

Epigenética en el asma. Lo esencial

Autor

Miguel Perpiñá Tordera

Servicio de Neumología. Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia, España

Correspondencia

Miguel Perpiñá Tordera

Hospital Universitario y Politécnico La Fe. Valencia

Av. de Fernando Abril Martorell, 106. 46026 Valencia, España

E-mail: perpina.tordera@gmail.com

Resumen

El asma es una entidad compleja, donde aparecen implicados genes y entorno, y en la que mecanismos epigenéticos pueden mediar parte de los efectos que ejercen los factores ambientales sobre la historia natural de dicha enfermedad. La epigenética describe los cambios en la expresión génica, heredables durante la mitosis y la meiosis, potencialmente reversibles y que no entrañan una corrección en la secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN). Incluyen, entre otros, la metilación o desmetilación del ADN, la acetilación o deacetilación de las histonas y los cambios inducidos por los micro-ARNs, que son una clase de ácido ribonucleico no codificante, evolutivamente conservados y de pequeño tamaño. La presente revisión focaliza sus comentarios en un aspecto muy concreto, pero de gran atractivo a la luz de las investigaciones relacionadas con el origen temprano de las enfermedades crónicas: el análisis de cómo determinadas circunstancias presentes en el hábitat que nos rodea (particularmente alérgenos, tabaco e ingesta de ácido fólico) modulan la activación de ciertos genes, favoreciendo así el desarrollo del proceso respiratorio durante las primeras etapas de la vida. No obstante, y a pesar de su relevancia teórica, la interpretación final de la información disponible resulta todavía equívoca, dado que no siempre es posible fijar si las alteraciones descritas son causa o consecuencia de la enfermedad en cuestión. En cualquier caso, el análisis de tales mecanismos constituye un campo de investigación novedoso, cuyos resultados a buen seguro incrementarán el conocimiento general acerca de las variaciones del epigenoma y, de cara a la práctica, serán susceptibles de ser utilizados en las estrategias terapéuticas relacionadas con esta patología y su prevención.

We simply do not have enough genes for this idea of biological determinism to be right.

CRAIG VENTER

Antes, los genes predeterminaban los resultados. Ahora, todo lo que hacemos —todo lo que comemos o fumamos— puede afectar nuestra expresión genética y la de generaciones futuras. La epigenética introduce el concepto del libre albedrío en la genética.

