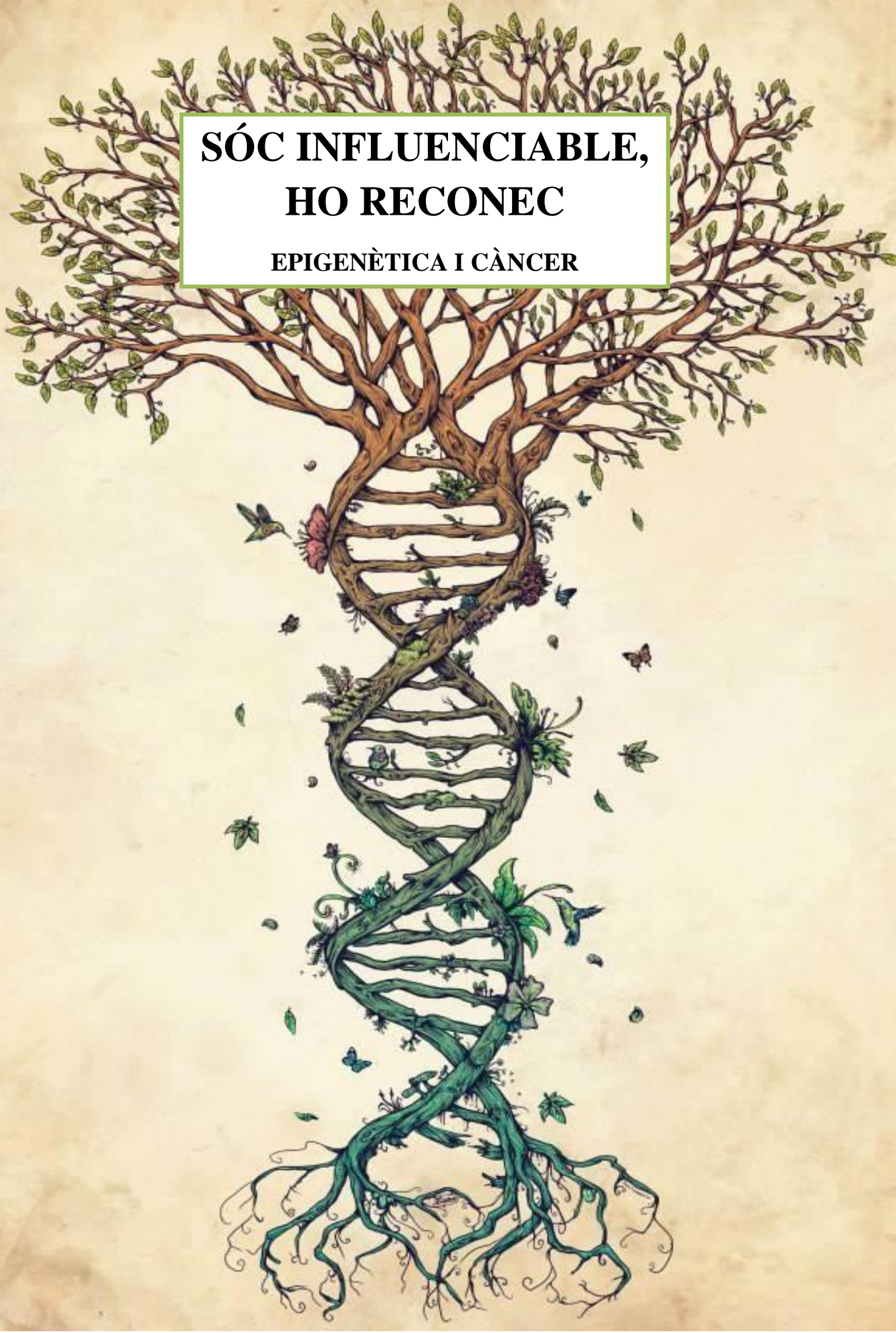


**SÓC INFLUENCIABLE,  
HO RECONEC**  
**EPIGENÈTICA I CÀNCER**



**“No som els nostres gens. Ells només són part de la nostra història”**

*Manel Esteller*

*(Investigador català pioner en Epigenètica i càncer)*

# ÍNDEX

<b>1. INTRODUCCIÓ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. QUÈ ÉS L'EPIGENÈTICA?.....</b>	<b>3</b>
<b>3. EPIGENÈTICA I CÀNCER.....</b>	<b>6</b>
<b>4. UN PETIT VIATGE AL LLARG DEL TEMPS.....</b>	<b>8</b>
<b>5. MARQUES EPIGENÈTIQUES.....</b>	<b>11</b>
<b>5.1. Metilació de l'ADN.....</b>	<b>12</b>
5.1.1. Illes CpG.....	14
5.1.2. empremta genòmica o “genomic imprinting”.....	15
5.1.3. Inactivació del cromosoma X.....	18
5.1.4. Càncer i metilació.....	19
5.1.4.1. Hipermetilació i hipometilació de l'ADN.....	20
5.1.4.2. Desmetilació de l'ADN.....	24
<b>5.2. Modificació de les histones.....</b>	<b>26</b>
5.2.1. Acetilació de les histones H3 i H4.....	27
5.2.2. Metilació de les histones.....	29
<b>5.3. ARN no-codificant.....</b>	<b>30</b>
5.3.1. MicroARN.....	32
5.3.1.1. Reexpressió del MicroARN.....	34
<b>6. FACTORS EXTERNS QUE PROVOQUEN CANVIS EPIGENÈTICS.....</b>	<b>36</b>
<b>6.1. Alimentació.....</b>	<b>36</b>
6.1.1. Alimentació en embarassades.....	36
6.1.2. Alimentació en la vida adulta.....	38
6.1.3. Àcid fòlic i Vitamina B <sub>12</sub> .....	40
6.1.3.1. Àcid fòlic i Vitamina B <sub>12</sub> en embarassades.....	40
6.1.3.2. Àcid fòlic en l'edat adulta.....	42
6.1.4. La dieta epigenètica – La genòmica nutricional.....	43
<b>6.2. Consum d'alcohol i tabac.....</b>	<b>45</b>

<b>6.3. Estrès en embarassades – Estrès posttraumàtic.....</b>	<b>46</b>
<b>6.3.1. Part prematur.....</b>	<b>48</b>
<b>6.4. Exercici físic.....</b>	<b>49</b>
<b>6.4.1. Estrès i exercici físic.....</b>	<b>49</b>
<b>6.4.2. Acumulació de greixos.....</b>	<b>50</b>
<b>6.4.3. Diabetis tipus II i obesitat.....</b>	<b>50</b>
<b>6.5. Contaminació i productes tòxics.....</b>	<b>51</b>
<b>6.5.1. Bisfenol A (BFA).....</b>	<b>53</b>
<b>6.6. Poques hores de son.....</b>	<b>55</b>
<b>6.7. Conclusions i interpretació d'aquest apartat.....</b>	<b>56</b>
<b>7. HERÈNCIA DELS CANVIS EPIGENÈTICS.....</b>	<b>57</b>
<b>8. PART PRÀCTICA.....</b>	<b>60</b>
<b>8.1. Entrevista a Marian Martínez.....</b>	<b>61</b>
<b>8.2. Pràctica de laboratori.....</b>	<b>69</b>
<b>8.2.1. Protocol.....</b>	<b>69</b>
<b>8.2.2. Resultat de l'experiment.....</b>	<b>72</b>
<b>9. AGRAÏMENTS.....</b>	<b>77</b>
<b>10. CONCLUSIONS.....</b>	<b>78</b>
<b>11. FONTS D'INFORMACIÓ.....</b>	<b>80</b>



# 1. INTRODUCCIÓ

Què és el que es transmet de generacions en generacions? Sempre se'ns havia dit que l'únic que es passava de pares a fills eren els gens i que, per tant, les experiències que s'havien viscut durant la vida no s'adquirien, ja que es pensava que els gens es passaven inalterables de generació en generació, sense modificacions. Aquest pensament es devia al desconeixement de l'epigenètica i les epimutacions.

L'epigenètica és una rama de la biologia que pretén estudiar perquè els éssers vius expressen uns gens i, en canvi, en silenci d'altres resultant d'aquesta manera les seves característiques físiques particulars i la probabilitat de desenvolupar certes malalties. També la podríem definir com l'interlocutor de l'ambient amb la genètica, ja que explica l'acció de l'estil de vida que portem sobre els gens; les malalties es deuen, per tant, a alteracions genètiques i epigenètiques.

Així, l'aire que van respirar els nostres antecedents, l'aigua que van beure o l'ambient psicosocial en què van viure ens han pogut afectar a nosaltres inclús dècades després. Els factors externs poden influir en el que podríem anomenar "complex d'interruptors" que s'han de connectar i desconnectar per arribar a desencadenar, per exemple, un càncer. Per tant, no es tracta només dels gens que heretem, sinó de si estan encesos o apagats per mitjà dels interruptors epigenètics.

El gran interès per aquesta innovadora branca de la ciència ve donat perquè existeix una gran relació entre les alteracions epigenètiques i el desenvolupament de malalties; a més, també duu a terme un paper fonamental durant el procés d'especialització de les cèl·lules.

Un dels moments en què l'efecte de l'epigenètica és més apreciable per a nosaltres seria en el cas dels bessons monovitel·lins: els dos individus comparteixen el mateix ADN però, no obstant això, poden ser diferents i, fins i tot, presentar malalties diferents. Aquest fet té la seva explicació en què, encara que el seu genoma sigui idèntic, cada individu el regula d'una manera determinada.

A principis de 1990, el Projecte Genoma Humà era vist com el major assoliment mai realitzat en Biologia i fins i tot en la història de la humanitat; semblava com si el secret de la vida estava en les nostres mans i es creia que una vegada realitzat, llegint-lo es

podria descobrir com està fet el cos humà i, per tant, els científics podrien trobar la causa genètica per la curació de qualsevol malaltia. Els gens eren vistos d'una forma molt mecànica i només es pensava en ells en termes de la seqüència de les lletres d'ADN. Al començament, els científics creien que el genoma humà estava format per 100.000 gens aproximadament però a mesura que es va anar seqüenciant va anar disminuint fins a un nombre molt menor i de fet, es va veure que el genoma humà no era tan complex ni tenia tants gens com el de les plantes, per exemple. Aquest descobriment va obligar a formular una altra pregunta: com és possible que el nostre genoma tingui menys gens que unes altres però que, per altra banda, nosaltres siguem més complexos?

L'estudi de l'epigenètica ens podria explicar per què un ésser humà pot estar creat per menys de 30.000 gens i perquè el "Projecte Genoma Humà" (la transcripció del codi dels gens) no va proporcionar totes les respostes. Aquests són nivells de complexitat que s'han d'entendre i van molt més enllà del que serien les seqüències d'ADN. Per tant, actualment, el gran repte per la Biologia és desxifrar el codi epigenètic el qual ens porta a entendre totes les combinacions d'interruptors que existeixen.

En la realització d'aquest treball, m'agradaria, doncs, endinsar-me en aquest món tan desconegut per mi però que alhora em té fascinada per la seva immensa complexitat i la importantíssima aportació que aquest camp tindrà en la curació de malalties en un futur. És per això que he decidit centrar les pròximes pàgines a l'Epigenètica del Càncer essent una de les seves rames més estudiades i amb més expectació per un futur no gaire llunyà.

## 2. QUÈ ÉS L'EPIGENÈTICA?

L'epigenètica es tracta d'una nova rama de la ciència la qual pretén estudiar de quina manera determinats factors mediambientals, condicionats pels nostres hàbits, tenen la capacitat d'interaccionar amb els nostres gens, modificar-ne la seva funció sense necessitat d'alterar-ne la seva composició ni la seqüència de bases de l'ADN i modular la forma en què els nostres gens es comporten, donant, d'aquesta manera, una visió més completa dels factors que augmenten el risc de patir determinades malalties al llarg de la nostra vida. En altres paraules, podríem dir que la genètica és l'abecedari, però allò que el regula és l'epigenètica, l'ortografia i la gramàtica.

Hem d'entendre aquest tipus de modificacions com si l'embolcall bioquímic que cobreix l'ADN fos un paper de regal el qual té la funció d'obrir (expressar) o tancar (silenciar) els nostres gens. Seguint amb aquest paral·lelisme, entenem que els canvis epigenètics són canvis reversibles en el nostre material genètic que fa que uns gens determinats s'expressin o no depenent dels factors externs. Totes les cèl·lules del nostre cos estan sotmeses a canvis epigenètics i, de fet, el cas en què aquest fet és més evident és en els bessons univitel·lins que, tot i disposar del mateix material genètic poden ser diferents i fins i tot patir malalties molt diferents. Aquest fet es deu a fer que cadascú ha anat acumulant diferents marques epigenètiques a causa de les diferents formes de vida que tenen, la qual cosa fa que cada individu es regula el seu ADN d'una manera determinada.

Un altre exemple en què l'epigenètica es posa de manifest és en els animals clonats. En teoria, els animals clonats haurien de ser idèntics als seus pares, però això no és totalment cert, ja que quan transferim un material genètic no som capaços de passar les modificacions químiques que s'han produït en aquest ADN a causa dels marcadors epigenètics. És per això que l'ovella Dolly tenia obesitat i diabetis, mentre que la seva mare estava sana.

És molt possible que alguna vegada tots hàgim pensat: "Si totes les cèl·lules del meu cos disposen del mateix material genètic, com és que tinc uns òrgans que difereixen tant en aspecte com en funció? La resposta a aquesta formulació rau en l'epigenètica també, ja que, gràcies a estudis recents, s'ha descobert que les cèl·lules dels diferents òrgans fan ús del material genètic en diverses formes; la diferenciació del nostre organisme es



duu a terme mitjançant el procés d'activació o inactivació dels nostres gens. Les cèl·lules mare, les quals encara no han estat diferenciades, són la matèria primera per a la conversió a qualsevol tipus de cèl·lula, de manera que per aconseguir que una cèl·lula embrionària es transformi, per exemple, en una cèl·lula epitelial, ha d'activar uns gens concrets i desactivar-ne d'altres que no necessiti. Per tant, la diferenciació cel·lular està regida per processos epigenètics que produeixen canvis en l'expressió dels nostres gens sense modificar-ne la seqüència d'ADN.

Durant molts anys, s'ha donat molt poca importància al significatiu efecte que els nostres hàbits causen, ja que es dubtava de la seva verdadera influència i es pensava que aquestes conseqüències només tindrien efecte en la vida d'un sol individu i en la pròpia salut. Per tant, es creia que els nostres fills naixerien amb una genètica lliure de qualsevol empremta i l'únic que es passaria a la descendència seria la seqüència de gens. Malgrat això, actualment se sap que no és així, sinó que existeixen els ja mencionats canvis epigenètics amb la possibilitat de transmetre's de generació en generació.

Aquesta idea de la "transmissió hereditària dels caràcters adquirits" fins ara era rebutjada per una gran quantitat de persones en la biologia moderna. Ara se sap que els pares i mares no només transmeten als seus fills els cromosomes portadors de la majoria de material genètic, sinó que aquest es completa amb modificacions que han adquirit durant la seva vida les quals regeixen les funcions dels gens i determinen quan i quant de temps han de mantenir-se activats. Aquest mecanisme d'herència és una manera que té la naturalesa de donar informació a la nova generació de l'ambient amb què es trobaran, ja que no es tracta únicament de disposar de gens beneficiosos sinó de cuidar-los al llarg de la nostra vida; així, encara que disposem de gens totalment sans, si hem portat una vida amb hàbits poc saludables, aquesta informació quedarà gravada a les nostres cèl·lules i podrà ser passada a les generacions posteriors.

Per aquesta raó, no només hem de pensar i ser conscients d'allò que ens afectarà a nosaltres mateixos, sinó que també hem de tenir present que som els qui influïm en la vida dels nostres descendents en les diferents decisions que prenem. Cadascú de nosaltres disposem de la possibilitat d'optar per hàbits saludables que influeixin de manera positiva sobre la nostra salut i la de les generacions posteriors. D'això en podem extreure una conclusió: no és tan important allò que està escrit als nostres gens, sinó que

hem de treballar per tal que determinats gens que podrien provocar-nos alguna malaltia no es manifestin.

### 3. EPIGENÈTICA DEL CÀNCER

Abans que res, hauria de fer una pinzellada a què significa exactament el terme “càncer” per tal d’entendre tot allò que aniré explicant a continuació. Doncs bé, el càncer es podria definir com un conjunt de malalties relacionades entre si en estar caracteritzades pel fet que determinades cèl·lules del nostre cos es comencen a dividir incontroladament i il·limitadament i, fins i tot, envaeixen als teixits del seu voltant.

Les cèl·lules humanes sanes creixen i es divideixen per tal de formar-ne de noves a mesura que el cos les necessita i, quan aquestes envelleixen o es fan malbé, moren i cèl·lules noves les substitueixen. No obstant això, a



vegades aquest procés anterior totalment ordenat es descontrola i és el que coneixem com càncer: en el procés de desenvolupament del càncer, les cèl·lules velles o fetes malbé sobreviuen quan haurien de morir i, a més, es formen noves cèl·lules en excés sense que el cos les necessiti. Aquestes últimes, poden dividir-se sense interrupció i fins i tot poden arribar a formar unes masses de teixit anomenades tumors.

Per què uns tumors diem que són benignes o malignes? Què és el que dóna lloc a aquesta distinció? Un tumor cancerós maligne és aquell que, com he mencionat anteriorment, té la capacitat de desplaçar-se cap a teixits propers i envair-los. D’aquesta manera, quan cèl·lules cancerígenes es mouen en diferents parts del cos mitjançant el sistema circulatori o el sistema limfàtic, es pot donar la formació de nous tumors lluny del tumor originari. Per altra banda, els tumors benignes no són capaços d’estendre’s a teixits propers a causa que quan aquestes cèl·lules moren no tornen a créixer.

Per poder entendre quina importància té el paper de l’epigenètica en el desenvolupament de càncer se sap que només el 10% de tots els càncers són de caràcter hereditari, mentre que la resta són tumors que s’han produït de forma esporàdica, moltes vegades sense que nosaltres ens n’adonem; per tant, està clar que en aquest últim grup de tumors la contribució de l’epigenètica és molt gran.

Encara que es disposa de molts coneixements sobre les marques epigenètiques que provoquen el càncer, ens trobem lluny de desxifrar totes les causes d’aquest. Moltes

vegades, aquestes alteracions en el nostre epigenoma actuen en conjunt la qual cosa complica molt l'estudi, ja que l'efecte que tindria una marca de forma independent és diferent de la que tindrà en interactuar amb moltes altres.

Fa uns anys, molts estudis perseguien l'objectiu d'establir relacions entre la presència de mutacions en oncògens i/o gens supressors de tumors i el desenvolupament de càncers, però en alguns casos no se'n va poder establir una relació directa. Va ser llavors quan es van realitzar estudis que van comprovar que amb absència de mutacions en aquests dos tipus de gens també es podia donar un mal pronòstic pels pacients. Què és el que els intentava mostrar aquest descobriment? Existia un nivell superior de regulació dels gens? El més segur és que en aquell moment no disposessin d'una explicació prou convincent, però actualment, es té la certesa que les mutacions no són l'única via per desenvolupar un càncer la qual cosa ajudarà en gran mesura en l'aparició de nous fàrmacs que controlin i modulin les proteïnes que s'encarreguen de les modificacions epigenètiques del genoma.

## 4. UN PETIT VIATGE AL LLARG DEL TEMPS...

### Epigenètica i els seus inicis

La història de l'epigenètica ha estat lligada a l'estudi de l'evolució i el desenvolupament humà. Però durant els darrers 50 anys, el significat que se li donava al terme epigenètica ha patit en si una evolució paral·lela al nostre augment de comprensió dels mecanismes moleculars, especialment de la regulació de l'expressió genètica en les cèl·lules eucariotes.

