciente, y el primer fármaco epigenético aprobado fue en 2004. Los principales fármacos epigenéticos se dividen en dos grandes grupos: inhibidores de ADN metiltransferasas (iDNMT) e inhibidores de histonas desacetiltransferasas (iHDAC). Asimismo, actualmente se encuentran comercializados 7 fármacos que actúan sobre dichas dianas intracelulares, recogidos en la Tabla 3 (29).

Además nuevas moléculas se están estudiando y muchas se encuentran en distintas fases de ensayos clínicos como por ejemplo Mocetinostat, Rocilinostat y Resminostat, todos ellos iHDAC (30). Incluso se están llevando a cabo ensayos clínicos para demostrar la eficacia de la combinación de iDNMT e iHDAC, y de estos con otras terapias epigenéticas nuevas, la quimioterapia actual y casos concretos de terapia dirigida (31).

Sin embargo, el campo de la terapia epigenética todavía es un gran desconocido. Se espera que en los próximos años surjan nuevos medicamentos relacionados con los mecanismos epigenéticos, pero las opciones terapéuticas a día de hoy son relativamente escasas.

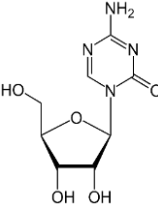
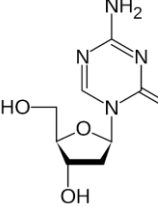
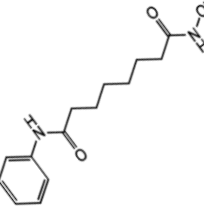
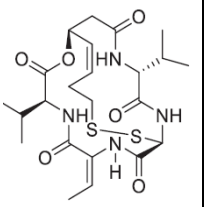
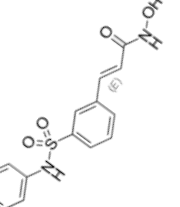
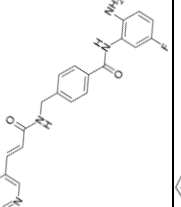
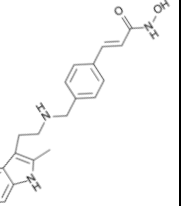
	INHIBIDORES DE ADN METILTRANSFERASAS		INHIBIDORES DE HISTONA DESACETILTRANSFERASA				
<i>Nombre del principio activo/Nombre comercial</i>	Azacitidina / Vidaza®	Decitabina / Dacogen®	Vorinostat / Zolinza®	Romidepsin / Chromadax®	Belinostat / Beleodaq®	Chidamide / Epidaza®	Panobinostat / Farydak®
<i>Grupo químico</i>	5-azacitidina	5-aza-2'-desoxicitidina	Ácido hidroxámico	Tetrapéptido cíclico. Precursor de tioles.	Ácido hidroxámico	Benzamida	Ácido hidroxámico
<i>Fecha de su aprobación</i>	Mayo 2004	Mayo 2006	Octubre 2006	Noviembre 2009. Solo aprobado en EEUU.	Julio 2014	Diciembre 2014. Solo aprobado en China.	Febrero 2015
<i>Aplicación terapéutica</i>	Leucemia mieloide aguda y crónica y Síndromes mielodisplásicos		Linfoma cutáneo de células T	Linfoma cutáneo y periférico de células T	Linfoma periférico de células T		Mieloma múltiple
<i>Vía de administración</i>	Vía intravenosa		Vía oral	Vía intravenosa		Vía oral	
<i>Mecanismo de acción</i>	Inhibidores irreversibles suicidas de la DNMT1		Inhibidores de las enzimas HDACs I, II y IV. Actúan quelando al catión Zn ²⁺ de su sitio activo, lo cual impide la acción de la enzima				
<i>Molécula</i>							

Tabla 3. Resumen de los medicamentos epigenéticos aprobados (8), (16), (26), (30), (31), (32), (33).

6. CONCLUSIONES.

Generalmente, el origen de las enfermedades que padece el ser humano se ha asociado con mutaciones de determinados genes, es decir, con alteraciones en la secuencia del ADN. Sin embargo, en la década de los 40 Waddington comenzó el estudio de la epigenética lo que supuso un cambio de paradigma.