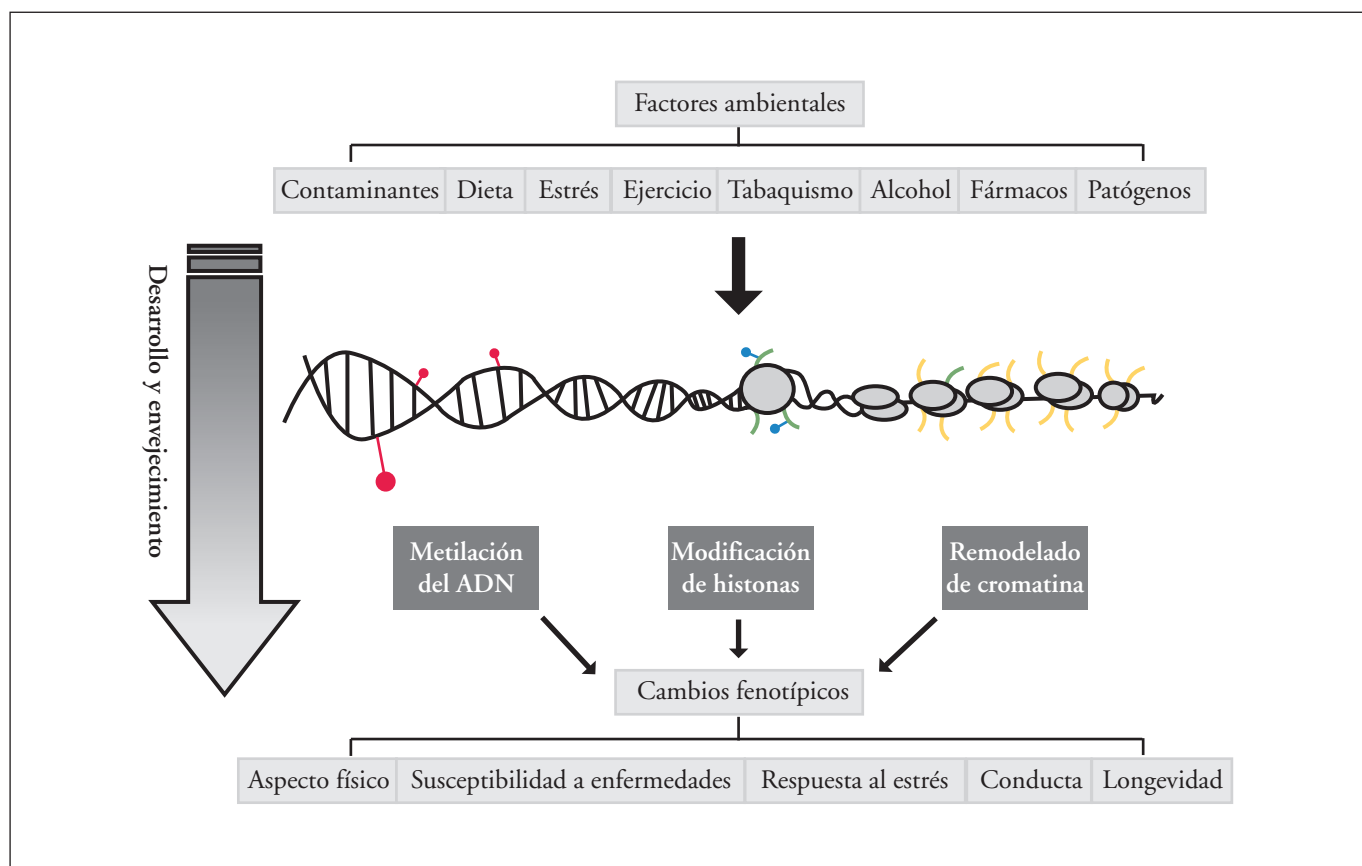
RANDY JIRTLE

Introducción

La discusión *nature/nurture* ('se nace o se hace') ha sido con certeza una de las controversias más notables de entre todas las que tuvieron lugar durante el siglo xx en el campo de la ciencia biomédica. La polémica quedó zanjada al comprender que genes y entorno, los dos, juegan un papel crucial, puesto que los rasgos y características observables del ser humano sano o enfermo (los fenotipos) surgen con la acción e interacción de ambos factores^{1,2}. Asumido el principio general, el debate, a grandes rasgos, pasa ahora por clarificar qué corresponde a quién, cuáles son las ventanas de oportunidad y cómo esas interacciones y sus magnitudes cambian a lo largo del tiempo. Pero el tema es, sin duda, bastante más poliédrico. Hasta no hace mucho el axioma imperante era que la mayor proporción de la variación heredable observada en la población se debía a mutaciones en la secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN) capaces de ocasionar modificaciones en la proteína emanada de dicha secuencia (para el caso de las regiones codificantes), y que de ese cambio se derivaba un efecto a nivel fenotípico, incluyendo la susceptibilidad a una cierta afección³. El Proyecto Genoma Humano fue, en parte, un esfuerzo por catalogar esta variación genética⁴. Pues bien, en la era postgenómica, la realidad de la epigenética ha matizado el

postulado clásico al constatar que variaciones del ADN que no implican la corrección de su secuencia de bases nucleotídicas: a) influyen *per se* en la función génica (es decir, en la determinación de dónde y cuándo ciertos genes deben o no activarse); y b) vehiculan el impacto del medioambiente y el estilo de vida sobre el comportamiento de los mismos (Figura 1)^{5,6}. Bajo ese marco de referencia, durante los últimos años se ha venido indagando las relaciones entre contexto, cambios epigenéticos y algunas de las enfermedades complejas frecuentes. El asma (o mejor, el síndrome asmático) es una de ellas⁷⁻⁹. Se trata de una entidad poligénica (22 de los 23 pares de cromosomas tienen genes o polimorfismos relacionados con asma y alergia), con alta heredabilidad (varía del 36% al 79%, según poblaciones) y condicionada, en buena medida, por sucesos ambientales capaces de influir en su aparición y delimitar la historia natural¹⁰⁻¹². Aquí, la participación de la epigenética comenzó a vislumbrarse a partir de los experimentos inhumohistológicos con biopsias y lavados broncoalveolares procedentes de asmáticos leves y moderados que mostraban un marcado aumento en la actividad de las acetiltransferasas de histona (HAT) y de la expresión de las enzimas acetiladoras CBP o proteína de unión al CREB (proteína de unión al elemento respondedor de AMP cíclico), junto a una disminución de las histonas de acetilasas (HDAC) 1-6¹³⁻¹⁴.

Figura 1. Los mecanismos epigenéticos median, en buena medida, la relación entre factores ambientales y los cambios fenotípicos que se producen a lo largo de toda la vida



A partir de esos trabajos iniciales, la literatura en torno al binomio epigenética y asma ha crecido de forma apreciable, abarcando diversas facetas: a) el estudio de los interruptores íntimos que modulan la expresión de los genes implicados en la respuesta inmune y el equilibrio Th1/Th2¹⁵; b) la caracterización de los fenotipos inflamatorios propios del asma¹⁶; c) el análisis de los efectos antiinflamatorios de los corticoides y otros fármacos¹⁷; d) la búsqueda de posibles biomarcadores indicativos de riesgo de enfermedad¹⁸⁻¹⁹; y e) la identificación de factores implicados en la hiperproliferación del músculo liso de la vía aérea²⁰. A título de ejemplo, la Tabla 1 muestra un catálogo parcial de genes implicados en el inicio y el mantenimiento del asma regulados epigenéticamente²¹.

La presente revisión centrará los comentarios en un aspecto muy central y de gran atractivo a la luz de las investigaciones sobre el origen temprano de las enfermedades crónicas (DOHaD, acrónimo de *Development Origins of Health and Disease*)²²⁻²⁴; la descripción de cómo determinadas coyunturas ambientales inducen la activación de procesos epigenéticos que favorecen ulteriormente el desarrollo de asma. Pero antes de entrar en materia, parece necesario repasar de forma escueta algunas ideas acerca de qué entendemos por *epigenética*.

Tabla 1. Genes relacionados con el asma y regulados por mecanismos epigenéticos

Gen*	Mecanismo de regulación epigenética	Relevancia para el asma
IL-4	Desmetilación de una secuencia intrónica que une a GATA-3	Aumento de la secreción de IL-4 en linfocitos Th
IL-4	Aumento de la acetilación en H3-K9 y trimetilación en H3-K4	Aumento del compromiso de linaje del precursor de las células Th a células Th2
IL-4	Desmetilación de la región de flanco 5' del promotor IL-4	Secreción aumentada y mantenida de IL-4 por células Th2
IL-4	Metilación en el 3' terminal del locus IL-4	Diferenciación de las Th en células Th2
IFNG	Metilación de una proteína activadora en el promotor proximal, determinando una menor unión de CREB y ATF2/c-Jun	Disminución de la expresión del gen y polarización hacia el fenotipo Th2
IL-13, IL-5 IFNG, CXCL10	Aumento de la acetilación de histonas Aumento de la acetilación de histonas	Aumento de la expresión de citocinas Th2 Inhibición de las respuestas Th1
FOXP3+	Inhibidores HDAC de clase 2	Aumento de la expresión de Foxp3 ⁺ y del efecto supresor de las células Treg sobre la respuesta Th2
HLA-G	miR-148a, miR-148b y miR-152	Polimorfismo de nucleótido único en la región 3' sin traducir del gen
IL-13	miR-21, miR-1	Sobreexpresado en ratones transgénicos IL-13
IL-12p35	miR-21	Reduce la expresión del gen en modelos murinos de vía aérea inflamada
TGFB	miR-146a	

*IL: interleucina; HDAC: histona deacetilasa; CREB: proteína de unión al elemento respondedor de AMP cíclico; ATF: factor activador de la transcripción; miR: micro-ARN.