Abans del sorgiment d'aquesta rama de la biologia, la relació gens - ambient era explicada des de la visió d'un determinisme genètic en les persones. Encara que els inicis de l'epigenètica es trobin a mitjans del segle XIX, la intuïció de la seva existència ja era en Aristòtil el qual deia que el desenvolupament de la forma orgànica de l'individu es gestionava a partir de matèria amorfa. Tot i això, aquesta afirmació tan discutida va ser l'argument que es va plantejar en contra de la hipòtesi que defenia que ens vam originar a partir d'organismes minúsculs. Inclús, actualment encara es manté el dubte de fins a quin punt estem preprogramats o modelats per l'ambient que ens envolta.

La nostra definició actual és "l'estudi dels canvis en els gens que poden ésser explicats a partir de les modificacions en la seqüència de l'ADN" (Riggs, 1996). No obstant això, fins a 1950 aproximadament, la paraula "epigenètica" era utilitzada d'una manera completament diferent per categoritzar tots els esdeveniments en el procés del desenvolupament passant des del moment en què som un zigot fertilitzat fins a l'organisme adult.

El responsable del canvi en la concepció del terme d'epigenètica se li atribueix a Conrad Waddington històricament el qual, l'any 1942, la va definir com l'estudi dels esdeveniments que donen lloc al desenvolupament del programa genètic o com el procés de desenvolupament que hi ha entre fenotip i genotip.

Aquest darrer concepte té les seves arrels en els primers estudis realitzats en biologia cel·lular i embriologia quan, al segle XIX, es van establir les bases que van fer possible la construcció del coneixement actual sobre la relació que existeix entre gens i desenvolupament.

Retrocedint uns quants passos en la història de l'epigenètica, hi va haver un temps en el qual hi havia un fort debat entre embriòlegs sobre la naturalesa i localització dels components responsables de dur a terme el desenvolupament en l'organisme. És per això, que aquests es van dividir en dos tipus d'escoles diferents: aquells que pensaven que cada cèl·lula contenia elements formats amb anterioritat als quals s'anaven ampliant en el transcurs del desenvolupament (teoria preformista; naixíem totalment formats) i els que pensaven que en aquest procés s'hi donaven un seguit de reaccions químiques entre diversos components seguint un pla de desenvolupament (epigènesi). Aquests punts de vista es van focalitzar en la importància que donaven al nucli i al citoplasma en aquest procés; però, encara que la definició que es donava a aquell temps d'epigenètica ha canviat enormement, és important recordar que el problema original pels investigadors era: com pot un únic òvul fecundat donar lloc a un organisme amb una complexitat tal que contingui cèl·lules amb una gran varietat de fenotips?

Deixant de banda les discussions per tal d'establir una definició a aquest terme, es van realitzar molts experiments i es van anar acumulant dades científiques que van permetre posar una base a aquest concepte. Al 1930, H. J. Muller va descriure un tipus de mutacions que es donaven en les *Drosophila* afirmant que n'existien una gran quantitat de fenotips; aquestes mutacions eren provocades per translocacions en els cromosomes. Tot i això, va observar que, encara que totes les parts del cromosoma eren aparentment normals, el resultat fenotípic no era sempre el corrent.

En els anys posteriors, els reordenaments cromosòmics van significar el punt d'atenció de tots els investigadors en aquest camp demostrant que els gens no funcionaven de forma totalment independent, sinó que la seva funció es veia afectada depenent de la seva localització dins del genoma.

Una segona línia de raonament va néixer a partir de l'estudi dels processos de desenvolupament el qual posava en evidència que durant aquest procés hi havia una

gran divergència de fenotips entre les cèl·lules diferenciades i els diferents teixits la qual cosa es va observar que podia ser heretat mitjançant la clonació de les cèl·lules en procés de divisió. Però, encara que en aquell moment es tenia la certesa que la programació específica de les cèl·lules i la seva transmissió a les cèl·lules filles existia, el procés que tot això seguia era molt incert. Tot i això, un gran nombre de mecanismes van ser considerats i, per aquells que tenien coneixements bioquímics, una cèl·lula era definida mitjançant les diferents reaccions bioquímiques que es donen en aquesta cèl·lula per tal de marcar la seva identitat.

Ja en els anys 1990, el concepte d' "assimilació genètica"<sup>1</sup> va despertar un gran interès en la societat científica el qual posà de manifest la validesa dels enuncis de Conrad Waddington en els que deia que l'estrès ambiental és capaç d'originar assimilacions genètiques en determinades característiques fenotípiques. Actualment, la metilació de l'ADN és una de les modificacions epigenètiques més estudiades en relació amb el càncer gràcies a l'aportació de Griffith i Mahler (1969) els quals van suggerir la possibilitat que aquesta alteració epigenètica jugués un paper important en la funció de memòria a llarg termini.

L'interès en aquest camp ha donat lloc a nous descobriments sobre la relació que existeix entre les marques epigenètiques i una sèrie de trastorns incloent els diversos tipus de càncer, els trastorns mentals, els trastorns immunes, els trastorns neuropsiquiàtrics i els trastorns pediàtrics.

Tot i això, els descobriments actuals no posen punt final a tots els possibles coneixements en aquesta branca de la biologia, ja que els investigadors del futur esperen els avenços realitzats en epigenètica amb els braços oberts amb l'esperança d'arribar a ser capaços algun dia de curar totes les malalties que afecten la nostra societat.

---

<sup>1</sup> Procés mitjançant el qual el fenotip que originàriament havia estat influït per un ambient determinat passa a ser un codi genètic via selecció natural.

## 5. MARQUES EPIGENÈTIQUES

Abans d'endinsar-nos en el que seria l'apartat de les modificacions químiques que s'adhereixen als gens i en modifiquen la seva expressió, m'agradaria fer una mica d'introducció en l'estructura de l'ADN. Com ja sabem, l'ADN (àcid desoxiribonucleic) constitueix el material genètic de tots els organismes cel·lulars i gran part de virus portant la informació necessària per dirigir la síntesi de proteïnes i la replicació<sup>2</sup>.

Quant a la seva estructura, en la majoria d'organismes cel·lulars, l'ADN està organitzat en forma de cromosomes que es troben al nucli de la cèl·lula estant cadascun constituït per dues cadenes formades amb un gran nombre de nucleòtids<sup>3</sup> que formen una doble hèlix. Per altra banda, quan aquests cromosomes es descondensen es forma la cromatina la qual està constituïda per unitats de nucleosomes<sup>4</sup> que són parells de bases d'ADN embolicades al voltant d'un octàmer que conté quatre tipus d'histones<sup>5</sup> (H2A, H2B, H3 I H4).

Dit això, ja parlant en termes epigenètics diem que les principals modificacions epigenètiques que modifiquen l'estructura de la cromatina poden estar dividides en tres categories principals: la metilació de l'ADN, les modificacions de les histones i la no-codificació de l'ARN. Aquestes modificacions treballen conjuntament per tal de regular el funcionament del genoma les qual, totes juntes, formen el "paisatge epigenètic" que regula la manera amb què el genoma es manifesta en els diferents tipus de cèl·lules i en el desenvolupament de malalties com el càncer.

La informació epigenètica, tal com he dit anteriorment, és crucial en els organismes eucariotes, ja que realitza un impacte en una àmplia varietat de processos biològics que van des de la regulació dels gens fins a la patogènesi<sup>6</sup> de malalties. D'aquesta manera, per exemple, podem afirmar que la inactivació dels gens supressors de tumor per

---

<sup>2</sup> Conjunt de reaccions mitjançant les quals l'ADN es copia a si mateix cada vegada que una cèl·lula es reproduïx i transmet la informació que conté a la seva descendència.

<sup>3</sup> Molècules orgàniques formades per una molècula de desoxiribosa, un grup fosfat i una de les quatre possibles bases nitrogenades: adenina, guanina, citosina, timina.

<sup>4</sup> Estructura en la qual l'ADN s'enrotlla al voltant de proteïnes de tipus histona. Constitueix el primer nivell d'enrotllament de l'ADN i per transcriure aquest ADN és necessari desfer el nucleosoma.

<sup>5</sup> Proteïna que conté una gran proporció d'aminoàcids, la qual, associada al ADN, forma part de la cromatina nuclear.

<sup>6</sup> Seqüència d'esdeveniments al llarg d'una malaltia.

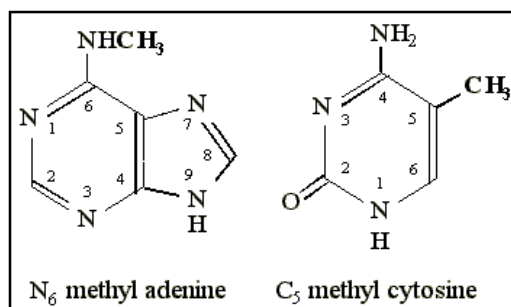


metilació de l'ADN pot portar a l'inici d'una malaltia neoplàsica<sup>7</sup>. A més també sabem que l'alteració del balanç entre acetilació/desacetilació és un dels esdeveniments dominants en alguns tipus de leucèmies i l'expressió de gens parentals que no estan inactivats per l'empremta genètica està associada amb un 70% dels casos de tumors de Wilms<sup>8</sup> i el 20% dels casos esporàdics<sup>9</sup> de càncer de còlon. És per això que el coneixement dels mecanismes moleculars de les modificacions epigenètiques en les etapes primerenques de la carcinogènesi juga un paper molt important en la millora de tractaments ja existents com la quimioteràpia i la radioteràpia, obrint pas també al desenvolupament de nous tractaments per al càncer.

Les marques epigenètiques es podrien també conèixer com transformacions epigenètiques amb tres característiques fonamentals: la primera és que es tracta d'un procés dinàmic i reversible la qual cosa significa que poden tornar a la seva forma original i possibilitar intervencions en elles; a més, hem de tenir en compte que aquestes transformacions epigenètiques es poden transmetre mitjançant la divisió cel·lular o la reproducció cel·lular afectant, d'aquesta manera, el futur de l'individu que les pateix i inclús la seva descendència; i, com a darrera característica important, podríem dir que les modificacions epigenètiques, les que afecten l'ADN i les histones, poden interactuar entre elles.

### 5.1. La metilació de l'ADN (marca epigenètica més coneguda)

Les seqüències d'ADN, com he mencionat anteriorment, estan formades per la combinació de quatre nucleòtids que inclouen citosina, timina, guanina i adenina. La metilació d'aquest ADN fa referència a l'addició d'un grup metil ( $\text{CH}_3$ ) en una citosina o en una guanina unint-se al cinquè àtom de carboni de la citosina o al sisè àtom de nitrogen de la base d'adenina (*Imatge 1*).



Imatge 1: Metilació comú de l'ADN en les bases nitrogenades

<sup>7</sup> Divisió excessiva de les cèl·lules que porta a la formació atípica de teixits anomenats neoplàsies.

<sup>8</sup> Forma més comú de càncer renal durant la infància la majoria de les causes del qual es desconeixen.

<sup>9</sup> Que no constitueix una epidèmia, ataca ocasionalment alguns individus.

Tot i això, la metilació més important és la de citosines seguides de guanines, el que s'anomena dinucleòtids CpG (citosina-fosfat-guanina) o illes CpG.

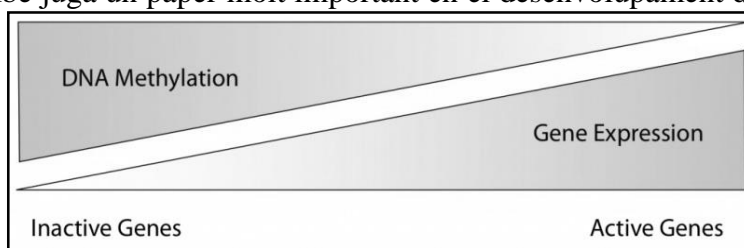
El resultat d'aquesta modificació en l'ADN és l'alteració dels gens que estan expressats en cèl·lules durant el procés de la divisió o diferenciació de cèl·lules mare o embrionàries a cèl·lules d'un teixit determinat. Aquest canvi en l'expressió del gen és potencialment reversible, la qual cosa significa que es poden expressar o no depenent de les condicions externes. Cal dir també que aquest procés de metilació de l'ADN s'atura quan el zigot s'està formant però es torna a activar en la divisió cel·lular durant el desenvolupament.

El procés de metilació és un estat dinàmic que està equilibrat mitjançant la metilació i la desmetilació de l'ADN i es manté durant les diferents generacions gràcies a l'acció dels ADN metiltransferases (DNMTs)<sup>10</sup> referint-nos a metilació aberrant tant si es dona una producció excessiva de grups metil o una deficiència d'aquests.

La importància d'aquest procés ve donada per moltes raons essent essencial en el creixement i desenvolupament i, a més, anant molt lligada a diversos processos epigenètics com l'empremta genòmica ("genomic imprinting"), carcinogènesi, supressió d'elements repetitius i inactivació del cromosoma X.

La metilació de l'ADN, també juga un paper molt important en el desenvolupament del càncer i és el regulador de la transcripció dels gens.

Molts estudis han demostrat que els gens



**Imatge 2: Com afecta la metilació de l'ADN en l'expressió dels gens**

amb una regió que contingui

una elevada concentració de 5-metilcitosina (el grup metil està unit al cinquè àtom de carboni de la citosina) estan silenciats en la seva transcripció (**Imatge 2**). La metilació de l'ADN que es duu a terme de forma anormal o aberrant està associada en l'augment de la taxa de la presència d'un tumor o càncer maligne. De la mateixa manera, la hipermetilació de l'ADN (es metila en més abundància que el que seria normal) es relaciona amb el desenvolupament de càncer mitjançant diversos mecanismes.

<sup>10</sup> Tipus de proteïnes que s'encarreguen d'afegir grups metil als gens activant-los o desactivant-los

A mesura que creixem, l'epigenoma canvia i va perdent aquests grups metil, fet que provoca que les neurones, per exemple, deixin de produir els neurotransmissors necessaris o el cor deixi de bategar amb normalitat. Per tant, s'ha descobert que, per tal d'evitar que els grups metil es perdin o es col·loquin en el lloc incorrecte produint errors, hem de portar una vida sana tenint en compte que els hàbits que duem a terme durant la nostra vida, com l'alimentació, són capaços de deixar petjada sobre el nostre genoma.

### 5.1.1 Illes CpG

La major part de les illes CpG es mantenen lliure de metilació; tot i això, existeixen també illes que es troben metilades de forma habitual que estan localitzades majoritàriament al cromosoma X inactiu de les femelles i al gen inactiu dels gens amb empremta genòmica.

Es poden diferenciar, per tant, tres tipus d'illes CpG segons el seu estat de metilació: aquelles que no es troben metilades, les quals estan associades al que s'anomenen "housekeeping genes"<sup>11</sup>, les que estan diferencialment metilades que, a part de les que he anomenat anteriorment, també es localitzen en els gens específics per a cada teixit ("tissue-specific genes") i les que es troben parcialment metilades i estan en els gens empremtats (genomic imprinting). També se sap que les illes que es metilen en major freqüència són aquelles que no es troben associades a cap promotor, mentre que la majoria de les illes que ho estan, es mantenen lliures de metilació.

A més de les illes CpG metilades en condicions normals, existeixen illes que pateixen una metilació aberrant en cèl·lules somàtiques provocant, per tant, la inactivació del gen associat. És freqüent trobar aquest tipus de metilació en els processos d'envelliment i en el desenvolupament de càncers.

Molts investigadors també han sigut capaços d'observar que en nombrosos casos el desenvolupament tumoral es veu associat amb la metilació aberrant del promotor de gens supressors tumorals, el més conegut dels quals és el RASS. L'acumulació d'aquestes alteracions epigenètiques al llarg de l'envelliment augmenta la probabilitat

---

<sup>11</sup> Tipus de gens els quals duen a terme funcions vitals essencials per la subsistència de la cèl·lula. A més, es troben sempre expressats.

que aquestes tinguin un efecte en l'expressió dels gens supressors tumorals, explicant, per tant, que la incidència del càncer augmenta a mesura que ens anem fent grans.

### 5.1.2. empremta genòmica o “*genomic imprinting*”

L'herència més habitual és rebre dues còpies de gens de les quals una prové de la mare i l'altra del pare, i que a més, estiguin els dos activats a les cèl·lules. Però, encara que normalment els dos pares contribueixin equitativament en el contingut genètic de la seva descendència, existeix la possibilitat que es dugui a terme un procés anomenat empremta genòmica expressant un sol gen que prové només d'un dels dos progenitors.

Els gens que es localitzen en els llocs on hi ha aquest tipus de marques del genoma d'un organisme estan expressats o activats depenent del pare d'origen: alguns gens estan activats només si han estat heretats per la figura paterna i, en canvi, uns altres estan expressats si provenen de la mare. Per tant, depenent de quin progenitor prové el gen tindrà una expressió o una altra. D'aquí ve el terme “empremta” el qual fa referència al fet que alguns cromosomes, segments de cromosomes o gens estiguin marcats amb memòria del pare del qual provenen. Aquesta marca vindrà donada des del moment de la formació de l'òvul o l'espermatozoide del pare d'origen durant el qual un dels dos gens, el del pare o el de la mare, quedarà epigenèticament silenciats. Aquest procés de silenciar, és l'anomenat procés de metilació gràcies al qual els grups metil que s'uneixen a les bases són capaços d'identificar quina còpia del gen ha estat heretada pel pare i quina per la mare.

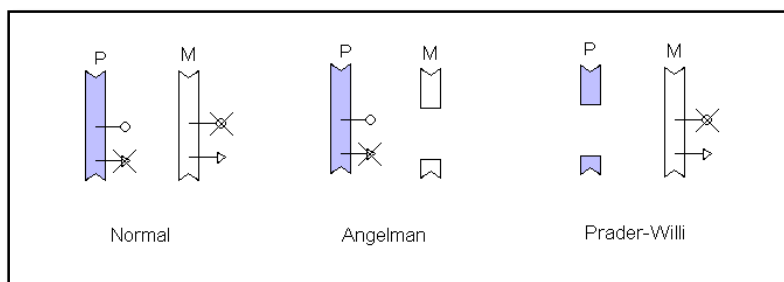
Encara que aquestes marques epigenètiques normalment es mantenen durant la resta de la vida de l'ésser humà, es reajusten durant la formació de l'òvul o l'espermatozoide. Però deixant de banda el fet de si els gens provenen del pare o de la mare, alguns gens estan sempre silenciats en l'espermatozoide i d'altres sempre n'estan, en l'òvul.

Considerant l'efecte que té aquest procés en regions de cromosomes petites o en determinats gens, podríem dir que per molts gens diploides, encara que una còpia del gen que has heretat sigui defectiva disposes d'un altre al·lel provinent del teu altre progenitor; però, en el cas de l'empremta genòmica, encara que hi hagin dues còpies del gen, és com si fóssim haploides per aquell gen perquè només una de les còpies està expressada. Per tant, no hi ha un al·lel substituït, la qual cosa fa que aquell gen sigui més vulnerable als efectes negatius de qualsevol mutació. A més, els gens i les mutacions

que normalment són recessives poden ser expressats si el gen conté una d'aquestes marques epigenètiques, fent que l'al·lel dominant es silenciï.