1. Waddington permitió comprender que las distintas patologías humanas también se podían producir por modificaciones en los genes no debidas a alteraciones en la secuencia del ADN. Estas modificaciones son heredables, reversibles y específicas de cada tipo de célula.
2. Todavía no se sabe cómo funciona exactamente el mecanismo mediante el cual se mantienen estos cambios durante la replicación del ADN, especialmente en la modificación de histonas y el ARN no codificante.
3. Es importante ampliar la información sobre los mecanismos epigenéticos para poder entender cómo se interrelacionan y regulan entre ellos.
4. La actividad de un gen está determinada por múltiples marcas epigenéticas, no solo por la presencia de una de ellas, por ello es vital conocer el mayor número posible de modificaciones epigenéticas.
5. La detección de estas marcas se puede realizar de varias maneras, desde la más clásica que utiliza bisulfito sódico, hasta la más novedosa que emplea un dispositivo basado en nanoporos. Con el paso del tiempo, estas técnicas más novedosas se podrán utilizar de una manera más generalizada y así poder avanzar rápidamente en el campo de la epigenética.
6. Hoy en día, muchas investigaciones tratan de averiguar como el medio ambiente, la dieta y múltiples factores externos al individuo pueden producir estos cambios epigenéticos. Todavía no se tienen resultados que permitan establecer una relación clara y directa, pero el avance de estos estudios permitirá resolver todas las dudas.
7. Una sola marca epigenética o incluso un grupo de estas no son determinantes para el desarrollo de una enfermedad. La mayoría de las enfermedades, y especialmente aquellas que han sido mencionadas en este trabajo son muy complejas, se producen por alteraciones en multitud de genes y están implicados muchos factores desencadenantes, por ello es difícil establecer una relación directa entre una determinada marca epigenética y una enfermedad.
8. En algunos casos no se sabe si estos cambios epigenéticos son el origen de la enfermedad o el resultado de la misma.
9. Es importante que las futuras investigaciones analicen tejidos específicos relacionados con cada enfermedad, además de genes relevantes que tengan conexión con la patología a estudio.
10. Ha comenzado el desarrollo de la terapia epigenética. No obstante, el primer fármaco epigenético aprobado fue en 2004, y hasta la fecha únicamente encontramos en el mercado un total de 7 medicamentos epigenéticos. Se han hecho avances, pero es primordial continuar investigando para poder disponer en un futuro de una mayor variedad de estos medicamentos.
11. El desarrollo de biomarcadores epigenéticos efectivos podrá utilizarse en un futuro en la práctica clínica. Esto permitirá diferenciar entre lesiones benignas y malignas de una manera rápida, eficaz y poco invasiva.

Como se ha podido comprobar, aunque la epigenética es una ciencia relativamente nueva, tiene infinidad de aplicaciones que podrán ayudar a la mejora de la salud de las personas. Sin embargo se debe seguir avanzando para poder comprender por completo estos mecanismos epigenéticos, la forma de detectarlos tanto a nivel de laboratorio como en la práctica clínica y por supuesto el desarrollo de un mayor número de fármacos epigenéticos.

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. Klug W, Cummings M, Spencer C, Palladino M. Conceptos de genética. Madrid: Pearson Educación; 2013.
2. Pierce B. Genética: un enfoque conceptual. 5th ed. Editorial Médica Panamericana
3. Ling C, Rönn T. Epigenetics in Human Obesity and Type 2 Diabetes. *Cell Metab.* 2019;29(5):1028–44.
4. Moosavi A, Ardekani AM. Role of epigenetics in biology and human diseases. *Iran Biomed J.* 2016;20(5):246–58.
5. Ahuja N, Sharma A, Baylin S. Epigenetic Therapeutics: A New Weapon in the War Against Cancer. *Annual Review of Medicine.* 2016;67(1):73-89.
6. Cecilia Rosales M. El metiloma de virus asociados a cancer (página 2) - Monografias.com [Internet]. Monografias.com. 2020 [cited 1 April 2020]. Available from: <https://www.monografias.com/trabajos-pdf/metiloma-virus-asociados-cancer/metiloma-virus-asociados-cancer2.shtml>
7. Luque Cabrera J, Herráez Sánchez A. Biología molecular e ingeniería genética. Madrid [etc]: Harcourt; 2006.
8. Franco Vera L. Enfermedades epigenéticas: desde el cáncer hasta la sordera. *Cienc Exact Fís Nat* [Internet]. 2009;103(1):79–96. Available from: <http://www.rac.es/ficheros/doc/00918.pdf>
9. Serrano PI. Carcinogénesis pulmonar. 2007;10(1):50–4.
10. Audia JE, Campbell RM. Histone modifications and cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016;8(4):1–31.
11. Escribir, borrar y leer epigenética - Naukas [Internet]. Naukas. 2020 [cited 15 April 2020]. Available from: <https://naukas.com/2016/06/24/escribir-borrar-y-leer-epigenetica/>
12. Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science* (80-). 2001;293(5532):1074–80.
13. Zoghbi HY, Beaudet AL. Epigenetics and human disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016;8(2):1–28.
14. Kozus E. Rubinstein-Taybi Syndrome and Epigenetic Alterations. *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2017;;39-62.
15. Lam JKW, Chow MYT, Zhang Y, Leung SWS. siRNA versus miRNA as therapeutics for gene silencing. *Mol Ther - Nucleic Acids.* 2015;4(9):e252.
16. Mazzone R, Zwergel C, Artico M, Taurone S, Ralli M, Greco A, et al. The emerging role of epigenetics in human autoimmune disorders. *Clin Epigenetics.* 2019;11(1):1–15.
17. Kalish JM, Jiang C, Bartolomei MS. Epigenetics and imprinting in human disease. *Int J Dev Biol.* 2014;58(2–4):291–8.
18. Werner RJ, Kelly AD, Issa JPJ. Epigenetics and Precision Oncology. *Cancer J (United States).* 2017;23(5):262–9.
19. Masser DR, Hadad N, Porter H, Stout MB, Unnikrishnan A, Stanford DR, et al. Analysis