Epigenética. Definición y conceptos generales

Aunque ya Aristóteles (384-322 a.C.) recurrió a una noción concreta de epigénesis (“el desarrollo de la forma orgánica del individuo a partir de materia amorfa”), el término fue acuñado en 1939 por Conrad H. Waddington para referirse a los “casual mechanisms by which the genes of the genotype bring about phenotype effect”²⁵. Con una mayor precisión, y lo avanzábamos líneas arriba, el concepto actualmente hace referencia “a los cambios en la función de los genes, heredables por mitosis y por meiosis, potencialmente reversibles, que no entrañan una rectificación en la secuencia del ADN”²⁶. En definitiva, se trata de un conjunto de mecanismos modificadores de cromosomas que cambian la plasticidad fenotípica de una célula u organismo²⁷. La regulación epigenética resulta crítica para generar la diversidad celular durante el desarrollo y, paralelamente, mantener la estabilidad e integridad de los perfiles de expresión de los diferentes tipos celulares. Un hepatocito humano contiene el mismo ADN que una célula cerebral, y aun así, de alguna manera sabe codificar únicamente aquellas proteínas necesarias para el funcionamiento del hígado. Esas instrucciones son encontradas no en las letras del ADN mismo, sino “encima de él”, en un abanico de marcadores y conmutadores químicos localizados a lo largo de la doble hélice. La *epigenómica* sería la parte de la genómica encargada del estudio de las marcas epigenéticas en una célula determinada.

Aclarado el paradigma, lo que interesa conocer es qué patrón de reacciones fisicoquímicas afecta al material hereditario e influye en la expresión de los genes sin alterar sus secuencias. Para ello, conviene considerar brevemente la conformación estructural del ADN en los cromosomas, ya que de la forma en que se encuentre empaquetada cada región de estas biomoléculas dependerá su funcionamiento.

Es bien sabido que el genoma de un individuo se ordena en cromosomas, los cuales contienen genes o unidades de herencia, formados a su vez por secuencias de la molécula que almacena y transmite la información genética: el ADN³. Este está constituido por dos cadenas enrolladas alrededor de sí mismas para formar una doble hélice, y cada cadena se encuentra compuesta por millones de bloques químicos nitrogenados llamados *bases*. El ADN solamente presenta cuatro bases diferentes, designadas por las letras A, T, G y C (por *adenina*, *timina*, *guanina* y *citocina*), cuyo orden secuencial determina el mensaje para un gen concreto. Estas bases nitrogenadas tienen la propiedad de poder emparejarse de manera que A se liga con T, mientras que C lo hace con G, no aceptando ninguna otra combinación³.

En las células eucariotas, la fibra de cromatina (la unidad estructural longitudinal de organización cromosómica) está compuesta al 50% por el ADN y unas pequeñas proteínas (11-12 kDa) denominadas *histonas*, de las que existen cinco clases. Las histonas son las proteínas celulares más abundantes, y la lisina y la arginina representan aproximadamente un 20% de sus aminoácidos. La observación de la cromatina interfásica mediante técnicas de microscopía electrónica revela una estructura construida por la repetición de una subunidad proteica esférica o

globular (los nucleosomas)³. Un nucleosoma típico se asocia a 200 pares de bases (pb) y está dotado de un núcleo formado por un octámero, creado mediante dos subunidades de las histonas H2A, H2B, H3 y H4 y sobre cuya superficie gira el ADN (140 pb) a modo de cuentas de un rosario, dando casi dos vueltas (una vuelta y tres cuartos)³. El resto del ADN (60 pb) forma parte del *linker*, que establece una especie de puente hacia el siguiente nucleosoma. A su vez, el *linker* está vinculado con otra histona, denominada H1. El ADN es un polianión, mientras que las histonas son proteínas básicas, por lo que la asociación del ADN alrededor de estas es de carácter iónico, sin que existan enlaces químicos entre ambas moléculas. La cromatina puede aparecer como heterocromatina o cromatina densa (inactiva desde el punto de vista transcripcional) o como eucromatina (cromatina abierta), capaz de ser transcrita³.

Así las cosas, tres son las principales herramientas epigenéticas descritas: la metilación del ADN, las modificaciones de las histonas y los micro-ARNs²⁷.