Existeix la possibilitat de patir certes malalties a causa de la deleció o mutació en gens que contenen aquestes marques epigenètiques. Algunes malalties també poden ser el resultat d'una disomia uniparental (presència en un cariotip d'una parella de cromosomes que tenen el mateix origen matern o patern) quan el gen afectat presenta una empremta genòmica. A més, es poden desenvolupar malalties quan es produeixen mutacions en gens que són responsables d'aquest procés i quan aquest no es dona correctament. Alguns exemples de malalties genètiques causades per les raons esmentades anteriorment són: la síndrome de Prader-Willi, la síndrome d'Angelman, la síndrome de Beckwith-Wiedemann i diversos tipus de càncer.

- **Síndrome de Prader-Willi (SPW):** es tracta d'una condició genètica que afecta moltes parts del cos. Durant la infància, aquesta condició està caracteritzada per la debilitat en els músculs (hipotonia), dificultats en l'alimentació, creixement baix i retard en el desenvolupament. En canvi, al cap d'uns quants anys els individus afectats desenvolupen una gana insaciable la qual porta a menjar en excés (hiperfàgia) i obesitat.
- **Síndrome d'Angelman (SA):** es tracta d'un trastorn genètic que afecta majoritàriament el sistema nerviós. Els trets característics d'aquesta condició inclouen el retard del desenvolupament, discapacitat intel·lectual, impediment per parlar, problemes de moviment i equilibri (atàxia) i un comportament de riure freqüent.



**Imatge 3: Relació entre el Síndrome d'Angelman i el de Prader Willi. S'observa la deleció del gen del cromosoma patern en el primer cas, i el del cromosoma matern en el segon cas.**

- **Per què podem dir que aquestes dues infermetats (SPW i SA) són causades per processos epigenètics?**

Perquè són trastorns neurogenètics que són causats per la pèrdua de funció de gens amb empremtes genòmiques de forma oposada i localitzats a 15q11-q13. Aquesta regió conté com a mínim 7 gens amb aquestes marques epigenètiques, cinc dels quals només s'expressen del cromosoma patern i dos, del cromosoma matern. Això significa que la deleció de gens empremtats del cromosoma patern causen SPW i la deleció de la mateixa regió del cromosoma matern dóna lloc al SA (*Imatge 3*). En altres paraules, aquestes dues malalties es consideren conseqüència de processos epigenètics, ja que els grups metil són capaços d'identificar, tal com s'ha dit anteriorment, de quin pare d'origen prové un gen determinat.

- **Síndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW):** es tracta d'un trastorn genètic caracteritzat majoritàriament per sobrecreixement, neoplàsies (creixement anormal del teixit) i predisposició a patir tumors i malformacions congènites. Les principals conseqüències d'aquesta infermetat és la macrosomia (excés de mida del fetus durant l'embaràs), la macroglòssia (augment de la quantitat de teixit a la llengua) i defectes de la paret abdominal com l'hèrnia umbilical (es dóna quan el múscul pel qual passa el cordó umbilical no es tanca completament després del naixement).

La majoria dels casos d'individus que pateixen aquesta condició es deuen a modificacions epigenètiques, ja que porten a la pèrdua de l'empremta LOI, ("lost of imprinting") d'un grup de gens que es localitzen a una regió amb empremta a 11p15 (alteracions en el cromosoma 11). Aproximadament el 15% dels pacients amb aquesta síndrome tenen una metilació aberrant dels gens H19 i IGF2 i al voltant de la meitat presenten modificacions en la metilació i empremta del gen LIT1.

El que és conegut com la LOI pot implicar hipometilació o hipermetilació depenent del gen en que es dóna lloc en els pacients que pateixen SBW:

- En el cas del gen H19 s'observa hipermetilació que, com a conseqüent, activa el gen IGF2 de forma aberrant.

- El gen LIT1 es troba normalment metilat al cromosoma matern i desmetilat al patern. Però, en els pacients amb la Síndrome de Beckwith Wiedemann, per un defecte en l'empremta, l'al·lel matern es troba hipometilat, la qual cosa porta a la inactivació anormal del gen P57 o CDKN1.

\* En els dos casos esmentats, l'activació del gen IGF2 o la inactivació del CDKN1, les cèl·lules es doten d'un avantatge proliferant que explica l'alta incidència de neoplàsies en aquests pacients. A més, s'ha demostrat que en les persones que pateixen la SBW, la metilació aberrant de LIT1 s'associa a problemes de sobrecreixement i malformacions congènites i les alteracions de metilació de H19 augmenten el risc a patir càncer.

A més, a part de la pèrdua de l'empremta d'un grup de gens, aquesta malaltia també pot ser causada per petites delecions, duplicacions, mutacions específiques en gens de la regió 11p, disomia monoparental, translocacions (modificacions en la ubicació del material genètic) i reordenaments cromosòmics.

### 5.1.3. Inactivació del cromosoma X

A diferència del cromosoma Y, el cromosoma X disposa d'una gran quantitat de gens que participen en diversos processos importants necessaris per créixer i desenvolupar-se de manera sana. Com ja sabem, les dones disposen de dues còpies d'aquest cromosoma en les seves cèl·lules, la qual cosa fa que tinguin dues còpies dels gens que conté aquest cromosoma.

Per altra banda, els homes només tenen una còpia del cromosoma X en les seves cèl·lules i, per tant, una sola còpia dels gens que conté. És per això, que ens podríem formular una pregunta: com és possible que amb aquesta diferent dosi de gens continguts en el cromosoma X no provoquin més grans problemes en el fenotip dels homes?

És en la cerca per una resposta a això que es descobreix que per tal d'ajustar aquest desequilibri entre la informació genètica masculina i femenina, les cèl·lules disposen d'un sistema que assegura que només una còpia de la majoria dels cromosomes X en les

dones estarà actiu; aquest procés rep el nom d' "inactivació del cromosoma X" o "lionització".

La inactivació del cromosoma X, per tant, és un sistema epigenètic que permet que homes i dones tinguin la mateixa expressió dels gens que conté aquest cromosoma encara que la dona en tingui dues còpies i l'home només una. La majoria de gens que es troben en aquell cromosoma que no s'expressa es troben inactius, de manera que així s'assegura que només els gens localitzats en la còpia activa del cromosoma X s'utilitzin en la producció de proteïnes. Per tant, d'aquest fet en traiem la conclusió que en el creixement i desenvolupament dels homes i les dones, només un cromosoma X és necessari.

Aquest procés de silenci dels gens en un dels cromosomes es duu a terme en el desenvolupament embrionari més primerenc dels humans. En cadascuna de les cèl·lules del nostre cos (cèl·lules somàtiques) d'una nena en procés de desenvolupament, un dels cromosomes X passa a ser més curt i més condensat per tal que els seus gens no puguin ser llegits per les cèl·lules. A més, cal dir que aquest procés es produeix a l'atzar fent que una dona pot disposar d'unes cèl·lules en les quals es trobi inactiu el cromosoma X que prové de la mare i en altres, el que prové del pare.

### 5.1.4. Càncer i metilacions

L'epigenètica crea noves fronteres en la recerca del càncer tenint en compte que els canvis epigenètics s'han convertit en mecanismes clau en el desenvolupament del càncer. Cadascun dels canvis en les cèl·lules cancerígenes, com podria ser el procés de silenciar els gens que eviten l'expansió de tumors, l'activació d'oncogenes<sup>12</sup> i errors en la reparació de l'ADN, poden ser causats no només per raons genètiques sinó també per mecanismes epigenètics. Aquestes alteracions genètiques i epigenètiques interactuen en tots els estadis del desenvolupament del càncer treballant conjuntament per tal de promoure l'expansió del càncer.

A més, el coneixement d'aquests canvis epigenètics relacionats amb el punt d'inici d'un càncer, el desenvolupament i la metàstasi és essencial per millorar les habilitats de prevenir, diagnosticar i tractar els tumors. El fet que les alteracions epigenètiques, a

---

<sup>12</sup> Gens alterats per algun agent o causa que poden produir càncer.



diferència de les mutacions genètiques, siguin potencialment reversibles i es puguin restaurar en el seu estat normal per mitjà de teràpia epigenètica fa que les iniciatives terapèutiques siguin molt rellevants.

Tot i això, encara que l'acció de l'epigenètica en el càncer gaudeix del suport d'estudis epidemiològics<sup>13</sup> i experimentals, existeix un gran desconeixement de com contribueixen els mecanismes epigenètics i les cèl·lules diana en aquest tipus de malalties.

Com ja he esmentat en explicacions anteriors, en les cèl·lules sanes, les illes CpG estan generalment no metilades; no obstant això, moltes d'elles s'hipermetilen de forma aberrant en el càncer. Normalment, la hipermetilació de les illes CpG està associada amb la repressió dels gens en què es troben la qual cosa dona lloc a què, si això passa en gens de supressió tumoral, afavoreixen el procés de desenvolupament del càncer.

### 5.1.4.1. Hipermetilació i hipometilació de l'ADN

La hipometilació i la hipermetilació de l'ADN són termes relatius que fan referència a la presència de més o menys metilació que en l'ADN estàndard, el qual aplicat a l'epigenètica del càncer, seria un teixit normal. Existeixen considerables diferències en les quantitats i la distribució dels grups metil entre els diferents teixits dels vertebrats, ja que la metilació de l'ADN no només és específica per a cada espècie, sinó que també ho és en cada teixit. Per exemple, en els extrems de la 5-metilcitosina ( $m^5C$ ) en el contingut d'ADN de teixits somàtics post natal normals, l'ADN del cervell té un 17% més de  $m^5C$  que l'ADN del cor. D'altra banda, podríem dir que aquestes anàlisis estan dutes a terme en òrgans que contenen una mescla de diversos tipus de cèl·lules, però si s'examinessin diferents poblacions pures de cèl·lules diferirien encara més en l'abundància de  $m^5C$  en el seu genoma.

També s'ha descobert que entre la hipometilació i la hipermetilació de l'ADN s'acostuma a donar una coexistència en el mateix tumor però en seqüències

---

<sup>13</sup> Branca de la medicina que estudia la relació que s'estableix entre les malalties que afecten l'ésser humà i els factors externs que les poden provocar o afavorir.

diferents. Fins i tot, en seqüències d'ADN repetides<sup>14</sup> en tàndem, la mateixa mostra de càncer pot presentar hipometilació en un tipus de repetició i hipermetilació en un altre.

Com ja he anunciat anteriorment, els processos de hipermetilació i de hipometilació estan lligats a la carcinogènesi i tenen una interrelació entre ells més que una dependència. A més, comparteixen alguns aspectes dins de l'escàs coneixement que ens porta a aquests canvis epigenètics. En efecte, el càncer està generalment caracteritzat per una inestabilitat en l'epigenoma a nivell de l'ADN (metilació de la citosina) i la cromatina (associació de proteïnes i modificacions i conformacions en la cromatina). Els diferents tipus d'anomalies epigenètiques relacionades amb el càncer poden interactuar entre elles de diverses maneres i, a més, aquestes alteracions van ocasionalment associades a canvis genètics.

### **Hipometilació de l'ADN**

El primer canvi epigenètic que es va descobrir en el càncer humà va ser la pèrdua de grups metil en les seqüències d'ADN, és a dir, la substitució dels residus de la citosina metilada en el carboni 5 per residus d'una citosina no-metilada. Aquesta alteració de la metilació de l'ADN va ser observada en tot el genoma en diversos càncers davant una àmplia varietat de teixits normals. Es va anunciar, a més, que les metàstasis eren més susceptibles als càncers lligats a la hipometilació de l'ADN que als tumors primaris<sup>15</sup>.

La hipometilació dels dinucleòtids CpG del genoma té efecte sobre seqüències molt repetitives i elements de transposició<sup>16</sup> per mitjà de mecanismes com la pèrdua d'empremtes genòmiques o la reactivació de transposons<sup>17</sup> i es creu que dóna lloc a la inestabilitat cromosòmica i augmenta els processos de mutació. La hipometilació d'una gran quantitat d'aquestes seqüències d'ADN repetitives, les

---

<sup>14</sup> Llocs de inestabilitat genòmica que estan caracteritzats per presentar canvis reversibles en la longitud de la seqüència repetida. També s'anomenen "mutacions dinàmiques".

<sup>15</sup> Tumor que s'ha iniciat en una localització concreta del cos.

<sup>16</sup> Mecanisme especial de recombinació en el qual un segment d'ADN pot saltar d'una zona a una altra del genoma.

<sup>17</sup> Seqüències d'ADN que es poden desplaçar cap a diferents posicions del genoma d'una cèl·lula mitjançant un procés anomenat transposició.

quals comprenen aproximadament la meitat del genoma, és en gran part responsable de la hipometilació de l'ADN global que es pot observar tan freqüentment en els casos de càncer.

El genoma sencer d'una cèl·lula cancerosa conté menys metilcitosina que el d'una cèl·lula sana; de fet, els genomes de cèl·lules tumorals presenten un 20-50% menys de metilació en els dinucleòtids CpG. La hipometilació global en aquest tipus de cèl·lules, a causa de la interrupció dels ADN-metiltransferasa (DNMTs), pot provocar una recombinació mitòtica<sup>18</sup> i la redistribució cromosòmica donant com a resultat una aneuploidia<sup>19</sup> quan els cromosomes no se separen correctament durant la mitosi.

Aquest procés de hipometilació està freqüentment observat durant les primeres fases de la carcinogènesi o en teixits no-neoplàstics anormals, com la hiperplàsia<sup>20</sup>. Tot i això, està més pronunciada en la progressió del tumor i en el grau de malignitat d'aquest.

Diversos estudis de carcinogènesi centrats en les dietes deficientes en grups metil d'animals rosegadors s'ajusten al paper que juga la hipometilació en el càncer: la hipometilació global de l'ADN podia ser induït en rates, per exemple, mitjançant una dieta amb deficiència de metils i, si era de manera prolongada, era irreversible al reprendre una dieta normal; aquest fet anava associat a la formació d'un focus hepàtic<sup>21</sup>. Per tant, ha estat comprovat que la nostra dieta pot afectar la metilació de l'ADN i l'expressió d'alguns gens. Un altre exemple en la hipometilació és la dels alcohòlics els quals tenen un dèficit de vitamines que proporcionen aquests grups metil.

---

<sup>18</sup> Tipus de recombinació genètica que es pot dur terme en les cèl·lules somàtiques durant la preparació de la mitosi.

<sup>19</sup> Canvi en el nombre de cromosomes que pot donar lloc a patir malalties genètiques.

<sup>20</sup> Augment de la mida d'un teixit o òrgan com a resultat de l'increment del nombre de cèl·lules.

<sup>21</sup> Petit grup de cèl·lules que es troben al fetge i són diferenciables tant en aparença com en composició química del teixit que l'envolta.

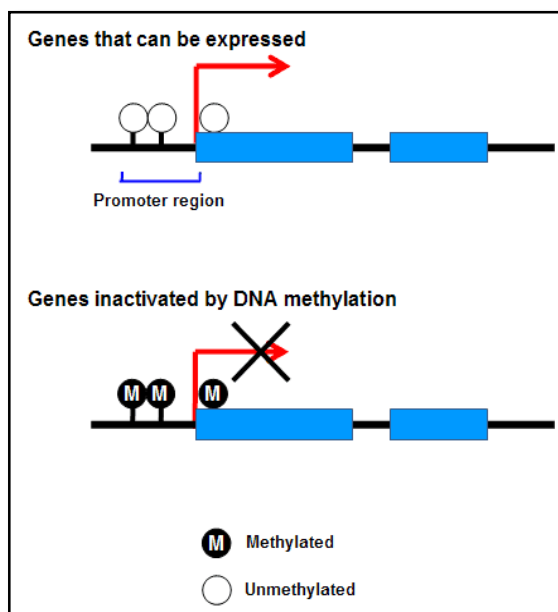
### Hipermetilació de l'ADN:

La hipermetilació dels gens supressors de tumors i d'altres seqüències d'ADN, com les illes CpG, és també un dels trets més freqüents en el genoma del càncer. La hipermetilació de les illes CpG està fortament considerat com un mecanisme important per a la inactivació dels gens essent present, a més, gairebé en tots els tipus de tumors.

Els gens de cèl·lules normals produeixen unes proteïnes que ens protegeixen contra els tumors, barreres contra el creixement tumoral; el que succeeix en els casos de càncer és que aquestes barreres no existeixen perquè s'ha produït una alteració epigenètica que fa que aquestes proteïnes es deixin d'expressar.

Aquestes alteracions són els grups metil que s'afegeixen al gen i el bloquegen, i com a conseqüent, aquest gen ja no ens podrà protegir contra un càncer determinat; en altres paraules, deixen de fer la seva funció normal com a protectora i inhibidora de tumors. *(Imatge 4)*

En les cèl·lules malignes, determinades illes CpG de gens supressors de tumors s'hipermetilen i, a diferència de



**Imatge 4:** Mostra com afecta la metilació dels gens en la seva expressió. El mateix passa amb les proteïnes que ens protegeixen contra el càncer.

l'aparició sobtada de les mutacions genètiques, aquest es tracta d'un procés progressiu. Això, és degut al fet que són necessàries diverses "ones" de metilació desregulada per produir la hipermetilació densa necessària per silenciar transcripcionalment determinats promotors<sup>22</sup> aferrats a les illes CpG.

Plantegem ara una pregunta: com és que determinades illes CpG s'hipermetilen mentre que altres es mantenen sense grups metil en una mateixa cèl·lula

<sup>22</sup> Seqüències d'ADN que determinen on comença la transcripció dels gens per part del ARN polimerasa.

cancerígena? Tal com diu Manel Esteller, el fet que unes illes CpG s'hipermetilen i d'altres no ho facin té la seva explicació en què confereixen un avantatge selectiu per a la supervivència d'una determinada cèl·lula cancerígena.

En els anys recents, els equips d'investigació han anunciat l'augment d'hipermetilació aberrant de les illes CpG en la majoria dels casos de neoplàsia humana tenint en compte només aquelles marques de metilació que no estan presents en les cèl·lules sanes fent possible, d'aquesta manera, la detecció de cèl·lules cancerígenes. Aquestes illes CpG han estat una eina que s'ha utilitzat per detectar cèl·lules cancerígenes en el rentatge broncoalveolar<sup>23</sup>, els ganglis limfàtics, l'orina, el semen, la saliva i rentatge ductal<sup>24</sup>.

### 5.1.2.2.Desmetilació de l'ADN

Prenent la mateixa importància i conjuntament amb la metilació de l'ADN existeix la desmetilació de l'ADN la qual consisteix en l'eliminació d'un grup metil. Aquest procés és necessari per la reprogramació genètica<sup>25</sup> i està també involucrat amb els importants mecanismes en determinades malalties com la progressió tumoral<sup>26</sup>.

Estudis realitzats han establert una relació entre la desmetilació i els estadis més primerencs de la carcinogènesi. La metilació de l'ADN pot ésser eliminada durant el procés de replicació en el cas que les DNMTs (ADN metiltransferases)<sup>27</sup> no afegixin grups metil en el nou bri obtingut; aquest procés és el que pren el nom de desmetilació passiva el qual es dona en bris d'ADN acabats de sintetitzar mitjançant l'acció de la DNMT1 durant la replicació. No obstant això, en diverses ocasions es pot produir el que

---

<sup>23</sup> Tècnica que permet realitzar un anàlisi citològic, químic o microbiològic dels conductes bronquials i alvèols pulmonars.

<sup>24</sup> Tècnica diagnòstica que s'utilitza per detectar el càncer de mama en etapa primerenca.