- of DNA modifications in aging research. *GeroScience*. 2018;40(1):11–29.
20. Zhao W, Ma N, Wang S, Mo Y, Zhang Z, Huang G, et al. RERG suppresses cell proliferation, migration and angiogenesis through ERK/NF- κ B signaling pathway in nasopharyngeal carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2017;36(1):1–15.
 21. Mundade R, Ozer HG, Wei H, Prabhu L, Lu T. Role of ChIP-seq in the discovery of transcription factor binding sites, differential gene regulation mechanism, epigenetic marks and beyond. *Cell Cycle*. 2014;13(18):2847–52.
 22. Feng Y, Zhang Y, Ying C, Wang D, Du C. Nanopore-based fourth-generation DNA sequencing technology. *Genomics, Proteomics Bioinforma* [Internet]. 2015;13(1):4–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gpb.2015.01.009>
 23. Esteller M. Epigenetics in Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2008;358(11):1148-1159.
 24. Verma M. Cancer epigenetics: Risk assessment, diagnosis, treatment, and prognosis. *Cancer Epigenetics Risk Assessment, Diagnosis, Treat Progn*. 2014;1238:1–799.
 25. Romagnolo A, Romagnolo D, Selmin O. BRCA1 as Target for Breast Cancer Prevention and Therapy. *Anticancer Agents Med Chem*. 2014;15(1):4–14.
 26. Aumann S, Abdel-Wahab O. Somatic alterations and dysregulation of epigenetic modifiers in cancers. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2014;455(1-2):24-34.
 27. Rodríguez-Paredes M, Esteller M. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology. *Nat Med*. 2011;17(3):330–9.
 28. Okugawa Y, Grady W, Goel A. Epigenetic Alterations in Colorectal Cancer: Emerging Biomarkers. *Gastroenterology*. 2015;149(5):1204-1225.e12.
 29. Meighan-Mantha R. Epigenetic Drugs in Oncology: Current Clinical Landscape and Emerging Trends. 2017; Available from: https://pharmaintelligence.informa.com/~media/informa-shop-window/pharma/images/epigenetic-report_1_lr-v1.pdf
 30. Eckschlager T, Plch J, Stiborova M, Hrabeta J. Histone deacetylase inhibitors as anticancer drugs. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7):1–25.
 31. Bewersdorf J, Shallis R, Stahl M, Zeidan A. Epigenetic therapy combinations in acute myeloid leukemia: what are the options?. *Therapeutic Advances in Hematology*. 2019;10:204062071881669.
 32. Mann BS, Johnson JR, He K, Sridhara R, Abraham S, Booth BP, et al. Vorinostat for treatment of cutaneous manifestations of advanced primary cutaneous T-cell lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2007;13(8):2318–22.
 33. Chan TS, Tse E, Kwong YL. Chidamide in the treatment of peripheral T-cell lymphoma. *Onco Targets Ther*. 2017;10:347–52.