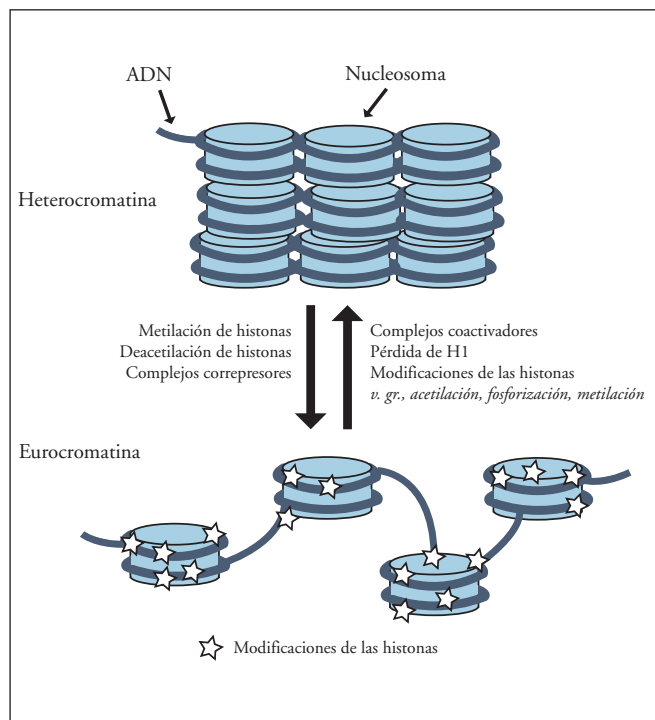
METILACIÓN DEL ADN

La metilación del ADN es la fluctuación epigenética mejor conocida y ocurre en todas las células eucariotas²⁸. Consiste en la adición de un grupo metilo en la posición C5 de las citosinas próximas a bases de guanina (las islas de dinucleótidos CpG), convirtiéndolas en una 5-metilcitosina²⁸. Esto se debe a la acción de unas enzimas denominadas *metiltransferasas del ADN* (DNMT). En el ser humano se han descrito cinco DNMT, implicadas en la metilación *de novo* o en el mantenimiento de la misma. Aunque la metilación no afecta a la estructura del ADN, el grupo metil sobresale del nucleótido al cual queda unido, provocando dos efectos principales: a) ocupa un espacio importante alrededor de la estructura tridimensional del ADN, impidiendo la unión de factores de transcripción implicados en la activación génica y la síntesis de las moléculas de ácido ribonucleico (ARN); y b) atrae proteínas con gran afinidad por grupos metilo y que están asociadas con la inactivación de genes y la compactación del ADN²⁹⁻³⁰. Las islas CpG aparecen distribuidas por todo el genoma, pero son especialmente frecuentes en las regiones promotoras³⁰.

MODIFICACIONES DE LAS HISTONAS

Las histonas pueden mostrar procesos de metilación, acetilación, fosforilación, ubiquitinación, sumoilación o ADP-ribosilación en sus extremos amino que sobresalen del nucleosoma, ricos en lisinas y argininas²⁸. El más importante es la acetilación/deacetilación, que es llevada a cabo por las enzimas HAT y HDAC, respectivamente. En líneas generales, cuando las histonas permanecen deacetiladas queda inhibida la transcripción, mientras que cuando están acetiladas, se favorece (Figura 2)²⁸. El conjunto de modificaciones postranscripcionales de las histonas se ha denominado *código de histonas* (por analogía con el código genético) y de él depende que la cromatina se encuentre abierta, y por tanto transcripcionalmente activa, o cerrada, y en consecuencia no accesible a la maquinaria de transcripción; en definitiva, que se puedan expresar o no los genes³¹⁻³².

Figura 2. La heterocromatina es la forma compactada ("cerrada") de la cromatina y se asocia con el silenciamiento génico. El paso de la cromatina a una conformación más "abierta" permite la expresión del gen y está regulada por modificaciones de las histonas debidas a complejos coactivadores específicos que contienen enzimas capaces de acetilar, fosforilar o metilar las colas de las histonas. Las modificaciones de la histona enlazante H1 y cambios en el estado de metilación del ADN son también importantes en este proceso. El fenómeno se revierte por complejos correpresores que incluyen, entre otros, la deacetilación de histonas.



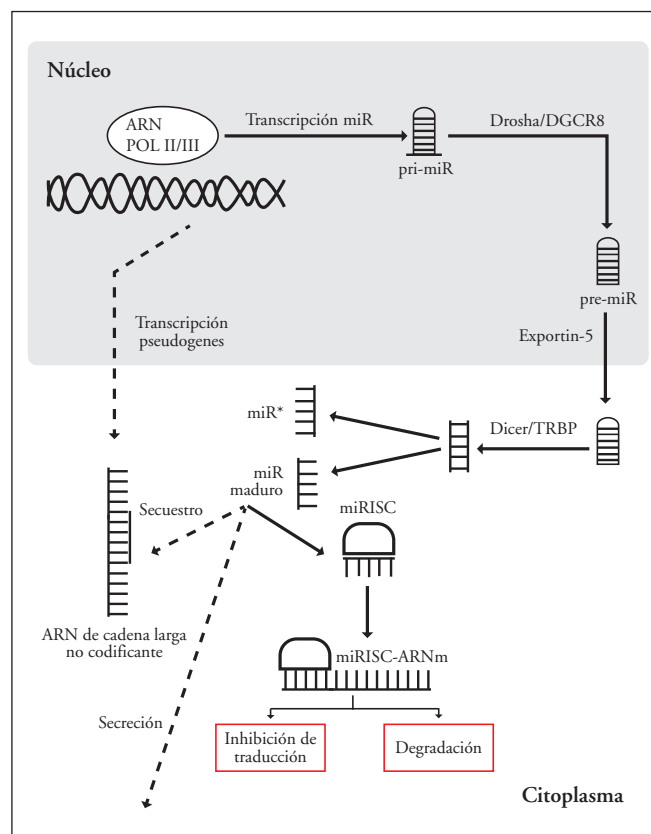
MICRO-ARNS (MIRS)