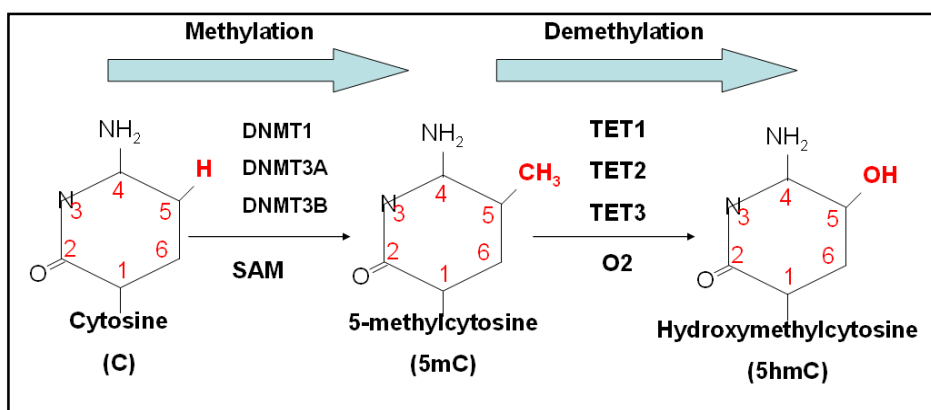
<sup>25</sup> Esborrat i remodelació de les marques epigenètiques com la metilació de l'ADN durant el desenvolupament dels mamífers.

<sup>26</sup> Tercera i última fase del desenvolupament del càncer caracteritzada per l'augment de velocitat i d'invasió de les cèl·lules cancerígenes.

<sup>27</sup> Família d'enzims que tenen la funció de catalitzar la transferència de grups metil a la seqüència d'ADN.

s'anomena una desmetilació activa que consisteix en l'absència de la replicació de l'ADN.

Els mecanismes de desmetilació activa de l'ADN que es donen en les cèl·lules no-replicades han estat evitats durant moltes dècades, fins al moment que es va identificar la 5-hidroximetilcitosina (5hmC) formada a partir de l'oxidació de la 5mC mitjançant l'enzim TET (translocació deu-onze; en anglès conegut com "ten-eleven translocation") (*Imatge 5*). Aquest enzim es va convertir en una nova marca epigenètica que constitueix el primer pas per la desmetilació activa de l'ADN. Estudis posteriors van demostrar que la 5hmC podia ser addicionalment oxidada en 5-formilcitosina (5fC) i en 5-carboxilcitosina (5caC) mitjançant també del TET.

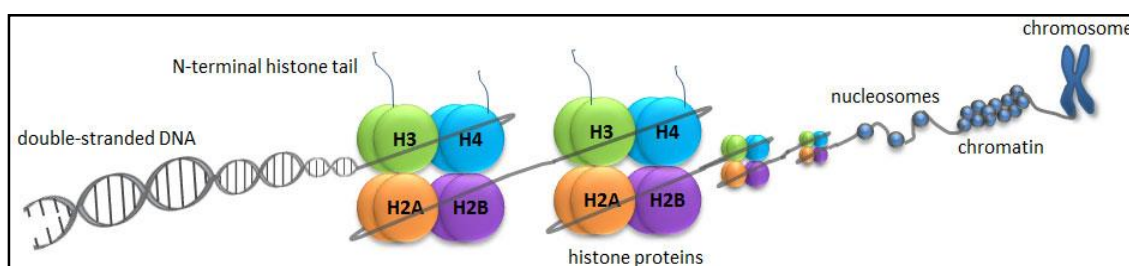


**Imatge 5: Mostra l'acció de l'enzim TET en la formació de la 5hmC.**

El descobriment del TET ha estat un dels majors descobriments recents en epigenètica prenent el nom d'una translocació molt comuna en els càncers la qual es dona entre els cromosomes 10 i 11 creant d'aquesta manera una proteïna anomenada MLL-TET1. Aquestes proteïnes han resultat tenir una funció en l'activació i repressió transcripcional (TET1), supressió tumoral (TET2) i processos de reprogramació de la metilació de l'ADN (TET3).

## 5.2. La modificació de les histones

Les histones són una família de proteïnes bàsiques (H1, H2A, H2B, H3, H4) de càrrega positiva que estan associades amb l'ADN del nucli el qual està carregat negativament i participen en la condensació d'aquest ADN en cromatina i juguen un paper molt important en la divisió cel·lular i en el desenvolupament del càncer. L'ADN nuclear es troba altament condensat i embolcallat al voltant de les histones per tal d'encaixar en el nucli i formar part de la formació dels cromosomes. (*Imatge 6*)



**Imatge 6: Estructura del cromosoma segons la seva condensació.**

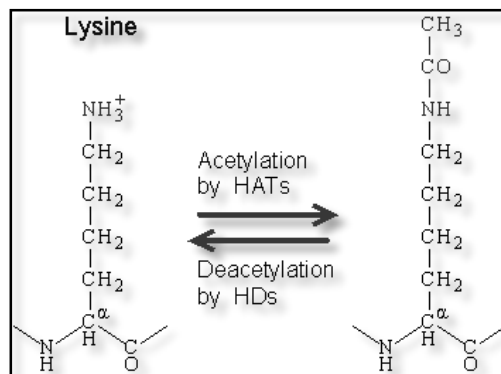
Les modificacions de les histones o modificacions post-translacionals (PTM) actuen en diversos processos biològics tals com l'activació/inactivació transcripcional, l'empaquetament dels cromosomes i els danys/reparació de l'ADN. Encara que les histones no interactuïn amb els enzims polimerasa<sup>28</sup> de forma directa, la seva modificació pot afectar la manera amb què l'ADN s'empaqueta al seu voltant i, a més, l'expressió dels gens. Els tipus més coneguts d'alteracions en les histones són l'acetilació (als residus de lisina) i la metilació (als residus d'arginina i lisina). Aquests dos processos es donen en més abundància en les histones 3 i 4 (H3 i H4) gràcies al fet que disposen d'una gran quantitat de residus de lisina i arginina en els extrems -N.

La detecció quantitativa de diverses modificacions de les histones podria proporcionar informació necessària per a un millor coneixement de la regulació epigenètica dels processos cel·lulars i el desenvolupament de les histones que modifiquen els fàrmacs dirigits a un enzim específic.

<sup>28</sup> Tipus d'enzim que té la funció de crear molècules d'ADN mitjançant la unió de diversos nucleòtids (molècules orgàniques formades per bases nitrogenades, una ribosa o una desoxiribosa i almenys un grup fosfat).

### 5.2.1. Acetilació de les histones H3 i H4 (H3ac, H4ac)

L'acetilació de les histones va ser la primera modificació epigenètica relacionada amb l'activitat biològica que va ser descobert, el qual consisteix en l'addició enzimàtica d'un grup acetil (COCH<sub>3</sub>) de l'acetilcoenzim A (CoAS-COCH<sub>3</sub>)<sup>29</sup> i està estretament implicat en la regulació d'una gran quantitat de processos cel·lulars incloent la dinàmica i la transcripció de la cromatina, la inactivació dels gens, la progressió del cicle cel·lular<sup>30</sup>, l'apoptosi<sup>31</sup>, la diferenciació i la replicació i reparació de l'ADN. A



**Imatge 7: Quan es duu a terme el procés d'acetilació es treu la càrrega positiva afegint COCH<sub>3</sub> mitjançant el HAT, i el procés invers passa en la desmetilació utilitzant el HDAC.**

més, té la funció de desenrotllar l'ADN de les histones per tal de fer-la accessible i que la transcripció dels gens que conté es pugui dur a terme.

Els enzims modificadors que fan de catalitzadors en l'acetilació de les histones es coneixen com histona acetiltransferases (HAT) els quals transfereixen el grup acetil a la regió terminal -C i juguen un paper crític en el control de l'acetilació de l'H3 i l'H4.

L'acetilació dels residus de lisina que es troben en els extrems aminoterminals (-N) de les histones elimina les càrregues positives, reduint, a més, l'afinitat entre histones i ADN. Això permet que l'ARN polimerasa i els factors de transcripció tinguin una millor accessibilitat a la regió promotora raó per la qual en aquests casos s'augmenta la transcripció fent que els gens estiguin expressats i la producció de proteïnes sigui possible; en altres paraules, fomenta una estructura oberta de la cromatina.

No obstant això, els nivells d'acetilació necessaris per facilitar aquesta transcripció són realment baixos: del total dels 28 residus potencials de lisina

<sup>29</sup> Biomolècula de baix pes molecular format per un grup acetil i el coenzim A.

<sup>30</sup> Seqüència de fenòmens que tenen lloc en la vida de la cèl·lula, des que s'origina fins que es divideix per donar lloc a dues cèl·lules filles.

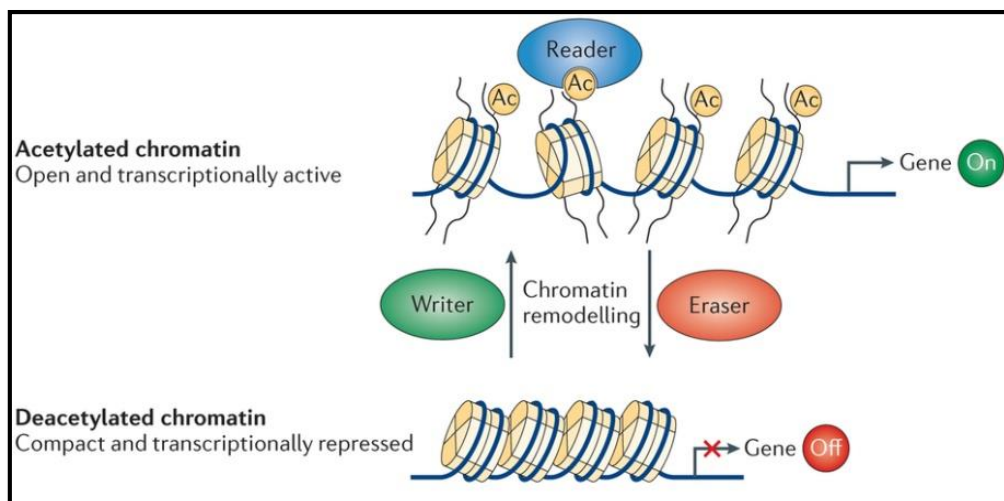
<sup>31</sup> Destrucció o mort cel·lular programada.



que poden ser modificats per cada octàmer d'histones, amb només 12 d'acetilades s'augmenta fins a 15 vegades més la transcripció.

Les histones associades als nucleosomes dels gens actius o expressats són rics en grups acetil els quals es diu que es troben hiperacetilats; en canvi, els gens inactius estan hipoacetilats.

Tanmateix, aquest procés d'acetilació ens serveix com a exemple claríssim per mostrar que les modificacions epigenètiques són reversibles, ja que utilitzant un altre enzim anomenat histona desacetilasa (HDAC) duu a terme el procés invers, la desacetilació, que consisteix en treure el grup acetil que s'ha afegit anteriorment per tal de tornar a enrotllar la cadena d'ADN (*Imatge 7*)(*Imatge 8*).



**Imatge 8:** Mostra com es duu a terme els processos d'acetilació i de desacetilació: en el primer cas, el gen està expressat ja que se li ha afegit el grup acetil i s'ha desenrotllat, mentre que en el segon el gen està inactiu i no n'és possible la transcripció.

**Però, quin paper juga l'alteració de l'estructura de la cromatina per una acetilació no regulada en el càncer?**

Es disposa del coneixement que una acetilació no regulada o un desequilibri d'aquesta pot originar malalties neoplàsiques com la leucèmia. De fet, un gran nombre de les translocacions cromosòmiques que generen proteïnes de fusió en els casos de leucèmia contenen dominis<sup>32</sup> d'acetiltransferases.

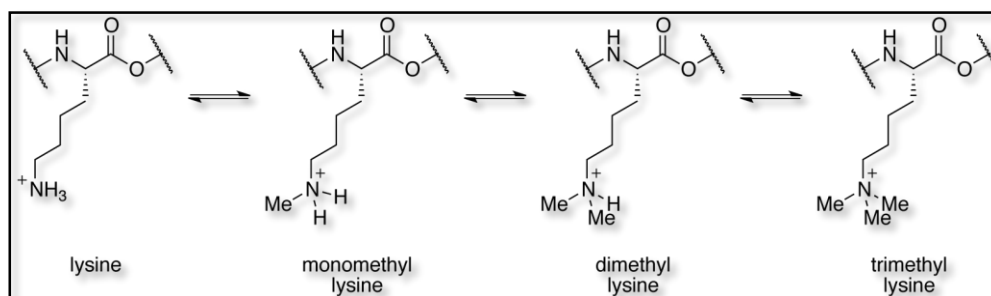
Les HDACs duen a terme dues funcions oposades entre elles en el desenvolupament del càncer: per una banda, participa d'una manera molt

<sup>32</sup> Regió d'una proteïna en la qual duu a terme una característica distintiva.

important en la inactivació transcripcional dels gens supressors de tumors fet que és evident en els estudis que utilitzen inhibidors farmacològics de l'activitat de l'HDAC en les teràpies per al càncer; per altra banda, la dependència dels mecanismes supressores de tumors en la funció de les HDAC.

### 5.2.2. Metilació de les histones

La metilació de les histones és la transferència d'un, dos o tres grups metil des de la S-adenosil-L-metionina (SALM)<sup>33</sup> als residus d'arginina o lisina (**Imatge 9**) de les histones mitjançant l'acció de les histones metiltransferases (HMTs). Les HMTs tenen el paper de controlar o regular, com ja he dit anteriorment, la metilació de l'ADN amb l'activació o repressió dels gens en la transcripció. En el nucli de la cèl·lula, quan es dona la metilació de les histones, determinats gens poden ésser silenciats o activats.



**Imatge 9: Mostra els tres tipus de metilació en una lisina.**

Existeixen algunes histones metiltransferases específiques pel residu de lisina o arginina al qual modifiquen. En la histona H3, per exemple, SET1, SET7/9, Ash1, ALL-1, MLL, ARL, Trx i SMYD3 són les que catalitzen la metilació de la histona H3 en la lisina 4; aquestes s'anomenen H3-K4. En canvi, la ESET, H9a, SUV39-h1, SUV39-h2, SETDG1, Dim-5 i Qu-HMTasa són les histones metiltransferases que fan l'acció de catalitzadores en la metilació de la histona H3 lisina 27 (H3-K27). Un altre cas en són la G9a i els grups de proteïnes

<sup>33</sup> Coenzim que participa en la transferència de grups metil el qual es compon d'adenosina-trifosfat (ATP) i metionina.

“polycomb”<sup>34</sup> com la EZH2 són les que catalitzen el procés de metilació de la histona H3 en la lisina 27 (H3-K27). Tant la metilació de la H3-K9 o la H3-K27 participen en la formació de l’heterocromatina<sup>35</sup> i en el procés de silenci de l’expressió dels gens en l’eucromatina<sup>36</sup>. A més, l’augment global de la metilació de la H3-K27 s’ha trobat que juga un paper en alguns processos patològics tals com la progressió del càncer.

Per altra banda, la metilació de l’arginina en les histones H3 i H4 afavoreix l’activació transcripcional mitjançant una família de proteïnes anomenades arginina metiltransferases (PRMTs) de les quals n’hi ha diversos tipus entre les quals n’hi ha que estan fortament implicades en malalties com el càncer.

La metilació de les histones és crucial per a una programació adequada del genoma durant el desenvolupament i la regulació deficient de la metilació pot conduir a estats de malalties com el càncer. De fet, la detecció de l’activitat o inhibició de les PRMTs i les HMTs seria essencial en la investigació de la regulació epigenètica de l’activació i inactivació dels gens, així com beneficiar el diagnòstic del càncer i al seu tractament.

### 5.3. ARN no-codificant

El terme d’ARN no codificant (conegut en anglès com “non-coding RNA” o ARNnc) s’utilitza per designar aquell ARN que no codifica per a proteïnes, fet que no significa que no contingui informació o dugui a terme una funció. Expressat en altres paraules, són molècules funcionals d’ARN que estan transcrites a partir de l’ADN però que posteriorment no estan traduïdes en proteïnes. Encara que normalment s’ha afirmat que la majoria de la informació genètica estava transcrita mitjançant les proteïnes, estudis recents han demostrat que la majoria dels genomes dels mamífers i d’altres organismes complexos estan transcrits en ARNnc. Aquest tipus d’ARNs semblen comprendre una capa amagada de senyals internes que tenen la funció de controlar diversos nivells en l’expressió genòmica en fisiologia i desenvolupament els quals inclouen la memòria

---

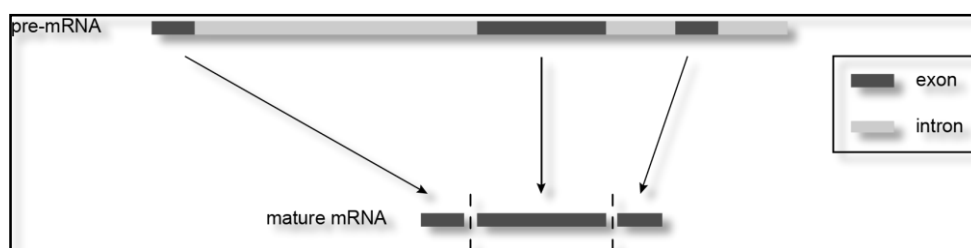
<sup>34</sup> Família de proteïnes que poden alterar la cromatina tot silenciant els gens epigenèticament.

<sup>35</sup> Tipus de cromatina que no es descondensa durant el procés de la interfase.

<sup>36</sup> Tipus de cromatina que es descondensa durant el procés de la interfase.

epigenètica, la transcripció i l'empalmament<sup>37</sup>, l'edició<sup>38</sup> i la translació del ARN<sup>39</sup>. Les xarxes de regulació de l'ARN determinen la majoria de les nostres característiques, juguen un paper molt significatiu en les malalties i constitueixen un món desconegut de variació genètica dins i entre les diverses espècies.

El principi central de la biologia molecular és que la funció més rellevant d'aquest tipus d'ARN és el d'intermediari d'informació entre la seqüència d'ADN (gen) i la proteïna en la qual codifica. Per això, s'ha cregut que gran part de la informació genètica és expressada com a proteïnes, les quals no només compleixen diverses funcions estructurals, sinó que també regulen l'activitat del sistema de diverses maneres; de manera que les extenses seqüències en eucariotes que no codifiquen proteïnes han estat considerades com simples ruïnes acumulades evolutivament.



**Imatge 10: Procés d'empalmament en el qual s'uneixen els exons que anteriorment estaven separats per formar l'ARNm madur.**

L'ARN no codificant, en general, regula l'expressió dels gens tant a nivell transcripcional com post-transcripcional<sup>40</sup>. Aquests ARNnc que semblen estar implicats en processos epigenètics es divideixen en dos grups principals: els ARNnc petits i els ARNnc llargs. Els tres tipus majoritaris d'ARNs curts no codificants són el microARN, el petit ARN d'interferència (siARN) i l'ARN associat a Piwi (Piwi-ARN o piARN).

<sup>37</sup> Anomenat en anglès "splicing". Modificació que es produeix en la transcripció del pre-ARNm (ARN missatger) en el qual les seqüències d'introns s'eliminen i les d'exons són unides entre elles per tal de formar l'ARNm final que es traduirà en una proteïna. **(Imatge 10)**

<sup>38</sup> Procés mitjançant el qual algunes cèl·lules poden realitzar algunes modificacions discretes en la seqüència d'una molècula d'ARN després de ser sintetitzada per una ARN polimerasa. Aquests canvis inclouen la inserció, la deleció i la substitució de nucleòtids.

<sup>39</sup> Procés en el qual l'ARNm és llegit segons el codi genètic i, posteriorment, constitueix una seqüència d'aminoàcids. Cada tres bases en l'ARNm constitueix un codó, i cada codó codifica per un aminoàcid determinat.

<sup>40</sup> Procés de control de l'expressió dels gens a nivell d'ARN, entre la transcripció i la traducció o translació d'aquests gens.

D'aquestes tres darreres aportaré més informació sobre el microARN perquè és el que té més importància en les modificacions epigenètiques que tenen efecte en el càncer.

### 5.3.1. MicroARN

Des del moment del seu descobriment a principis del 2000, el microARN ha agafat a la comunitat científica per sorpresa. La pròpia naturalesa de l'acció d'aquesta molècula, l'habilitat d'extingir l'expressió de grans quantitats de gens i negar les seves funcions simultàniament, immediatament va suggerir una promesa terapèutica.

Un dels punts més fascinants d'aquesta història és la capacitat del microARN per desenvolupar organismes que dirigeixin l'expressió d'una àmplia multitud de gens per tal d'aconseguir la formació dels diferents teixits i òrgans necessaris per viure malgrat el fet que cada cèl·lula disposa del mateix material genètic.

Una explicació òbvia és que cada teixit té els seus propis factors transcripcionals que regulen l'expressió i el desenvolupament dels gens específics per a cada teixit. Amb el descobriment de l'epigenètica se sap que els promotors de molts gens, incloent-hi els factors transcripcionals, poden ser encesos o apagats durant els primers estadis del desenvolupament mitjançant modificacions covalents de la cromatina. Descobriments més recents dels microARN han afegit més complexitat en aquest àmbit proposant que la programació epigenètica dels factors transcripcionals específics i el microARN defineixin l'especificitat de cada teixit durant el desenvolupament.

Aquest tipus d'ARN no-codificant format per només 22 nucleòtids constitueix un descobriment recent que juga un paper molt important en l'expressió dels gens actuant a nivell post-translacional. Per tenir una idea de la seva gran importància en el genoma humà, aquesta molècula regula l'expressió d'un 30% entre tots els nostres gens codificadors de proteïnes.

Aquesta molècula dóna lloc a la inactivació dels gens mitjançant la seva unió en la regió 3'UTR<sup>41</sup> de l'ARNm que ens interessa. Aquesta interacció evita la producció de

---

<sup>41</sup> Conegut en anglès com “three prime untranslated region”, per tant, és la secció del ARNm la qual no està traduïda i, a més, es troben immediatament després de l'últim codó traduït.

proteïnes tot inhibint la traducció del ARNm i/o iniciant la degradació del ARNm. A més, el microARN s'ha demostrat que està involucrat en una gran varietat de processos biològics entre els quals hi ha el cicle de control de la cèl·lula, l'apoptosi i diversos processos de desenvolupament i fisiològics que inclouen la diferenciació de les cèl·lules a partir de la cèl·lula embrionària, hematopoesi<sup>42</sup>, hipòxia<sup>43</sup>, desenvolupament del múscul cardíac i esquelètic, neurogènesi<sup>44</sup> i secreció d'insulina entre d'altres.

Parlant de la importància d'aquesta molècula en la salut de l'individu he de mencionar que el microARN també està implicat en un gran nombre de malalties entre les quals es troba una àmplia gamma de càncers, malalties del cor i malalties neurològiques. És per això que el microARN està sent estudiat com a possible candidat a ser un biomarcador i un factor predictiu a la resposta als fàrmacs.

Continuant en el camí del càncer, la desregulació del microARN és una característica comuna en el càncer humà. De fet, gràcies a avenços recents en l'anàlisi de l'epigenoma del càncer se sap que les alteracions epigenètiques, incloent-hi una metilació aberrant de l'ADN i la modificació de les histones, són unes de les majors causes d'aquesta desregulació. A més, la llista dels gens silenciats pel microARN quan es troba associat amb les illes CpG hipermetilades està creixent ràpidament i, diversos oncomiRs<sup>45</sup> se sap que són desregulats mitjançant la hipometilació de l'ADN. La modificació de les histones també ocupa un lloc molt important en aquesta desregulació, ja que la desacetilació de les histones i el guany de marques d'aquestes estan fortament associades amb el procés d'inactivació del gens del microARN.

Al revés, la desregulació del microARN està relacionada amb alteracions epigenètiques en el càncer, ja que la metilació aberrant dels gens d'aquestes molècules d'ARN és un biomarcador útil per detectar càncer i predir-ne les conseqüències. Atès que molts dels microARN silenciats semblen actuar com a supressors tumorals mitjançant la focalització dels oncògens, la re-expressió del microARN podria ser una aproximació a

---

<sup>42</sup> Procés de formació, maduració i pas a la sang dels diferents tipus de cèl·lules sanguínies.

<sup>43</sup> Condició patològica en la qual hi ha una manca de subministrament d'oxigen, tant a nivell de tot el cos com en una regió del cos determinada.

<sup>44</sup> Procés de producció de noves neurones en el sistema.

<sup>45</sup> També anomenats en anglès "oncogenic miRNA" Tipus de microARN el qual està associat amb el càncer.

la teràpia del càncer i el descobriment de la relació existent entre les alteracions epigenètiques i la desregulació del microARN podria conduir al coneixement de noves dianes terapèutiques (“therapeutic targets”).

### 5.3.1.1. Reexpressió del microARN

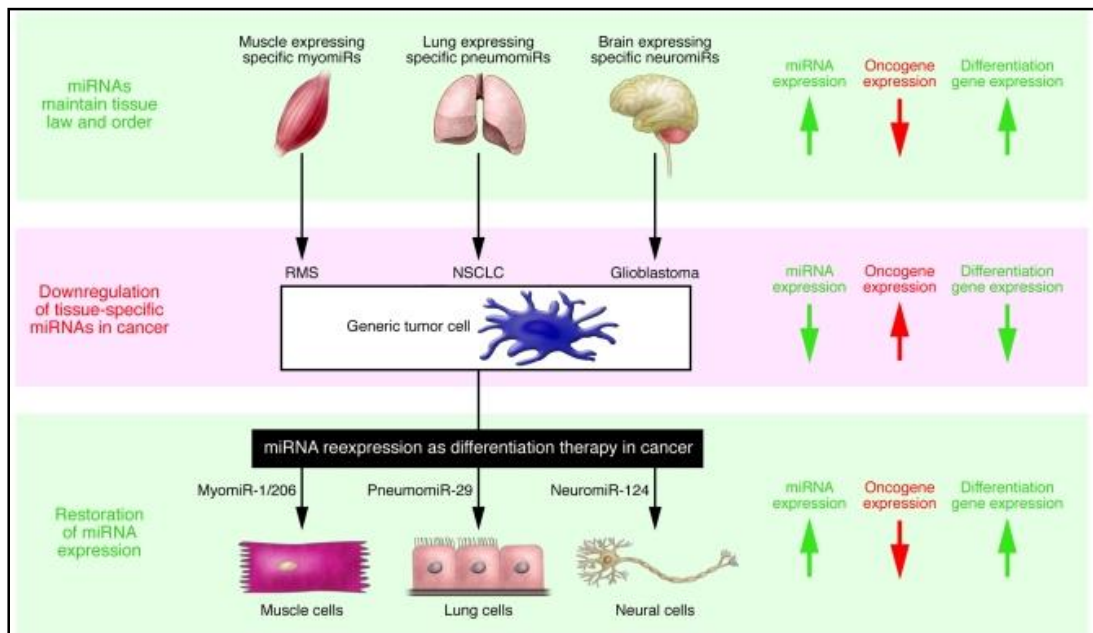
El descobriment del microARN ha incorporat una nova dimensió en la teràpia contra el càncer i, gràcies a què l’expressió d’aquest tipus d’ARN sembla ser alterada en moltes malalties humanes, incloent-hi el càncer, la seva revolució també ha establert les bases per la “teràpia de la reexpressió del microARN”. La reexpressió del microARN perdut en una cèl·lula pot tenir un efecte dramàtic perquè aquestes molècules regulen un gran nombre de gens entre el qual es troben els oncògens i els supressors tumorals.

El que es dona en els casos de càncer és que els oncògens són més actius provocant que la cèl·lula cancerígena rebi senyals per dividir-se i sobreviure. Desafortunadament, a més, els supressors tumorals, que actuen de forma oposada a com ho fan els oncògens, ja que indiquen a la cèl·lula el moment en què ha de parar de dividir-se o que ha de morir, en el càncer aquests gens reben mutacions que els fan inactius ja sigui perquè han estat eliminats del genoma o perquè aquesta mutació fa que la proteïna que codifiquen es converteixi en inactiva o no funcional.

Encara que molt pocs microARNs estan sobreexpressats en el càncer, un gran nombre de microARN hi estan “downregulated” tenint, d’aquesta manera, el poder per actuar com a supressors tumorals. La reexpressió i “downregulation” del microARN s’han demostrat tenir efectes antitumorals; per tant, el fet de silenciar un microARN oncogènic permetria la reexpressió dels supressors tumorals mentre que aquesta reexpressió podria “downregulate” múltiples oncògens.

Dit en altres paraules, diversos microARN poden ser per ells mateixos oncògens o supressors tumorals i una aberrant expressió d’aquestes molècules està involucrada en la iniciació de moltes malalties com el càncer. Aquest fet té la seva explicació en què, com que el microARN controla l’expressió dels gens, té

la capacitat de reprimir l'acció del supressors tumorals la qual cosa el convertiria en un oncogen i, de la mateixa manera, el microARN pot inactivar els oncògens i passar a ser gens supressors de tumors. Per tant, la reexpressió en els gens específics de cada teixit del microARN, podria portar a la desdiferenciació del càncer. (Imatge 11)



Imatge 11: Ens mostra com es dona el procés de la reexpressió del microARN en els casos de càncer.



## 6. FACTORS EXTERNS QUE PROVOQUEN CANVIS EPIGENÈTICS (EPIDEMIOLOGIA)

Tots els càncers existents es donen per una predisposició hereditària escrita en els nostres gens? Com ja hem pogut comprovar amb anterioritat, la resposta seria que no, ja que a més d'aquest factor també hi poden intervenir el medi ambient que ens envolta i els hàbits i estils de vida que portem. D'aquesta manera podem explicar, doncs, per què els clons, que encara que disposin dels mateixos gens, el seu ADN ha estat modificat per factors ambientals diferents.

Sempre s'ha cregut que les bases genètiques eren les que definien determinades malalties com l'asma, la diabetis i el càncer però aquest camp ha donat un tomb molt important gràcies a l'epigenètica amb la qual es demostra que no tota la causa es troba en els nostres gens en si, sinó que posa de manifest que aspectes del nostre estil de vida juguen un paper essencial en la determinació del comportament i expressió d'aquests gens; de manera que, tenim a les nostres mans el fet de patir o no unes certes malalties a través dels hàbits que configuren el nostre estil de vida. Alguns d'aquests hàbits associats a alteracions epigenètiques estan relacionats amb la nostra alimentació, el consum d'alcohol o tabac, el medi on vivim i la pràctica d'exercici físic.

Encara que els canvis provocats per factors ambientals es donen en gairebé totes les cèl·lules i en qualsevol època de la nostra vida, el moment en què aquesta influència és major és durant l'època prenatal, postnatal i educativa dels nens. Aquest fet ens obra un ventall de possibilitats referents a la infància, el desenvolupament infantil i la prevenció i teràpia de malalties.

**Quins són aquests efectes o factors ambientals causants de modificacions epigenètiques?**

### 6.1. Alimentació

#### 6.1.1. Alimentació en les embarassades

Un dels moments clau en la influència de l'exposició ambiental, com ja hem dit anteriorment, és l'embaràs, per tant, mitjançant diversos estudis epidemiològics s'ha

comprovat una relació existent entre el tipus de nutrició materna durant aquesta època i determinats efectes a curt o llarg termini tals com el retard de creixement intrauterí, l'obesitat i la diabetis. D'aquesta manera, una dieta rica en àcids grassos poliinsaturats podria provocar modificacions epigenètiques sobre substàncies inflamatòries implicades en processos cancerígens. Així mateix, una dieta pobra en àcid fòlic, el qual es troba en aliments com verdures de fulla verda i llegums, i Vitamina B<sub>12</sub> pot comportar greus problemes en l'estat de salut del futur nadó. D'altra banda, uns hàbits alimentaris rics en fruita i verdura poden proporcionar certa protecció contra el càncer.

Segons estudis recents, persones exposades a restriccions calòriques en el moment que es troben en l'úter de la mare tenen més probabilitats de patir malalties cròniques com la diabetis, trastorns cardiovasculars i obesitat durant la seva vida. La resposta a la causa d'aquests efectes i la seva duració durant tota la vida d'una persona i fins i tot la seva transmissió en les diferents generacions es troba en les adaptacions epigenètiques que es duen a terme en el fetus com a resposta a la poca disponibilitat de nutrients. Aquestes persones tenen un nivell inferior de metilació en un gen que juga un paper molt important en el metabolisme de la insulina. Aquest fet implica que, encara que les modificacions epigenètiques siguin reversibles, els canvis que es produeixen durant el desenvolupament embrionari poden persistir durant la vida adulta i inclús fins a diverses generacions.

El paper crucial de l'alimentació en l'activació o desactivació dels nostres gens està sent investigat actualment a Amsterdam a través d'un dels capítols més durs d'aquesta ciutat: a l'hivern de 1944-1945, les forces alemanyes van bloquejar el subministrament d'aliments com a càstig pels holandesos fent, d'aquesta manera, que la ingesta de la població baixés a menys de 1000 calories diàries. Aquesta situació va durar quasi sis mesos en els quals van morir milers de persones; a més a més, els nens i les dones embarassades van resultar especialment afectats.

Això és el que ha estudiat la Dra. Tessa Roseboom la qual ha anat examinant les dones que estaven embarassades en aquella època estudiant d'aquesta manera els efectes a llarg termini dels problemes de malnutrició: ha realitzat un estudi que consisteix en el seguiment de l'estat de salut d'aquells nadons que van néixer abans, durant i després del període de fam fins a l'edat adulta i la comparació entre ells. Evidentment, alguna cosa

en el demacrat estat del cos dels nadons nascuts durant aquests sis mesos va guardar informació sobre la mala alimentació per a la resta de la seva vida.

Quina és la raó, per tant, dels greus efectes que ha tingut aquest fet si els gens dels afectats no van ser modificats? La resposta rau en l'activació i desactivació de determinats gens en aquests nadons i les següents generacions i en què l'epigenètica dóna memòria a les cèl·lules en les que deixa marques molt estables la qual cosa fa que uns anys després puguin propagar aquesta memòria dels primers anys de vida.

### 6.1.2. Alimentació en la vida adulta.

La dieta també afecta d'una manera important a l'epigenètica en l'edat adulta. En el menjar es troben molts i molt diversos components amb un potencial més o menys elevat per provocar canvis epigenètics en les persones. Són molts els efectes que deriven d'una mala alimentació perquè, segons s'ha comprovat en moltes investigacions científiques, els aliments que ingerim en la nostra dieta fan que els nostres gens s'activin o es desactivin.

En un experiment realitzat pel Doctor Manel Esteller es comparen dues bessones univitel·lines per tal de constatar que, encara que disposen dels mateixos gens durant tota la seva vida, els hàbits de vida que han portat, en especial l'alimentació, han provocat uns canvis en la metilació del seu ADN. Aquest experiment es va dur a terme en dues fases diferents: per una part se'ls va fer respondre un qüestionari sobre el seu estil de vida (quin tipus d'aliments consumien, si eren fumadores o no...) i, al mateix temps, es disposava de les seves dades d'ADN en les quals es podia percebre l'estat complet de metilació en cadascuna. Així, van ser capaços de veure que les dues bessones presentaven diferències en la metilació del seu ADN pel seu diferent estil de vida i alimentació.

Els dramàtics efectes que poden tenir els gens desactivats pels aliments es poden percebre en estudis realitzats amb animals com els ratolins. Si disposem d'una parella d'aquests animals genèticament idèntics, som capaços de canviar el color de la seva pell si, per exemple, afegim més productes de soja a la seva dieta. Aquest fet és deu a què les hormones de la soja fan que canviïn els gens responsables del color de la pell o del pelatge. Els individus de ratolins que disposen del gen agutí actiu tenen un pelatge grogós i tenen més probabilitat de patir obesitat; tot i això, la metilació de l'ADN és

capaç d'apagar aquest gen. Si un ratolí femella embarassada que té el gen agutí rep uns suplementes dietètics diaris capaços d'alliberar grups metil, els gens agutí es metilaran i, com a conseqüent, es desactivaran. Per tant, aquests cadells, encara que disposin del gen agutí en perdran el seu fenotip i passaran a tenir un pelatge marró i no presentaran una major predisposició a patir obesitat.

Però, com poden, aquests resultats obtinguts amb ratolins, ser aplicats als humans? Els aliments que consumim diàriament poden afectar d'una manera semblant als nostres gens? Un grup ètnic de l'Índia Meridional que no menja cap aliment de naturalesa animal a causa de les seves conviccions religioses ens dóna una pista per resoldre aquesta pregunta: tant els nens com els adults tendeixen a tenir una salut perfecta malgrat que la higiene sigui inadequada i és que, segons els models Occidentals, la seva dieta sembla proporcionar-los tot allò que necessiten. Això no obstant, algunes d'aquestes famílies van emigrar a Europa i van continuar menjant de la mateixa manera que al seu país però, tot i això, molts d'ells van començar a emmalaltir de seguida. La raó es troba en què les verdures rentades d'una forma meticulosa no contenen el bacteri que subministra als vegetarians de l'Índia la Vitamina B<sub>12</sub> la qual té una importància epigenètica molt gran.

Un altre fenomen epigenètic que ens aporta consciència de la gran significació que té l'alimentació en el nostre dia a dia es va descobrir a Japó la qual és una ciutat molt industrialitzada i activa; es coneix com "la paradoxa japonesa". Malgrat els estils de vida que es duen a terme en aquesta ciutat, aquest país té una incidència més baixa de càncer que altres països amb característiques semblants. La solució a l'enigma la conté el te verd, ja que aquesta infusió està tan estesa pel Japó que el seu consum disminueix molt significativament l'estadística de casos de càncer. Aquesta substància té la capacitat de reactivar un determinat gen que, amb el pas dels anys, tendeix a tornar-se inactiu: el te verd elimina els grups metil dels gens desactivats i el que fa, simplement, és activar-los de nou; d'aquesta manera, els gens reactivats comencen a produir les substàncies pròpies del cos que lluiten contra el càncer .

Cada malaltia pot tenir un component epigenètic molt important, ja que pràcticament tots els gens estan regulats per marques epigenètiques. Però, les modificacions d'aquest tipus també són les responsables de les malalties mentals? Noves investigacions proposen que les causes de l'esquizofrènia, les quals continuen sent incertes, poden ser

de naturalesa epigenètica. De nou, ens trasllem a una situació de desastre extrem per tal de percebre aquests canvis i les seves causes: a finals dels anys 50 a Xina es va decretar que tant homes com dones havien de treballar en la producció d'acer. Aquest fet va portar a una degeneració dels camps de cultiu fent, llavors, que la gent, desesperada, comencés a menjar l'escorça dels arbres. La conseqüència de tot això va ser la mortalitat de més de 15 milions de persones i l'augment de la tendència d'esquizofrènia en les generacions posteriors.

Aquesta situació concorda amb un estudi realitzat a Dinamarca en el qual s'afirma que els nens nascuts durant els mesos d'estiu tenen una probabilitat molt més baixa de patir esquizofrènia que els nascuts durant l'hivern perquè la qualitat del menjar en aquest període és menor que durant l'estiu. Per mitjà dels aliments que consumim, per tant, podem regular en gran mesura l'activitat enzimàtica o inclús activar o desactivar determinats gens.

L'epigenètica va començar estudiant el càncer, però actualment es té la certesa que aquesta és aplicable a altres malalties o trastorns mentals com l'Alzheimer o les malalties cardiovasculars. Segons Manel Esteller, aquest fet constituirà la nova frontera en l'estudi de les malalties humanes.