Los miRs son una clase de ARN no codificante, evolutivamente conservados y de pequeño tamaño, capaces de regular la expresión génica por distintos procedimientos³³. Los miRs pueden localizarse en intrones o exones de genes codificantes de proteínas o en sectores no codificantes del genoma. Una vez activada, la transcripción es llevada a cabo por la ARN polimerasa II o III, originando una estructura de ARN en forma de horquilla que constituye el transcrito primario del miR (pri-miR)³³. Dentro del núcleo, los extremos del pri-miR son cortados por el complejo Drosha/DGCR8, dando lugar al precursor del miR maduro (pre-miR), con un tamaño aproximado de 70-100 nucleótidos. Este es transportado activamente al citoplasma a través de Exportin-5, donde será procesado por el complejo Dicer/TRBP y originará una molécula de ARN de doble cadena de 19 a 25 nucleótidos de largo. Una de las cadenas constituye el miR maduro, mientras que su complementario (denominado *miR**) es generalmente degradado. El miR maduro es incorporado al complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC, sigla en inglés de *RNA induced silencing complex*), cuyos componentes más importantes son las proteínas de la familia argonauta³⁴. Los miRs son fundamentalmente represores de la expresión génica a nivel postranscripcional, mediante la degradación del ARN

mensajero (ARNm) o la inhibición de su traducción proteica³⁵. Una vez que el miR queda incorporado al RISC (miRISC), el complejo tiene la capacidad de reconocer al ARNm diana mediante la ilación entre regiones complementarias del miR y el ARNm (Figura 3). El grado de complementariedad entre ambos parece ser uno de los determinantes del método de represión que se pone en marcha: degradación del ARNm si la misma es casi perfecta, o inhibición de la traducción cuando la complementariedad es menor³³. Es relevante el hecho de que determinado ARNm puede ser diana de un gran número de miRs y que cada miR puede reprimir a decenas o centenares de genes. Además, existe evidencia que sugiere la posible transferencia de miRs de una célula a otra, generando un selecto sistema de correspondencia y regulación intercelular³⁶. La actividad de los miRs se encuentra ordenada mediante el control de su transcripción, de las diferentes etapas de biogénesis y, posteriormente, de la función del miRISC³⁷. Igualmente, se ha descrito la existencia de una compleja red de comunicación entre largas moléculas de ARN no codificante (producto de la transcripción de pseudogenes), miR y ARNm³⁸. Estas moléculas de ARN no codificante (de cientos a miles de nucleótidos) poseen sitios de unión para miRs específicos y se comportan como verdaderos "atrapadores" de miRs, impidiendo que los mismos repriman a sus ARNm diana.

Figura 3. Representación esquemática de las diferentes etapas implicadas en la biogénesis de los miRs y mecanismos de represión de la expresión génica: degradación del ARNm o inhibición de su traducción (véase texto).

Se muestra también la posible secreción de miRs, así como su interacción con moléculas de ARN no codificante de cadena larga



Asma: factores ambientales y modificaciones epigenéticas

La conjetura de que la interacción de factores genéticos y ambientales (*v. gr.*, dieta o actividad física de la madre) predisponen al surgimiento de enfermedades crónicas no comunicables (teoría DOHaD) emerge con los trabajos de David Barker al identificar una estrecha relación entre el peso al nacer (índice de nutrición fetal) y el riesgo de padecer trastornos cardiovasculares y metabólicos^{39,40}. Los resultados de Barker complementan en lo sustancial lo ya avanzado por la hipótesis del genotipo ahorrador⁴¹ y las conclusiones planteadas con los datos de la *dutch famine*^{42,43} o el estudio Överkalix⁴⁴.

¿Por qué incidentes ocurridos durante el desarrollo temprano generan impronta a largo plazo? Los investigadores piensan que los individuos en esa etapa exhiben una enorme adaptabilidad al medio ambiente, cuya máxima manifestación es la plasmación rápida de un organismo multicelular complejo a partir del genoma constituido en el momento de la fecundación⁴⁵. Esta plasticidad presenta una gran sensibilidad al entorno que, a corto plazo, define el desarrollo inmediato, y a medio/largo plazo

representa señales predictivas del escenario en el cual el sujeto vivirá⁴⁵. El organismo compondrá así un repertorio de respuestas a eventos probables a fin de ofrecer un mejor ajuste al hábitat (programación fetal), y cualquier circunstancia capaz de interferir en la comunicación correcta contexto-feto puede entonces conducir al establecimiento de un fenotipo no ajustado al nicho ecológico e incrementar con posterioridad el peligro de aparición de ciertas dolencias⁴⁵. El mecanismo subyacente son los cambios epigenéticos.

En el caso del asma (y la alergia) la atención se ha centrado sobre todo en alérgenos, microbios, tabaco, contaminantes atmosféricos, dieta (ácido fólico, vitamina B12, aceite de pescado y fibra), obesidad y estrés. La Tabla 2 recoge ejemplos de varias de las modificaciones epigenéticas relacionadas con la exposición a los mismos⁴⁶. Nosotros, por razones de espacio, analizaremos lo esencial de tres de ellos: alérgenos, tabaco y ácido fólico. No obstante, y a pesar de su potencial relevancia, la interpretación final de la información disponible resulta todavía equívoca, dado que no siempre es posible fijar si las alteraciones descritas son causa o consecuencia de la enfermedad¹⁹.

Tabla 2. Modificaciones epigenéticas mediadas por la exposición a factores medioambientales

Efactor	Cambio epigenético	Genes* (tipo celular)
Alérgenos	Deacetilación de histonas Acetilación de histonas	LAT (CD4 ⁺) PDE4E (linfocitos CD4 ⁺) ACLS3 (linfocitos CD4 ⁺)
Microbios / entorno de granjas	Metilación del ADN	RAD50 (CMSP) IL-13 (CMSP) IL-4 (CMSP) IFNG (CD4 ⁺)
Tabaco	Metilación del ADN Acetilación de histonas Deacetilación de histonas	GSTM1/GSTP (macrófagos) TNF (macrófagos)
Emisiones de diésel e hidrocarburos aromáticos policíclicos	Deacetilación de histonas Metilación del ADN	FOXP3 (macrófagos) IFNG (CD4 ⁺) FOXP3 (macrófagos) ACLS3 (CD4 ⁺)
Ácido fólico	Metilación del ADN Acetilación de histonas	ZPF57 (CD4 ⁺)
Aceite de pescado	Deacetilación de histonas	IL-6 (macrófagos) TNF (macrófagos)
Estilo de vida (obesidad)	Metilación del ADN	CCL5, IL-2RA y TBX21 (CMSP)
Estrés	Metilación del ADN	ADCYAP1R1 (CMSP)

*LAT: conector para la activación de las células T; CD4⁺: linfocitos T CD4⁺; TBX21: factor de transcripción T-box; CMSP: células mononucleares de sangre periférica.