### 6.1.3. Àcid fòlic i Vitamina B<sub>12</sub>.

L'àcid fòlic col·labora amb la Vitamina B<sub>12</sub> i la Vitamina C per tal d'ajudar al cos a descompondre, utilitzar i crear noves proteïnes, a més a més, té la funció de sintetitzar, reparar i metilar l'ADN, actuar com a cofactor en determinades reaccions biològiques i és especialment important en la ràpida divisió cel·lular i el creixement (en la infància i l'embaràs sobretot). Aquest àcid és un tipus de vitamina B<sub>9</sub> hidrosoluble la qual cosa significa que no es pot emmagatzemar en els teixits grassos del nostre cos; les quantitats que sobren d'aquesta vitamina s'expulsen mitjançant l'orina.

#### 6.1.3.1. Àcid fòlic i Vitamina B<sub>12</sub> en embarassades

Les dones embarassades necessiten obtenir una quantitat suficient d'àcid fòlic, ja que aquesta vitamina juga un paper molt important en el desenvolupament de la medul·la espinal i el cervell del fetus. La deficiència d'aquest àcid fòlic, per tant, pot donar lloc a

anomalies congènites conegudes com a “defectes del tub neuronal”<sup>46</sup> i a un augment en el risc de desenvolupar un càncer de còlon.

Les mares que pateixen vòmits extrems durant el procés d'embaràs, tindran, com a conseqüent, un dèficit d'àcid fòlic i Vitamina B<sub>12</sub>; per tant, en aquests casos seran necessàries unes aportacions extres d'aliments rics en folats com les albergínies i les mongetes, les quals participen en els processos de metilació i activitat genètica. Una dieta deficitària en donadors de grups metil pot portar a una major probabilitat de patir una malaltia cardiovascular, un càncer o trastorns neuropsiquiàtrics al futur nadó. A més, també es poden produir complicacions epigenètiques en el desenvolupament fetal i postnatal, una major vulnerabilitat a l'obesitat, Síndrome Metabòlic, HTA (hipertensió arterial), malalties cardiovasculars i diabetis de tipus II.

Una deficiència d'àcid fòlic durant l'embaràs també pot augmentar el risc que es produeixi un part prematur, un baix pes en el moment del naixement del nadó, un retràs en el creixement fetal i un augment del nivell d'homocisteïna en sang, la qual cosa pot donar lloc a un avortament espontani i complicacions en l'embaràs com el desprendiment de la placenta i la preeclàmpsia<sup>47</sup>.

És per això que, a les dones que tenen la possibilitat o la intenció de quedar-se embarassades se'ls aconsella menjar aliments fortificats en àcid fòlic o suplementes d'aquest, a més de consumir aliments rics en folat per tal de disminuir el risc que es produeixin defectes en el naixement dels nadons.

A més, com ja he mencionat anteriorment, aquests efectes provocats per modificacions epigenètiques no es queden només en la generació que les ha sofert sinó que s'ha descobert que la deficiència d'àcid fòlic pot afectar a generacions futures (fins a les cinc generacions posteriors) causant en elles greus problemes de salut com els explicats més amunt.

Seguint en aquesta línia, al principi, els especialistes havien centrat la seva investigació en les mutacions genètiques les quals interrompen el procés de descomposició i

---

<sup>46</sup> Anomalies severes del sistema nerviós central que es desenvolupen en els nadons durant les primeres setmanes de l'embaràs les quals porten a malformacions en la columna vertebral, el crani i el cervell.

<sup>47</sup> Trastorn de l'embaràs caracteritzat per una pressió arterial alta i gran quantitats de proteïna en l'orina.

metabolisme de l'àcid fòlic afirmant d'aquesta manera que la deficiència d'aquest element en la dieta pot tenir un impacte multigeneracional. En aquestes investigacions es va descobrir que si els avis patien una mutació genètica específica anomenada "mtrr" (causant de la deficiència d'àcid fòlic), els néts que estaven sans i tenien els nivells d'aquest àcid correctament encara tenien un risc de patir una sèrie d'anomalies en el seu desenvolupament. I és que, la causa d'aquesta transmissió transgeneracional no es troba en els marcadors genètics, sinó que els investigadors han posat especial atenció a uns marcadors de risc epigenètics.

### 6.1.3.2. Àcid fòlic en l'edat adulta

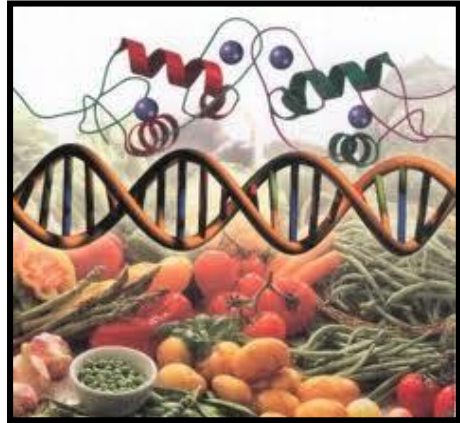
Moltes de les cèl·lules cancerígenes necessiten altes dosis d'àcid fòlic a causa de la sobreexpressió del receptor d'aquest àcid. Per aquest descobriment s'ha proposat, per una banda, que els bons nivells d'àcid fòlic poden tenir un paper molt important en la prevenció i menor risc en el càncer d'esòfag, d'estómac i d'ovaris, tot i que aquests beneficis aportats per l'àcid fòlic contra el càncer dependran de les condicions individuals.

Els baixos nivells d'aquest àcid es troben associats a un major risc a la iniciació d'un tumor en trastornar la reproducció cel·lular per originar un ADN alterat. D'aquesta manera, les probabilitats que les cèl·lules que estan en procés de formació no passin pels controls de creixement i es transformin en cèl·lules canceroses són molt superiors que en la resta de la població. Entre els càncers més habituals amb els que es relaciona el dèficit d'àcid fòlic es troben el càncer de còlon i recte, càncer de mama i càncer del coll uterí.

Contràriament, s'ha dit que un excés de folat pot donar lloc a la iniciació d'un tumor. D'aquesta manera es pot afirmar que el folat juga un doble paper en el desenvolupament del càncer: un nivell normal en la ingesta d'aquest àcid protegeix contra la carcinogènesi primerenca i una alt o baix nivell promou la carcinogènesi.

### 6.1.4. La dieta epigenètica – La genòmica nutricional

Sempre hem sentit a dir la típica frase de “Som el que mengem”, és realment així? El que mengem cada dia és allò que finalment ens defineix? Quina relació té això amb l'epigenètica? Podem afirmar que som el que mengem però, a més, podem ampliar aquest concepte dient que també som el que van menjar els nostres pares. La demostració de que els nutrients poden tenir un efecte negatiu sobre els nostres gens és quelcom molt recent i, de fet, l'èxit de la dieta epigenètica ve donada pel gran paper que juga en la lluita contra el càncer donat que aquesta malaltia no només té arrels genètiques, sinó també epigenètiques.



L'objectiu que té la dieta epigenètica no és establir un règim especial i estricte sinó que el més important és ingerir aquells nutrients que poden beneficiar als nostres gens. L'alimentació de l'ésser humà ha fet un gir molt important durant els últims anys però el nostre cos no ha seguit aquesta evolució en la mateixa velocitat i per tant una dieta basada en productes que no són adequats pels nostres gens té la capacitat de provocar conseqüències negatives per a la nostra salut.

Nombrosos aspectes de la vida del món occidental no ens ajuden a satisfer les nostres necessitats nutricionals d'una manera totalment adequada. Un d'aquests aspectes és que l'ús de productes químics en el procés de cultiu dels aliments provoca efectes negatius en el nostre estat de salut. També se sap, com he mencionat en un punt anterior, que una higiene meticulosa dels aliments fa que determinats bacteris que ens són beneficiosos, com seria el bacteri que produeix la vitamina B<sub>12</sub>, desapareguin. Aquest tipus de vitamines, juntament amb la B<sub>9</sub>, són essencials en els processos metabòlics de l'ADN. A més, altres tipus de vitamines com la vitamina D han resultat tenir una gran importància en la prevenció de la hipertensió, l'esclerosi múltiple i alguns càncers i en l'estabilització de les molècules d'ADN.

Els aliments estrella que destaquen en la dieta epigenètica són de naturalesa vegetal i naturals; aquests són els alvocats, el bròquil i les magranes. Tot i això, és evident que la nostra alimentació diària no es pot centrar únicament en aquests aliments i, per tant, uns



altres productes que no hi poden faltar són l'enciam, els cereals i les verdures de fulla verda els quals constitueixen una aportació d'àcid fòlic essencial per tal de regenerar i reconstruir els nostres gens. A més, tampoc ens podem deixar els aliments rics en folat (vitamina B<sub>9</sub>) present en diverses verdures, fruites de la família dels cítrics i maduixes sent de gran importància en representar les autèntiques fonts alimentàries que proporcionen grups metil.

A continuació, he realitzat una taula en la qual es mostren els diferents nutrients que poden tenir un efecte sobre el nostre epigenoma amb els aliments dels quals provenen cadascú.

NUTRIENTS	ORIGEN DELS ALIMENTS	PAPER EPIGENÈTIC
<b>METIONINA</b>	Llavors de sèsam, nou de Brasil, peix, pebrots i espinacs	Síntesi de SAM
<b>ÀCID FÒLIC</b>	Vegetals, llavors de gira-sol, llevat de cervesa i fetge	Síntesi de Metionina
<b>VITAMINA B12</b>	Carn, fetge, marisc i llet	Síntesi de Metionina
<b>VITAMINA B6</b>	Carn, productes derivats del cereal, verdura i nous	Síntesi de Metionina
<b>SAM<sup>48</sup></b>	Suplement dietètic amb pastilles (inestable en els aliments)	Els seus enzims transfereixen grups metil del SAM a l'ADN
<b>COLINA</b>	Rovell de l'ou, soja, fetge, carn cuïta, pollastre, vedella i gall dindi	Donador de grups metil a SAM
<b>BETAÏNA</b>	Blat, espinacs, marisc i remolatxa sucrera	Descomposició dels productes tòxics obtinguts en la síntesi de SAM
<b>RESVERATROL</b>	Vi negre	Eliminar grups acetil de les histones
<b>GENISTEÏNA</b>	Soja i productes de soja	Augmenta els nivells de metilació, prevenció del càncer i altres mecanismes desconeguts
<b>SULFORAFÀ</b>	Bròquil	Augmenta l'acetilació de les histones encenent els gens anti-càncer
<b>BUTIRAT</b>	Compost produït a l'intestí durant el procés de fermentació de la fibra alimentària	Augmenta l'acetilació de les histones encenent els gens protectors i augmenta l'esperança de vida
<b>DIALIL SULFUR (DADS)</b>	All	Augmenta l'acetilació de les histones encenent els gens anti-càncer

<sup>48</sup> Coenzim que participa en la transferència de grups metil. La seva estructura química és derivada de la metionina i l'ATP.

Seguint en la línia de l'alimentació, com que cada vegada s'estan entenent millor les connexions existents entre la dieta i l'epigenoma, l'oportunitat per utilitzar aquests coneixements en les aplicacions clíniques també augmenta. Realitzant un mapa del nostre epigenoma obtindríem tota la informació necessària per a conèixer de manera individualitzada i específica de quina manera podríem menjar millor.

Això és el que pretén i està duent a terme una rama de la ciència anomenada "nutrigenòmica" la qual té com a objectiu estudiar les interaccions que existeixen entre els aliments i els nostres gens. Gràcies a aquesta nova ciència, els nutricionistes són capaços de, mirant els nostres mapes, dissenyar una dieta personalitzada i informar-nos del risc que tenim de patir determinades malalties.

Existeix la possibilitat que una persona que pateixi colesterol respongui correctament a una dieta hipercolesterolèmica i una altra no ho faci. És aquest, per tant, l'objectiu de la nutrigenètica: realitzar recomanacions específiques per tal d'obtenir el màxim benefici d'una dieta de manera individualitzada i així evitar que es manifestin determinades patologies encara que estiguin presents en la nostra seqüència d'ADN.

La nutrigenòmica jugarà un paper molt important en un futur: tots disposem d'un genoma en el qual hi ha escrit els nostres riscos de salut, però si som capaços de saber quins factors ens cal evitar per a reduir aquest risc ens trobarem llavors en el moment de màxima expressió de la medicina preventiva.

## 6.2. Consum d'alcohol i tabac

La nostra societat està molt conscienciada dels greus efectes del consum de tabac i d'alcohol, i de fet, són uns altres dels principals causants de malalties lligades a l'epigenètica en relació amb el fetus, amb el seu desenvolupament posterior i la vida adulta del nen. En el cas d'exposició de la mare a determinades substàncies, inclòs el consum de tabac, s'està augmentant la possibilitat per aquest fetus de patir asma la qual cosa pot explicar-se mitjançant un mecanisme de regulació epigenètica. El fum del tabac conté una barreja complexa de substàncies orgàniques i inorgàniques que moltes d'elles tenen propietats cancerígenes i proinflamatòries i poden portar al desenvolupament de tumors com el càncer de pulmó.

En referència a l'efecte que juga el consum de tabac de les embarassades sobre l'epigenoma del fetus, sabem que s'augmenta l'expressió d'un gen placentari CYP1A<sup>49</sup> el qual pot ser molt perillós.

Per altra banda, s'ha demostrat que l'alcohol, associat amb altres substàncies com la vitamina B6, té la capacitat de modificar la funció dels gens que participen en el desenvolupament de càncer de còlon. Aquest fet s'explica gràcies a què els alcohòlics tenen un dèficit de vitamines que proporcionen grups metil i, com a conseqüència, aquestes persones tindran l'ADN hipometilat. En el cas de les embarassades que consumeixen alcohol, aquesta substància podria desencadenar a efectes sobre el creixement i desenvolupament neuronal que podria conduir a malformacions i desenvolupament anormal del futur nadó.

A més, també s'ha demostrat que el consum d'aquesta substància durant el procés d'embaràs pot provocar altres efectes perjudicials al fetus com hiperactivitat, malformacions facials, dèficit cognitiu i d'atenció, desajustaments en la memòria, descoordinació motora i mal funcionament psicosocial. Totes aquestes característiques s'inclouen en el que s'anomena "síndrome alcohòlic fetal".

### 6.3. Estrès en les embarassades – Estrès posttraumàtic

Una exposició a l'estrès en dones embarassades pot tenir efectes en el nadó? Doncs la resposta seria que sí; i, no només en la primera generació, sinó que pot passar-se a través de diverses generacions. Això és el que s'anomena "Estrès posttraumàtic".

L'estrès posttraumàtic és una malaltia mental conseqüència de l'exposició a situacions traumàtiques associades a allò que es viu o es veu i que està relacionat amb sentiments de desesperació i horror. Aquesta malaltia pot causar problemes com els continus "flashbacks", dificultats per dormir i malsons, sentiment de soledat, explosions de violenta irritació contra algú i sentiments de preocupació, culpa i tristesa.

Si les embarassades duen a terme hàbits que impliquen estrès pot afectar el fetus provocant-li un retard en el seu creixement intrauterí o, més a llarg termini, aquests nens poden presentar problemes com a resposta a l'estrès. Aquest factor té especial

---

<sup>49</sup> Tipus de gen que juga un paper molt important en l'activació metabòlica d'ADN-hidrocarburs aromàtics policíclics que participen en la carcinogènesi.

importància durant el tercer trimestre d'embaràs, ja que és aquest el període més crític degut a la plasticitat cerebral<sup>50</sup> dels nadons.

Un cas que va permetre a molts investigadors estudiar aquest factor en els nadons va ser l'esdeveniment que va tenir lloc l'11S a Nova York en el qual avions terroristes van estellar contra les torres bessones fent que aquestes s'esfondressin. Aquest desastre va configurar un fort impacte no només als que el van patir sinó també a les generacions posteriors que encara no havien nascut.

Es van realitzar estudis a dones que estaven embarassades en aquell moment i que, a més, havien format part directament de la tragèdia posant atenció en els efectes que causaria als nens que naixerien de pares que havien desenvolupat un trastorn d'estrès posttraumàtic com a resposta d'aquest esdeveniment.

El fet d'exposar-se a una situació estressant fa que la persona produeixi cortisol, hormona que juga un paper molt important en la regulació a la resposta del cos davant l'estrès. En el cas que aquests nivells de cortisol siguin molt baixos provoca que la persona pugui afrontar aquestes situacions amb més dificultat i tingui més possibilitat de patir un trastorn d'estrès posttraumàtic. Continuant amb l'esdeveniment de l'11S, aproximadament la meitat de les 200 dones estudiades desenvolupaven aquest trastorn donant-se compte que la quantitat de cortisol que es trobava a la seva saliva es trobava fora dels nivells estàndards. Tot i això, el que més els va cridar l'atenció als investigadors va ser que els nadons també presentaven alteracions en la quantitat de cortisol. Aquests efectes només es van poder observar en les mares que es trobaven en l'últim trimestre de l'embaràs, mentre que en les dones amb el mateix nivell d'estrès però que estaven entre el seu 4-6 mes, l'efecte en els nivells de cortisol als nadons era mínim. Aquesta distinció ens dóna peu a pensar que l'epigenètica és la causant de la transmissió d'aquesta informació.

Investigacions recents han demostrat que el fet que provoca aquests efectes als nadons és l'augment en la metilació del gen NR3C1 el qual és sensible a les alteracions del

---

<sup>50</sup> Fa referència a la fase en la qual es dóna l'activació de les neurones i, a la vegada, es produeix l'apoptosi (mort cel·lular programada) en aquelles que no s'utilitzen.

medi intrauterí i l'estrès matern durant l'embaràs. Aquest és gen receptor de glucocorticoides (hormones de l'estrès).

L'estrès matern, a part d'aquestes alteracions epigenètiques de risc, pot donar lloc a canvis en el desenvolupament del fetus. D'aquesta manera, els fills de dones embarassades que havien patit estrès prolongat presentaven una major probabilitat de patir ansietat, trastorns d'hiperactivitat i un menor desenvolupament mental. I, les conseqüències a llarg termini d'aquest estrès prenatal són l'augment en el risc de patir esquizofrènia, depressió infantil i alteració de l'activitat dels gens a causa d'un augment en la metilació de l'ADN.

### 6.3.1. Part prematur

Un altre dels efectes que pot provocar l'estrès en embarassades és el fet d'escurçar la longitud de l'embaràs amb trets característics d'un part prematur. Un estudi realitzat a la Universitat de Lethbridge a Canadà amb quatre generacions de rates va permetre detectar efectes epigenètics heretats derivats de l'estrès sent majors en cada generació que passava. Aquests científics tenien la intenció d'estudiar fins a quin punt l'estrès afectava els naixements prematurs els quals són la principal causa de mort neonatal i el desencadenament posterior de problemes de salut; per això es va sotmetre a una primera generació de rates a estrès al final de l'embaràs.



La conclusió extreta d'aquest experiment va ser que les rates a qui se'ls va sotmetre a uns episodis d'estrès van tenir uns embarassos més curts que aquelles que no i, a més, les nétes de les primeres rates també van presentar aquest problema encara que les seves mares no haguessin estat alterades. Es va descobrir, també, que les rates les mares i àvies de les quals havien patit estrès, presentaven uns nivells de glucosa majors que les del grup control.

## 6.4. Exercici físic

Sempre se'ns ha dit que portar una vida sedentària no era beneficiós per la nostra salut, doncs bé, uns hàbits escassos en exercici físic augmenten les nostres probabilitats de risc per patir determinades malalties tals com el càncer i malalties cardiovasculars.

Estudis recents han demostrat que tres hores després de fer exercici físic intens durant vint minuts es produeixen canvis en la metilació dels gens relacionats amb la diabetis de tipus II i l'oxidació dels músculs. Si ens exercitem amb freqüència, no només obtindrem un benefici temporal, sinó unes modificacions a llarg termini que canviaran la manera amb què el nostre genoma funciona.

### 6.4.1. Estrès i exercici físic

Un estudi dut a terme per la Universitat de Princeton (Estats Units) va permetre afirmar que el fet de practicar exercici físic reorganitza el cervell, la qual cosa provoca que es redueixi la resposta a l'estrès. Això va ser estudiat mitjançant uns experiments que consistien a permetre a un primer grup de ratolins que accedís sense límits a una roda per córrer, mentre que l'altre grup jugava el paper de sedentari i no se'ls va proporcionar cap roda.

Passades sis setmanes, tots els ratolins van ser exposats durant un espai de temps breu a un factor estressant per poder observar les seves reaccions; en aquest cas, van utilitzar l'aigua freda. D'aquesta manera, van ser capaços de comprovar que el cervell dels ratolins més actius es comportava d'una manera diferent a la dels sedentaris quan estaven sotmesos a situacions d'estrès: el primer grup de ratolins havia augmentat l'activitat de les neurones que frenen l'activació de l'hipocamp ventral el qual és una regió del cervell relacionada amb l'estrès. A més, es va observar que la proteïna que encapsula l'àcid gamma-aminobutíric<sup>51</sup> estava present en major grau en aquests ratolins respecte dels sedentaris. Per altra banda, en el segon grup de ratolins l'aigua freda va estimular un increment dels gens d'expressió immediata els quals s'activen de manera transitòria i ràpida com a resposta a la varietat d'estímuls de les cèl·lules.

---

<sup>51</sup> Àcid que participa en la sinapsi de les neurones.

Aquest fet ens dóna una idea de com la presència o no d'exercici físic també juga un paper molt important en l'epigenètica, ja que el cervell presenta una gran flexibilitat i capacitat d'adaptació als estils de vida que portem i a l'entorn que estem exposats.

### 6.4.2. Acumulació de greixos

Ha estat demostrat que existeix una relació entre l'epigenètica i les cèl·lules adiposes en el moment que es realitza una activitat física, de manera que quan fem exercici físic el patró epigenètic que afecta l'acumulació de greixos al nostre cos es veu alterat canviant-ne l'expressió dels gens.

Per tal de poder afirmar aquest fet, un experiment va ser dut a terme per un grup d'investigadors de la Universitat de Lund (Suècia) el qual va consistir a estudiar de quina manera es veia afectada la metilació de les cèl·lules adiposes d'un grup d'homes amb sobrepès d'uns 35 anys aproximadament els quals no havien practicat exercici físic anteriorment i se'ls va fer assistir a classes d'aeròbic durant un període de sis mesos.

Posteriorment, observant els mapes de metilació dels seus gens, es va poder constatar que després de dur a terme activitat física s'havien produït modificacions epigenètiques en 7.000 gens la qual cosa és una dada molt significativa tenint en compte que cada persona disposa d'uns 30.000 gens.

### 6.4.3. Diabetis tipus II i obesitat

La diabetis de tipus II és una malaltia crònica que afecta la manera amb què el nostre cos fa ús de la glucosa, la qual, si s'utilitzés de forma correcta, entraria dins les cèl·lules amb l'ajuda de la insulina i seria aprofitada per obtenir energia necessària pel nostre cos. Malgrat tot, quan una persona pateix diabetis, determinades cèl·lules no responen de forma correcta a la insulina i provoca que el sucre no entri a les cèl·lules i els nivells de glucosa en sang augmentin.

Seguint amb l'experiment que es va dur a terme en el punt 6.4.1 comparant ratolins actius i ratolins sedentaris, els investigadors, en analitzar la metilació dels gens relacionats amb la diabetis de tipus II i l'obesitat, van trobar que també s'havien produït alteracions en aquests; per aquesta raó, es van preguntar si modificant el grau de metilació de l'ADN seria possible reduir el risc a patir diabetis de tipus II. La resposta a

aquesta formulació la van trobar desactivant determinats gens i veient que d'aquesta manera se'n reduïa la seva expressió provocant canvis en l'acumulació dels greixos a les cèl·lules adiposes.

Traslladant aquest cas als humans es va poder observar que un exercici agut dóna lloc a la hipometilació de l'ADN dels gens que es troben als músculs esquelètics relacionats específicament amb el metabolisme. Potser per això l'esport és considerat com una mesura de prevenció contra la diabetis.

### 6.5. Contaminació i productes tòxics

La contaminació de l'aire presenta un problema global causant impactes ambientals de gran abast i l'exposició a aquests ha estat relacionada amb un gran nombre de problemes de salut augmentant el risc de mort i la probabilitat de patir malalties cardiorespiratòries i càncer de pulmó especialment. A més, substàncies contaminants com els hidrocarburs aromàtics s'han vist relacionats amb el risc de patir leucèmia aguda o mieloma múltiple<sup>52</sup>. Tot i això, el fet d'entendre aquest impacte és un procés molt difícil donat a la gran varietat de contaminants i a la complexitat de les malalties associades.

Una investigació que va tenir lloc a Washington va demostrar que una varietat de substàncies tòxiques que es troben presents en l'ambient poden comportar efectes negatius en els organismes exposats a ells i a les generacions posteriors. Entre aquestes substàncies tòxiques s'inclouen el combustible dels avions (hidrocarburs aromàtics, PAH), l'ozó, les partícules d'escapament del dièsel (DEP) i el material particulat (PM), la dioxina<sup>53</sup> (TCDD), els plàstics (Bisfenol A) i les pesticides que contenen DEET i permetrina<sup>54</sup> els quals juguen un paper molt important en la transmissió de malalties epigenètiques a través de les diferents generacions.

---

<sup>52</sup> Tipus de càncer de la sang que té efectes sobre les cèl·lules plasmàtiques (tipus de glòbuls blancs que es troben majoritàriament a la medul·la òssia).

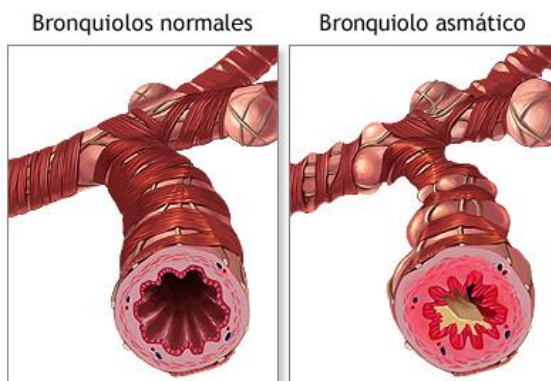
<sup>53</sup> Compostos químics que resulten de la combustió del clor i, degut a la seva gran presència al medi ambient, es va acumulant al llarg de la cadena alimentària, especialment al teixit adipós dels animals.

<sup>54</sup> Substància utilitzada mundialment com a insecticida, acaricida (producte utilitzat per eliminar, controlar i prevenir la presència d'àcars) i repel·lent d'insectes.



Un dels efectes provocats per contaminació de l'aire més estudiats és el de l'asma la qual és una malaltia crònica dels pulmons que consisteix en la inflamació de les vies respiratòries i està caracteritzada per períodes repetits de xiulets en respirar, pressió al pit, dificultat en respirar i tos (*Imatge 12*)

Un grup d'experts va dur a terme un estudi en zones de Nova York que tenien altes taxes d'asma i nivells de



**Imatge 12: Comparació de l'estat de les vies respiratòries en pacients sans i en pacients amb asma.**

contaminació a l'aire molt alts a causa del tràfic local. Una vegada realitzat es van adonar que les dones embarassades que estaven exposades a quantitats d'aire contaminat molt elevades tenien més possibilitats de tenir un fill amb asma presentant molts d'ells modificacions en el seu epigenoma. Els investigadors pensen que aquest fet està causat, ja que en el moment en què els nens estan exposats a aire contaminat abans del seu naixement, experimenten canvis epigenètics que els porta a patir asma a mesura que van creixent.

A continuació, adjunto una taula de dades que he realitzat amb informació sobre els efectes que tenen tres contaminants en concret, el PAH, el material particulat i les partícules d'escapament del dièsel sobre l'epigenoma dels ésser humans i les malalties conseqüents d'aquestes alteracions (es destaca especialment els efectes de la contaminació en l'aparició i el desenvolupament d'asma).

CONTAMINANT	EFECTES I MECANISMES EPIGENÈTICS
<p><b>Hidrocarburs aromàtics (PAH): pot ser un cancerigen molt potent i afectar, també, a la respiració.</b></p>	<p>Activació de la senyalització dels danys en l'ADN de manera que a quant més PAH estiguem exposats més danys es produiran en el nostre genoma.</p>
	<p>Exposició materna al PAH: associat a un augment de la metilació de l'ADN en el gen relacionat amb l'asma (ACSL3) i, consegüentment, augment del risc de patir asma infantil</p>
	<p>Hipermetilació d'un altre gen relacionat amb l'asma (IFN-<math>\gamma</math>) donant lloc a una menor expressió d'aquest (el gen IFN-<math>\gamma</math> és un gen que protegeix contra l'asma i les malalties al·lèrgiques)</p>
	<p>Augment en la metilació en el locus del gen transcrit per la proteïna FOXP3 la qual cosa provoca que perdi part de la seva funcionalitat i contribueixi en l'aparició d'asma.</p>
	<p>Hipometilació del gen MGMT provocat inestabilitat genòmica en els limfòcits i augmentant el risc a una carcinògenesi.</p>
	<p>Significatius canvis en la metilació de l'ADN en gens molt importants relacionats amb l'asma</p>
<p><b>Material particulat (PM) i partícules d'escapament dièsel (DEP)</b></p>	<p>Inflamació de les vies respiratòries implicada en el desenvolupament d'asma</p>
	<p>Hipermetilació en l'ADN de l'esperma el qual és manté després de l'exposició a aquestes substàncies.</p>
	<p>Augment en la quantitat d'ADN danyat i de mutacions en els gens.</p>
	<p>Modificació de les histones incloent la degradació de la histona desacetilasa (HDAC), l'activació de les histona acetiltransferasa (HAT) i augment d'acetilació en una regió promotora de la histona H4 que provoca inflamació.</p>
	<p>Efectes en l'expressió de determinats microARN: una exposició durant tres dies al PM produeix la regulació d'un gen relacionat amb la inflamació a causa de l'acció del microARN.</p>

### 6.5.1. Bisfenol A (BFA)

Els nadons que estan a l'úter i els nounats es veuen afectats per l'alimentació que tenen, ja que el que mengem durant aquest temps programarà el seu cos per la resta de la seva vida, com ja he dit anteriorment. Però, a més, durant els primers mesos de vida és tan important els aliments que ingereixen com el material que s'utilitza per servir aquests aliments.

Els biberons, objecte més utilitzat durant aquesta etapa per subministrar menjar als nadons, que estan fets de policarbonat contenen una substància que es desprèn en petites quantitats, el Bisfenol A. Aquest és un material fonamental que s'utilitza en

l'elaboració de plàstics i revestiments per a productes dels què se'n busca una llarga duració, resistència a la calor i seguretat convertint-lo en un producte molt important per a la indústria. En el cas dels biberons, les molècules de plàstic que es desprenen quan s'escalfen són consumides pel nadó juntament amb la llet. No es pot dir que el Bisfenol A sigui tòxic o cancerigen però té la capacitat de produir efectes semblants als de les hormones, ja que a causa de la seva estructura molecular, el Bisfenol A s'adhereix als nostres receptors d'estrògens (podríem dir que actuen com a estrògens sintètics) els quals, com a conseqüent, s'activen i poden, a la vegada, activar gens que haurien de mantenir-se desactivats.

Diverses publicacions científiques han afirmat que la ingesta de quantitats de Bisfenol A molt insignificants pot provocar canvis en l'etapa de la pubertat com modificacions en les glàndules mamàries i en la mida de l'úter o la vagina; fins i tot, molts investigadors sospiten de la possibilitat que aquesta substància tingui la capacitat de programar el cos de les nenes per tal d'accelerar el seu pas a la pubertat

Una dada important a tenir en compte amb aquesta substància és que els éssers humans la descomponem i metabolitzem molt ràpidament i de forma completa, però, si el nostre cos l'elimina del tot, com és que s'han trobat restes de Bisfenol A presents en la sang de les dones embarassades i els nounats? La resposta a aquesta pregunta també es troba en l'immens món de l'epigenètica.

Per tal d'entendre el procés d'aquestes modificacions epigenètiques, un grup d'investigadors va estudiar el gen KCC2 el qual produeix una proteïna que es troba en la membrana de les neurones i controla el pas de ions clorur a través d'aquesta essent un procés fonamental per controlar l'activitat neuronal i la manera en què aquestes responen als senyals que reben. El paper que juga aquest gen en aquest procés és el de mantenir uns nivells baixos de ions clorur en l'interior de les neurones per tal de protegir-les d'una sobreexcitació. Aquesta situació, no obstant, és diferent durant el desenvolupament embrionari, ja que en aquest període el funcionament del gen KCC2 és nul i les neurones contenen concentracions molt elevades d'aquests ions, fet necessari per establir connexions adequades entre elles. Però és a partir del moment del naixement quan es produeix un augment en el funcionament d'aquest gen extraient ions clorur de l'interior de les neurones per tal d'assegurar el funcionament correcte del cervell.

D'aquesta manera, els estudis realitzats van permetre demostrar que l'exposició de les neurones al Bisfenol A provoquen una disminució en el funcionament del gen KCC2 que es deu a les modificacions químiques que han tingut lloc en les regions de l'ADN que controlen el seu funcionament.

Segons els investigadors la tendència a l'obesitat també pot ser causada per aquesta substància perquè en experiments amb animals s'ha demostrat que té efectes sobre ells influint a la producció de cèl·lules adiposes provocant un augment de pes.

### 6.6. Poques hores de son

Abans d'explicar les conseqüències que pot suposar dormir poques hores introduiré un concepte que des del meu punt de vista és poc conegut en la nostra societat i és de gran importància: el rellotge biològic, i més específicament, els ritmes circadians.

La naturalesa programa el nostre cos per tal que un dia tingui una durada de 24 hores, això és el que s'anomena ritme circadià i juga un paper essencial en les nostres vides, ja que és el que determina els patrons de son i l'alimentació. L'activitat d'aquest rellotge ve donada pels factors externs, sobretot la variació de la llum.

Aquests ritmes són els que, a mesura que s'acosta la nit, comencen a augmentar els nivells de melatonina del cos essent una hormona que ens relaxa i ens prepara per al son disminuint les funcions vitals. L'actuació d'aquests ritmes també es fa present quan, un parell d'hores abans de despertar-nos, la producció de cortisol augmenta (hormona de l'estrès) per tal de preparar-nos per la resta del dia pujant la tensió arterial, alliberant sucre a la sang i augmentant el nivell d'alerta. Gràcies a diversos estudis realitzats s'ha pogut observar que fins a un 15% dels nostres gens segueixen el ritme circadià i un dels reguladors epigenètics que ho permeten és el que es coneix com CLOCK<sup>55</sup> el qual té la propietat d'unir-se a l'ADN i acetilar les histones fet que provoca que les proteïnes es relaxin i permeten que la seqüència de gens pugui ser llegida.

Un grup de la Universitat d'Estocolm va realitzar un estudi per tal de determinar l'efecte que té sobre el nostre cos dormir molt poques hores o fins i tot passar una nit sense

---

<sup>55</sup> Família de proteïnes que tenen la funció de dirigir i coordinar la producció d'altres proteïnes.

dormir. Per això, es va analitzar el metabolisme de diversos homes comparant els resultats de dues sessions diferents: el primer es realitzaria després d'haver dormit vuit hores i l'altre agafant mostres de teixit després de mantenir-los desperts durant tota la nit.

Els resultats van aconseguir desmentir la típica frase de “una nit és una nit” revelant que, després d'una única nit sense dormir, l'activitat i la regulació dels gens del rellotge biològic havien patit modificacions epigenètiques. Per tant, podem afirmar que la falta d'hores de son i la consegüent alteració dels rellotges biològics tenen la capacitat d'influir en molts aspectes sobre el nostre organisme: l'activitat cerebral, la gana, els nivells de sucre, la temperatura corporal i el risc de patir malalties com la diabetis i l'obesitat.

### 6.7. Conclusions i interpretació d'aquest apartat

Aquest apartat que ens mostra els factors externs que poden tenir efectes sobre el nostre epigenoma i consegüentment en el nostre futur estat de salut ens fa conscients de l'important que és el conjunt de decisions que prenem sobre el nostre estil de vida, ja que seran aquestes decisions les que marcaran la direcció de la nostra vida.

Per tant, com hem pogut comprovar, no hem de pensar que tota la nostra vida ja ve predeterminada en els nostres gens quan naixem, sinó que allò que realment representa un pes important per tal d'evitar patir determinades malalties i càncers són totes aquells aspectes de la nostra vida que modulen l'expressió dels gens amb modificacions epigenètiques. El nostre futur i el futur de les següents generacions que ens seguiran està a les nostres mans!

## 7. HERÈNCIA DELS CANVIS EPIGENÈTICS

Al llarg de l'acompliment d'aquest treball s'ha anat repetint la idea d'una transmissió dels caràcters adquirits durant la vida d'un organisme a través de les diverses generacions posteriors. No ens sona aquest concepte a les idees defensades per Lamarck durant el segle XIX?

Quan se'ns expliquen les teories de l'evolució a l'escola una de les que es consideren totalment falsa és la de Lamarck, la qual defensa, entre altres coses, la seva teoria sobre l'herència dels caràcters adquirits: aquelles característiques que s'adquireixen durant la vida d'un organisme són transmeses a la descendència.

La seva teoria va quedar en no-res en el moment en què es van formular les teories neodarwinistes negant de forma rotunda l'herència dels caràcters adquirits i deixant com a única forma de canvi heretable la mutació genètica. Aquesta teoria acceptada en els nostres dies també defensa les Lleis de Mendel i la selecció natural. Tal com hem dit anteriorment, les modificacions epigenètiques estan presents en l'ADN el qual es troba en tots els tipus de cèl·lules per igual. Per tant, si aquestes alteracions es troben també en els gàmetes, els quals transmeten la informació genètica que contenen a les noves generacions, per què no s'haurien de poder heretar?

La idea que defensa que les característiques adquirides poden ser transmeses a les generacions posteriors ha estat incompatible amb les interpretacions que es fan de la teoria evolutiva neodarwiniana. Tot i això, els estudis realitzats sobre l'herència transgeneracional ha demostrat que aquesta afirmació és certa. L'epigenètica, per tant, ens obre novament la porta en un dels aspectes de la creença lamarckiana i, aquest fet és tal, que moltes vegades es fa referència a l'epigenètica com la "ciència neolamarckista".

Paral·lelament a tot això, el terme d'"herència transgeneracional" s'utilitza per descriure tots aquells efectes que no afecten la seqüència de gens i que poden ser transmeses d'una generació a una altra. D'aquesta manera, els grups metil, per exemple, es poden unir permanentment al nostre ADN i ésser replicats en les pròximes generacions sense modificar-se significant un canvi en el comportament d'un determinat gen i inhibint-ne la transcripció. Considerem, per tant, el que aquest fet significa: sense la presència d'una mutació en la nostra seqüència de gens, aquests grups metil adherits a la

superfície de l'ADN causen efectes a llarg termini provocant també canvis en el funcionament dels gens de les generacions que ens segueixen.