ALÉRGENOS

Brand et al., utilizando un modelo de asma experimental (ratones albinos sensibilizados a ovoalbúmina), han constatado un incremento notable de la metilación de ADN en el promotor IFNG tras la exposición al alérgeno, con un descenso en la expresión de la citocina interferón gamma. El efecto sobre la metilación pudo ser revertido *in vivo e in vitro* con inhibidores de la DNMT, previniendo el desarrollo de la alergia⁴⁷. El polvo doméstico también causa giros epigenéticos. Pascual et al. investigaron la metilación del ADN en pacientes con alergia a ácaros, asmáticos intolerantes al ácido acetilsalicílico y controles sanos⁴⁸. El estudio, enfocado sobre las células B CD19⁺, identificó cambios en diferentes *loci* relevantes para la respuesta inmune. Uno de esos *loci* fue el gen CYP26A1, donde se codifica un miembro de la superfamilia de enzimas P450, monooxigenasas catalizadoras de múltiples reacciones implicadas en el metabolismo de fármacos y la síntesis del colesterol, esteroides y otros lípidos⁴⁸. Los patrones de metilación variaron de unas poblaciones a otras. De manera similar, Shang et al. han descrito, en ratones expuestos de continuo al polvo doméstico, hiperrespuesta bronquial e inflamación y remodelado del tracto respiratorio, detectándose metilación de los genes implicados en la señalización del factor de crecimiento transformante β incluso en la siguiente generación de animales⁴⁹.

TABACO

Los datos epidemiológicos ratifican sin incertidumbre que el contacto con el humo de tabaco durante la etapa prenatal y la infancia temprana es un claro antecedente que favorece el desarrollo ulterior del asma en los primeros años de la vida. Su implicación en la historia natural de esta enfermedad se explica por varias vías. Una de ellas es la epigenética, y disponemos de al menos dos publicaciones que indican que el tabaquismo activo de la abuela (incluso cuando la madre no fuma) constituye *per se* un componente de riesgo de asma en los nietos (*herencia epigenética transgeneracional*)⁵⁰⁻⁵¹. Un estudio en biopsias pulmonares y macrófagos de lavado broncoalveolar ha confirmado que los fumadores muestran una baja expresión de HDAC2 (y de la actividad HDAC global) y un aumento de la expresión de interleucina (IL) 1B inducido por el factor de necrosis tumoral⁵². El tabaquismo materno durante el embarazo, además, altera ampliamente el metiloma (el perfil de metilación) del neonato, siendo de especial interés los efectos sobre los genes FRMD4, ATP9A, GALNT2 y MEG3, relacionados con la dependencia de la nicotina, la cesación del tabaquismo y el desarrollo del embrión y la placenta⁵³. Un trabajo adicional reveló que la exposición al tabaco durante la gestación correlaciona con la expresión del miR-223 en la sangre del cordón del recién nacido, afectando al número de células Treg, con el subsiguiente riesgo de alergia durante los primeros tres años de vida⁵⁴. Previamente, Wang et al. ya habían reportado que la metilación del promotor del gen codificador para la linfopoyetina estromal tímica (TSLP) se asocia significativamente a la exposición prenatal al tabaco

(OR: 3,17) y la dermatitis atópica (OR: 2,32)⁵⁵. La TSLP es una citocina similar a la IL-7, secretada por células epiteliales de diferentes tejidos y activadora de las células dendríticas inmaduras de linaje mieloides⁵⁶.

ÁCIDO FÓLICO

Una de las pruebas clave que ha permitido asentar la importancia de la epigenética en el desarrollo de fenotipos a largo plazo a través de la nutrición, corresponde a los experimentos con ratones agutí. La alimentación de las hembras preñadas con suplementos ricos en donadores de metilo (ácido fólico y otros) causa en la descendencia transformaciones drásticas en el peso y el color del pelaje, y ello correlaciona con el grado de metilación del gen asociado a esta cepa especial⁵⁷. En el asunto que nos ocupa, lo que sabemos es que, si bien la toma materna de ácido fólico por las embarazadas disminuye la incidencia de defectos del tubo neural en el niño, su aporte a ratonas gestantes exagera las manifestaciones de asma en la progenie y la predisposición llega a transmitirse parcialmente a generaciones subsecuentes⁵⁸. Ese sustento facilita la metilación de las regiones promotoras de genes involucrados en la respuesta inmune adaptativa (*v. gr.*, Runx3), dando lugar a una merma en la concentración final de las proteínas correspondientes⁵⁸. Los efectos no aparecen cuando los ratones lactantes reciben una dieta enriquecida con donadores de metilo, lo que sugiere que la vulnerabilidad para la metilación del ADN es más acentuada durante la gestación⁵⁸.

Por su parte, Håberg et al. han estudiado a 32.077 niños, seguidos hasta los dieciocho meses de edad, evaluando la ingestión materna de aportes de ácido fólico durante el embarazo y la ocurrencia en los niños de sibilancias e infecciones de las vías aéreas inferiores. Los hijos de aquellas madres que tomaron el suplemento en el primer trimestre tenían un aumento ligero, pero estadísticamente significativo, del riesgo relativo de presentar clínica respiratoria⁵⁹. Los resultados aportados por el trabajo de Whitrow et al., con una cohorte compuesta por 490 mujeres embarazadas y sus hijos, van en la misma dirección, al verificar que los niños cuyas madres tomaron cantidades elevadas de ácido fólico tuvieron mayor frecuencia de asma llegada la edad preescolar⁶⁰. Finalmente, se ha observado que los T CD4⁺ y las células presentadoras de antígenos recogidas de la sangre del cordón umbilical presentan diferencias de metilación en siete regiones del genoma cuando los niveles séricos de ácido fólico son altos en el último trimestre del embarazo⁶¹. El efecto es prominente en la región promotora del gen que codifica la proteína de transcripción cinc 57 (ZFP57), considerada un regulador de la metilación del ADN para el desarrollo de muchos tipos celulares⁶¹.

Conclusión

Los trabajos expuestos muestran que el efecto de factores ambientales en el asma está mediado por una serie de mecanismos epigenéticos capaces de modificar el riesgo de padecer la enfermedad y su curso. El estudio de tales mecanismos constituye un campo de investigación novedoso y abierto, cuyos logros incrementarán el conocimiento sobre las variaciones del epigenoma

potencialmente heredables (pero también adquiridas), modulables y susceptibles de ser utilizadas en la prevención y las estrategias terapéuticas relacionadas con esta patología. La tarea está solo en sus principios. Es verdad que faltan por identificar no pocos elementos para conseguir encajar el puzle con un grado de certidumbre aceptable. En opinión de algunos autores, que nosotros compartimos, la solución no estriba únicamente en poner boca arriba todas las piezas del rompecabezas. Pasa por generar nuevos marcos de saber que, superando el enfoque parcelar del problema, aporten una visión holística y dinámica de la cuestión. En la era postgenómica disponemos ya de la tecnología necesaria si queremos cambiar el rumbo hacia nuevos horizontes. La hora de dar el salto cuantitativo y cualitativo ha llegado.

.....

Bibliografía

- Rice JP, Saccone NL, Rasmussen E. Definition of the phenotype. *Adv Genet.* 2001;42:69–76.
- Hunter DJ. Gene-environment interactions in human diseases. *Nat Rev Genet.* 2005;6:287–98.
- Carey JC, Borde LB, Bamshad MJ. *Genética médica (IV edición)*. Barcelona, Elsevier. 2011.
- International human genome sequencing consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001;409:860–921.
- Vercelli D. Genetics, epigenetics, and the environment: switching, buffering, releasing. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:381–6.
- Felsenfeld G. A brief history of epigenetics. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6:a018200.
- Petronis A. Epigenetics as a unifying principle in the aetiology of complex traits and diseases. *Nature.* 2010;465:721–7.
- Renz H, Von Mutius E, Brandtzaeg P, Cookson WO, Autenrieth IB, Haller D. Gene-environment interactions in chronic inflammatory disease. *Nat Immunol.* 2011;12:273–7.
- Seibold MA, Schwartz DA. The lung: the natural boundary between nature and nurture. *Annu Rev Physiol.* 2011;73:457–78.
- Vercelli D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nat Rev Immunol.* 2008;8:169–82.
- March ME, Sleiman PM, Hakonarson H. The genetics of asthma and allergic disorders. *Discov Med.* 2011;11:35–45.
- Thomsen SF. Genetics of asthma: an introduction for the clinician. *Eur Clin Respir J.* 2015;2:10.3402/ecrj.v2.24643.
- Ito K, Caramori G, Lim S, Oates T, Chung KF, Barnes PJ, et al. Expression and activity of histone deacetylases in human asthmatic airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:392–6.
- Cosío BG, Mann B, Ito K, Jazrawi E, Barnes PJ, Adcock IM. Histone acetylase and deacetylase activity in alveolar macrophages and blood monocytes in asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:141–7.
- Gruziova O, Merid SK, Melén E. An update on epigenetics and childhood respiratory diseases. *Paediatr Respir Rev.* 2014;15:348–54.
- Gunawardhana LP, Gibson PG, Simpson JL, Benton MC, Lea RA, Baines KJ. Characteristic DNA methylation profiles in peripheral blood monocytes are associated with inflammatory phenotypes of asthma. *Epigenetics.* 2014;9:1302–16.
- Barnes PJ. Targeting the epigenome in the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc.* 2009;6:693–6.
- Zhang H, Tong X, Holloway JW, Rezwani FI, Lockett GA, Patil V, et al. The interplay of DNA methylation over time with Th2 pathway genetic variants on asthma risk and temporal asthma transition. *Clin Epigenetics.* 2014;6:8.
- Vercelli D. Does epigenetics play a role in human asthma? *Allergol Int.* 2016;65:123–6.
- Perry MM, Baker JE, Gibeon DS, Adcock IM, Chung KF. Airway smooth muscle hyperproliferation is regulated by microRNA-221 in severe asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;50:7–17.
- Ho SM. Environmental epigenetics of asthma: an update. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126:453–65.
- Gluckman PD, Hanson MA, Buklijas T. A conceptual framework for the developmental origins of health and disease. *J Dev Orig Health Dis.* 2010;1:6–18.
- Krauss-Etschmann S, Bush A, Bellusci S, Brusselle GG, Dahlén SE, Dehmel S, et al. Of flies, mice and men: a systematic approach to understanding the early life origins of chronic lung diseases. *Thorax.* 2013;68:380–4.
- Bousquet J, Antó JM, Berkouk K, Gergen P, Antunes JP, Augé P, et al. Developmental determinants in non-communicable chronic diseases and ageing. *Thorax.* 2015;70:595–7.
- Waddington CH. *An introduction to modern genetics.* New York, Macmillan. 1939.
- Holliday R. Epigenetics comes of age in the twenty first century. *J Genet.* 2002;81:1–4.
- Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature.* 2007;447:396–8.
- Tost J. *Epigenetics.* Norwich, Horizon Scientific Press. 2008.
- Auclair G, Weber M. Mechanisms of DNA methylation and demethylation in mammals. *Biochimie.* 2012;94:2202–11.

30. Du Q, Luu PL, Stirzaker C, Clark SJ. Methyl-CpG-binding domain proteins: readers of the epigenome. *Epigenomics*. 2015;7:1051–73.
31. Rice JC, Allis CD. Code of silence. *Nature*. 2001;414:258–61.
32. Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell Res*. 2011;21:381–95.
33. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004;116:281–97.
34. Ender C, Meister G. Argonaute proteins at a glance. *J Cell Sci*. 2010;123:1819–23.
35. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet*. 2008;9:102–14.
36. Chen X, Liang H, Zhang J, Zen K, Zhang CY. Secreted microRNAs: a new form of intercellular communication. *Trends Cell Biol*. 2012;22:125–32.
37. Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet*. 2010;11:597–610.
38. Salmena L, Poliseno L, Tay Y, Kats L, Pandolfi PP. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? *Cell*. 2011;146:353–8.
39. Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet*. 1986;1:1077–81.
40. Barker DJ, Osmond C. Diet and coronary heart disease in England and Wales during and after the Second World War. *J Epidemiol Community Health*. 1986;40:37–44.
41. Neel JV. Diabetes mellitus: a ‘thrifty’ genotype rendered detrimental by ‘progress’? *Am J Hum Genet*. 1962;14:353–62.
42. Roseboom T, De Rooij S, Painter R. The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. *Early Hum Dev*. 2006;82:485–91.
43. Roseboom TJ, Painter RC, Van Abeelen AFM, Veenendaal MV, De Rooij SR. Hungry in the womb: What are the consequences? Lessons from the Dutch famine. *Maturitas*. 2011;70:141–5.
44. Bygren LO, Kaati G, Edvinsson S. Longevity determined by paternal ancestors’ nutrition during their slow growth period. *Acta Biotheor*. 2001;49:53–9.
45. Hanson MA, Gluckman PD. Early developmental conditioning of later health and disease: physiology or pathophysiology? *Physiol Rev*. 2014;94:1027–76.
46. Harb H, Renz H. Update on epigenetics in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;135:15–24.
47. Brand S, Kesper DA, Teich R, Kilic-Niebergall, Pinkenburg O, Bothur E, et al. DNA methylation of TH1/TH2 cytokine genes affects sensitization and progress of experimental asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129:1602–10.
48. Pascual M, Suzuki M, Isidoro-García M, Padrón J, Turner T, Lorente F, et al. Epigenetic changes in B lymphocytes associated with house dust mite allergic asthma. *Epigenetics*. 2011;6:1131–7.
49. Shang Y, Das S, Rabold R, Sham JS, Mitzner W, Tang WY. Epigenetic alterations by DNA methylation in house dust mite-induced airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2013;49:279–87.
50. Li YF, Langholz B, Salam MT, Gilliland FD. Maternal and grandmaternal smoking patterns are associated with early childhood asthma. *Chest*. 2005;127:1232–41.
51. Magnus MC, Håberg SE, Karlstad Ø, Nafstad P, London SJ, Nystad W. Grandmother’s smoking when pregnant with the mother and asthma in the grandchild: the Norwegian Mother and Child Cohort Study. *Thorax*. 2015;70:237–43.
52. Klingbeil EC, Hew KM, Nygaard UC, Nadeau KC. Polycyclic aromatic hydrocarbons, tobacco smoke, and epigenetic remodeling in asthma. *Immunol Res*. 2014;58:369–73.
53. Markunas CA, Xu Z, Harlid S, Wade PA, Lie RT, Taylor JA, et al. Identification of DNA methylation changes in newborns related to maternal smoking during pregnancy. *Environ Health Perspect*. 2014;122:1147–53.
54. Herberth G, Bauer M, Gasch M, Hinz D, Röder S, Olek S, et al.; Lifestyle and Environmental Factors and Their Influence on Newborns Allergy Risk study group. Maternal and cord blood miR-223 expression associates with prenatal tobacco smoke exposure and low regulatory T-cell numbers. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:543–50.
55. Wang IJ, Chen SL, Lu TP, Chuang EY, Chen PC. Prenatal smoke exposure, DNA methylation, and childhood atopic dermatitis. *Clin Exp Allergy*. 2013;43:535–43.
56. Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin: master switch for allergic inflammation. *J Exp Med*. 2006;203:269–73.
57. Shorter KR, Anderson V, Cakora P, Owen A, Lo K, Crossland J, et al. Pleiotropic effects of a methyl donor diet in a novel animal model. *PLoS One*. 2014;9:e104942.
58. Hollingsworth JW, Maruoka S, Boon K, Garantziotis S, Li Z, Tomfohr J, et al. In utero supplementation with methyl donors enhances allergic airway disease in mice. *J Clin Invest*. 2008;118:3462–9.
59. Håberg SE, London SJ, Stigum H, Nafstad P, Nystad W. Folic acid supplements in pregnancy and early childhood respiratory health. *Arch Dis Child*. 2009;94:180–4.
60. Whitrow MJ, Moore VM, Rumbold AR, Davies MJ. Effect of supplemental folic acid in pregnancy on childhood

asthma: a prospective birth cohort study. *Am J Epidemiol.* 2009;170:1486–93.

61. Amarasekera M, Martino D, Ashley S, Harb H, Kesper D, Strickland D, et al. Genome-wide DNA methylation profiling identifies a folate-sensitive region of differential methylation upstream of ZFP57-imprinting regulator in humans. *FASEB J.* 2014;20:4068–76.