Aquesta afirmació va estar provada en una sèrie d'experiments que consistien en la comparació de rates nascudes de mares que alimentaven els seus fills i altres que no ho feien. Els resultats d'aquest estudi van ser increïbles i van anomenar aquest procés com "herència postnatal": sense cap canvi en el seu codi genètic, les rates nounades rebien canvis epigenètics provinents de la seva mare la qual cosa els alterava la funció del cervell.

Posteriorment, es va voler comprovar si passava el mateix en éssers humans comparant mostres sanguínies d'homes provinents d'Anglaterra que havien experimentat situacions socioeconòmiques extremes (molt rics o molt pobres) en algun punt comprès entre la seva infantesa i l'edat adulta. Aquest estudi es va dedicar a examinar la metilació de 20.000 gens dels quals es va trobar que 6.176 havien variat de manera significativa a causa de la pobresa o la gran riquesa. Però, l'estudi no s'acabava aquí, sinó que la conclusió més important que se'n va ser capaç d'extreure va ser que els gens tenen més del doble de probabilitats de presentar canvis en la seva metilació basats en els ingressos familiars durant la infància que en el seu estat econòmic ja d'adults; en altres paraules, si en una família es viu un moment d'augment o disminució molt important en la seva economia, tindrà una repercussió més gran si esdevé en els primers anys d'una persona afectant l'epigenoma del seu cervell que durant la vida adulta la qual cosa farà que la influència que rebí la descendència també sigui molt major.

Davant l'existència del debat que discuteix la certesa de si les marques epigenètiques poden ser heretades en la divisió cel·lular i entre generacions, un altre estudi realitzat va mostrar de quina manera la memòria epigenètica podia ser transmesa a través de generacions i de cèl·lula en cèl·lula durant el desenvolupament. Aquest estudi va mostrar que quan una femella de ratolí és alimentada amb una dieta rica en grups metil, el pelatge de la seva descendència es veu fortament alterat.

Per tant, gràcies al paper de l'epigenètica totes aquelles experiències viscudes durant la vida d'un organisme podem afirmar que passen a formar part de nosaltres i dels nostres descendents encara que la seqüència d'ADN es mantingui intacta. D'aquesta manera, per exemple, podem haver heretat dels nostres avis diversos aspectes sense això

significar que ja estiguem predestinats a un cert estat de salut durant la resta de la nostra vida, sinó que tenim igualment el futur a les nostres mans en triar quina vida volem portar.



## 8. PART PRÀCTICA

En el context d'aquest treball de recerca el fet de trobar què incloure en la meva part pràctica em va resultar complicat. És per això que em vaig intentar posar en contacte amb dos investigadors que treballen en aquest camp; en primer lloc, el Doctor Manel Esteller el qual, durant la realització de les pàgines especialment centrades en epigenètica del càncer, vaig trobar que era un dels màxims representants i investigadors en aquest àmbit sent el director del programa “Epigenètica i Càncer” de l’Institut d’Investigacions Biomèdiques de Bellvitge (IDIBELL). Malauradament però, el contacte amb ell o qualsevol altra persona del seu equip no em va ésser possible.

Tot i així, vaig tenir la immensa sort de poder contactar amb la Doctora Marian Martínez (CSIC) la qual ha estat disposada en tot moment a ajudar-me en allò què he necessitat i, a més, em va atorgar el plaer de fer-li una entrevista i realitzar una pràctica de laboratori en la qual vaig ser capaç de comparar dues línies tumorals diferents i observar les diferències que presentaven en les modificacions de les histones. Aquesta darrera va ésser especialment gratificant per a mi, ja que, després de treballar una teoria durant molt de temps, poder posar forma a allò que només podia veure a través de fotos, moltes vegades mal fetes, no té preu.

Més enllà del meu treball, les hores que em vaig passar al laboratori em van donar una concepció molt important de la gran dedicació i paciència necessària per poder fer un pas endavant en ciència.

## 8.1. Entrevista Marian Martínez (21/10/2015)

*Doctora en ciències i investigadora científica del CSIC*

**¿En qué momento nos encontramos en la investigación sobre el cáncer y sobre los factores que lo causan? ¿Está muy avanzado?**

Está bastante avanzado; de todas maneras nunca se sabe dónde se está ni dónde está el final de la investigación. Cada día se están descubriendo modificaciones nuevas y nuevos encimas que regulan estas modificaciones los cuales podrían estar implicados en el desarrollo del cáncer. Sí que es verdad, pero, que se ha dado un paso muy grande para ver que realmente una alteración de casi cualquier marca que afecta la cromatina puede afectarnos y hasta llevarnos a padecer un cáncer.

Ahora, una pregunta muy importante en este campo, ¿todos estos cambios son causa o son efecto? Hay algunas que se sabe que son causales, pero pocas; las demás todavía no, quizá debido a la falta de estudios o quizá porque una célula de cáncer está alterada en todos los niveles y las alteraciones son enormes en cuanto al nivel de expresión, la morfología y el conjunto de genes que se están describiendo en una y en la otra. Entonces, si nos ponemos a mirar diferencias se van a encontrar muchas, pero, el problema principal cuando se hacen este tipo de estudios es, de todas estas diferencias, ¿cuáles son causa y cuales son consecuencia secundaria de la célula que se ha transformado?

Los estudios genéticos ayudan mucho porque si se hacen estudios a nivel masivo de mapear una serie de pacientes que tienen un cáncer o enfermedades mentales (autismo, esquizofrenia, retraso mental; de retraso mental hay mapeados bastantes causas genéticas y de los genes mutados que causan un retraso mental casi un 50% son reguladores epigenéticos) se pueden hacer grandes comparaciones entre pacientes que padecen un cáncer u otro y establecer cuáles son las modificaciones más usuales en cada uno.

Cuando se secuencia el genoma de 200 o 2000 pacientes como se está haciendo en algunos casos, y se observa que de manera recurrente aparece una mutación en uno de estos factores que, por ejemplo, metilan la histona H3 en la lisina 27, se empieza a tener una buena razón para pensar que esto puede ser la causa. Entonces, está claro que esto

ayuda para determinar qué es causa y qué es efecto, pero hay muchas veces que no al no haber una causa genética es difícil de saber.

**La epigenética, en parte, está regulada por la vida que llevas, entonces, ¿dependiendo de tu vida puedes tener un retraso mental o no, por ejemplo?**

Exacto, la vida y también las mutaciones que se pueden producir espontáneamente; mutaciones que se producen al azar en la célula durante la replicación. Durante la vida de la célula se van produciendo mutaciones a montones, pero la célula al ser el mecanismo más seguro que hay, las repara; y, aunque a veces no los repara a la primera, tiene además mecanismos que detectan bien que esto no está reparado provocando que la célula muera y se elimine. No obstante, también ocurre que alguno de nuestros mecanismos falla y hace que esta mutación quede: puede ser que ésta no tenga mayor relevancia y que no pase nada, pero también puede ser que sí, entonces crece y puede dar lugar a un tumor.

Normalmente, los organismos tienen muchos mecanismos de seguridad, muchos más de los que pensamos a diario: la luz y el Sol, por ejemplo, están produciendo miles de roturas en el DNA que, a la hora de replicar, van a producirse defectos que la misma célula repara.

**La epigenética son cambios que afectan la actividad de los genes pero no los genes en sí. Entonces, ¿estas modificaciones se perciben en los mapas que has mencionado?**

Para responderte a esta pregunta, dibujémosnos mentalmente la imagen del DNA en el cual tenemos la secuencia de doble cadena de DNA que si es secuenciada se pueden percibir las mutaciones que se han producido en los genes y que, si esto lo comparas con distintos pacientes que padecen un cáncer determinado, se puede afirmar la mutación más recurrente en cada uno.

Estamos acostumbrados a ver la secuencia de DNA de forma lineal, pero realmente el DNA en la célula no está así, sino que está enrollado en la cromatina formando nucleosomas la cual está enrollada a su vez alrededor del octámero. Además tenemos las histonas que son las que permiten este empaquetamiento; estas histonas tienen una zona N-terminal no estructurada que queda libre hacia fuera siendo entonces la parte

más susceptible a ser modificada químicamente, y la zona C-terminal que usa para enrollar el DNA. La zona N-terminal no la usa para nada de compactación del DNA sino que se piensa que es la zona reguladora, no tienen una conformación definida y está extendida hacia el exterior del nucleosoma. Es en esta zona donde se unen la mayoría de las modificaciones epigenéticas (es el dominio más externo).

Además, hay modificaciones en el mismo DNA que es la metilación de las islas CpG (zonas que pueden ser metiladas). Esta metilación es sobre el DNA, por lo tanto, estas marcas sí que pueden ser reconocidas por proteínas y van a provocar efectos genéticos.

Entonces, la pregunta que tenemos que formularnos ahora es, ¿qué consecuencias tiene que en las histonas haya una modificación o no?

Había dos teorías, una teoría era que al introducir una marca, sobretodo en la acetilación que fue la primera que se describió, lo que ocurría es que había consecuencias estructurales en el nucleosoma. El DNA está cargado negativamente (enlaces fosfodiéster) entonces, en la acetilación se producían lisinas las cuales están cargadas positivamente y ayudaban a contrarrestar las cargas negativas. Entonces, una cola de histona no acetilada estaría enganchada al nucleosoma, porque una cosa es positiva y otra negativa. Pero si, con la acetilación, quitamos la carga la cola de la histona no estaría pegada sino que se encontraría libre. Por lo tanto, se decía que una de las consecuencias más importantes de las marcas era cambiar la estructura del nucleosoma porque la estructura sin modificaciones era más compacta y la que había estado modificada era mucho más relajada y facilitaba que otros factores que tenían que venir para reconocer elementos en el DNA accediesen más fácilmente.

Luego se ha visto, pensando sobre todo en otras modificaciones que no introducen cambios de carga, que lo que hacen principalmente, aparte de cambios estructurales, es servir de señal. Si se tiene una metilación en un lugar concreto, por ejemplo, va a ser reconocida de manera diferente por proteínas que actúan sobre el DNA a que si no estuviese metilada. Entonces, hay lectores de estas señales: existen los *writings*, que son los que escriben, y los que leen que son capaces de ver si una modificación está en un lugar u otro. Las consecuencias de que no haya nada o de que si que esté modificado son totalmente diferentes para una secuencia de DNA determinada. Esta secuencia de DNA según esté enrollada a una histona que esté modificada epigenéticamente o no se

va a comportar de manera diferente en todos los procesos que ocurren en el núcleo: se va a transcribir más o menos, va a disponerse en una zona del núcleo o en otra, se va a reparar más fácilmente....

Por lo tanto, las marcas tienen un papel estructural y un papel regulador: el papel estructural tiene la función de cambiar la estructura del nucleosoma y el regulador facilita el reconocimiento para que otros factores los vean y sean ellos (estos factores) los que determinen que le va a ocurrir al gen en donde está esta marca.

Ahora, la pregunta que me hacías, ¿se pueden leer las marcas epigenéticas con un secuenciador?

Existe una tecnología muy reciente que utiliza chips (chromatin immunoprecipitation): hay unos anticuerpos específicos contra determinadas marcas. Por ejemplo, si tenemos la histona H3 metilada en la lisina 27 (H<sub>3</sub>K<sub>27</sub>me<sub>3</sub>) existe un anticuerpo específico que reconoce esta marca determinada. Entonces este anticuerpo lo que hace es que con las secuencias de DNA que se han preparado en el laboratorio, se incuban con el anticuerpo y todos aquellos nucleosomas que tienen la metilación en la lisina 27 van a ser reconocidos por nuestro anticuerpo. Entonces este anticuerpo se conjuga con una proteína unida a algo pesado (actualmente se usan bolas magnéticas) que baja las partes que tienen la cromatina metilada y, posteriormente, se quitan todas estas proteínas, nos quedamos únicamente con el DNA y se secuencia todos los fragmentos de DNA metilados; de esta manera se construyen mapas de metilación.

**Todos, independientemente de si padecemos de alguna enfermedad o no, tenemos modificaciones epigenéticas, ¿verdad?**

Exacto, las modificaciones son mecanismos fundamentales, todos tenemos. En el caso del cáncer es cuando se desregulan. El cáncer es una desregulación en la que la célula pierde su identidad, entonces, por ejemplo, la célula epitelial pierde sus características y se convierte en una célula mesenquimal<sup>56</sup>, es capaz de proliferar, expandirse y emigrar a otros lugares del cuerpo. Esto lo consigue a través de la inactivación de determinados genes porque, como sabemos, las distintas células se diferencian entre sí activando unos genes y reprimiendo otros muchos. Pero, ¿qué ocurre en cáncer? En muchos de los

---

<sup>56</sup> Cèl·lula que pertany a un teixit connectiu embrionari del que en deriven el teixit muscular i el teixit connectiu del cos.

genes se produce una alteración en todas estas marcas que hace que un gen determinado que anteriormente estaba activo, por ejemplo, ahora no lo esté. De la misma manera, imagínate que un oncogén que tenga una metilación está silenciado y solo con perderla se activa; esto provocará que se tenga más probabilidades de padecer cáncer.

Hay genes que solo con perder una o una combinación de marcas producen un efecto muy claro mientras que otros no lo hacen porque disponen de mecanismos de seguridad. Del primer grupo mencionado el más típico es el oncogén el cual si se pierde una metilación se activa; no obstante, a veces un solo oncogén no es suficiente para desarrollar un cáncer pero si a este hecho le unes la presencia de unas metilaciones en un lugar determinado y una predisposición genética, por ejemplo, puede ayudar a ello .

Todos estos acontecimientos están ocurriendo en nuestras células constantemente pero éstas los van eliminando. Pero supongamos que en un momento determinado ocurre una combinación muy mala que adquiere una ventaja muy grande: esta célula no es capaz de eliminarla y va a proliferar.

Entonces, si se activa un oncogén RASS (es el tipo de oncogén más conocido) al que se le introducen unas metilaciones de manera que lo que se hace es silenciar y reprimir supresores tumorales que su función es frenar el desarrollo de cáncer, esta célula empieza a proliferar de una manera descontrolada. En el caso del cáncer casi siempre están afectados genes que regulan la proliferación y el control del ciclo celular (fase G, mitosis...).

El desarrollo de un cáncer casi siempre es resultado de una combinación de factores que desencadenan a otros y hacen que una célula se convierta en célula tumoral. De esta manera, por ejemplo, si hay una mutación genética que se combina con una modificación epigenética y que además se combina con polimorfismos que puede tener el individuo, la probabilidad de padecer cáncer que tiene este individuo es mayor.

**¿Es cierto que dependiendo de la vida que lleves se van a producir unas modificaciones epigenéticas u otras?**

Sí que lo es, las modificaciones post-translacionales de las histonas se establecen durante el desarrollo pero lo que tienen es que van cambiando a lo largo de la vida y son susceptibles de cambiar dependiendo de la manera en que tiene el genoma de responder:

la alimentación, la contaminación.... En una parte dices “yo tengo el mismo genoma con el que nací” pero la capacidad o la posibilidad de modular su actividad es algo que está en nuestras manos.

**Se producen cambios que nos pueden ser favorables y otros que nos pueden perjudicar, ¿verdad?**

Sí, por supuesto. La subida en la actividad de un encima sobre algunos genes, si lo hace de una manera no específica porque hay un factor externo que ha facilitado que este gen se exprese más, va a provocar que sobre algunos genes sea favorable pero igual sobre otros, no; dependiendo cual sea la naturaleza o la función de este gen.

**¿Observando el genoma podemos determinar si una persona va a ser más propensa a padecer ciertas enfermedades?**

Sí, totalmente. Al igual que en la secuenciación del genoma todo el mundo tiene mutaciones y polimorfismos, hay gente que tiene mutados determinados genes que por tenerlos así vas a padecer la enfermedad. Pero la mayoría de los casos, lo que nos dice una mutación es solo que se tiene propensión a padecerlo.

El típico ejemplo es el de los que tienen diabetes familiar y les dicen desde que nacen que si no hacen ejercicio físico y no comen bien tendrán diabetes; en mi familia, por ejemplo, se puede ver este ejemplo con claridad: una parte de la familia es muy deportista y no hay ni un diabético, pero en cambio, con el mismo contenido genético y la misma propensión, los que no hacen ejercicio son diabéticos todos. De esta manera, vemos que este factor epigenético es modulable por el entorno del organismo.

**Entonces digamos que si ahora, por ejemplo, tengo un cáncer y cambio mi estilo de vida este cáncer no se puede eliminar, ¿no? Cuando ya está desarrollado, es irreversible, ¿verdad?**

Bueno, hay cosas que se pueden revertir y a veces el estilo de vida no es suficiente. De hecho, ésta era de las cosas que te contaba al principio, hay dos cosas importantes en epigenética del cáncer y en cualquier otra enfermedad: la primera saber si es causa o efecto y la segunda es, una vez tenemos esta información de lo que está alterado en cáncer, ¿cómo la utilizamos para que sea útil para curar al paciente? Entonces, la pregunta que tú planteas, si esto depende de mi estilo de vida y lo cambio, ¿acabo con la

enfermedad? No es tan fácil porque muchas veces no sabes por qué se tiene una modificación determinada y lo que la está produciendo.

Lo que sí que se está haciendo, y en EE.UU hay un montón de compañías que lo están llevando a cabo, es intentar desarrollar fármacos epigenéticos. El problema con este tipo de fármacos es la especificidad, pero si sabemos que en un determinado cáncer están ocurriendo, por ejemplo, modificaciones en los niveles de metilación en la lisina 27, lo que se está haciendo es intentar desarrollar drogas que regulen la actividad de estas alteraciones y puedan bajar esta actividad.

Pero claro, no queremos que baje la actividad en todos los sitios, sino que solo nos interesa que baje en un lugar concreto, entonces lo que se está haciendo es reconocer las secuencias repetidas de metilaciones en un conjunto de personas con el mismo tumor y programar el fármaco para que bloquee la actividad de éstas.

**En un futuro, ¿se podría acabar con los cánceres utilizando fármacos o drogas que modifiquen estas alteraciones epigenéticas?**

Exactamente, se está trabajando muy intensamente para desarrollar drogas epigenéticas que sean útiles en cáncer. Se piensa que se irá un poco por esta dirección porque las mutaciones genéticas que dan lugar a cáncer van a tener también consecuencias epigenéticas las cuales son más fáciles de regular que si tuviésemos que arreglar el gen. Entonces, tanto lo que tiene una causa epigenética como lo que tiene una causa genética pero que va a terminar teniendo implicaciones epigenéticas podrá curarse o aliviarse mediante estos fármacos que balanceará los equilibrios transcripcionales de los genes.

El problema está en que secuenciar es muy caro; no solo secuenciar el genoma, sino que también se tendría que hacer la inmunoprecipitación de cromatina para cada marca epigenética de cada paciente y ser capaces de observar estos niveles. Por lo tanto, para llegar a saber cuál es la causa de una enfermedad, lo ideal sería disponer, además de mapas genéticos, de mapas epigenéticos para poder combinar ambos.

**¿Esto es posible debido a que las marcas epigenéticas son reversibles, no?**

Exacto, las modificaciones genéticas para ser capaz de eliminarlas sería necesario reparar el DNA y esto es muy difícil porque en un organismo no se puede reparar célula



por célula. Pero como en epigenética nos encontramos en un nivel superior, es más fácil su reparación.

**Me pasaría horas hablando contigo y te agradezco muchísimo este rato que me has dedicado. Y, por supuesto, que ya que me lo has propuesto voy a aprovechar la oportunidad para pasar unas horas de investigación en el laboratorio contigo. ¡Muchísimas gracias de nuevo!**

## 8.2. Pràctica de laboratori (16/12/2015)

### Tinció d'immunofluorescència

Per començar, m'agradaria explicar a grans trets en què consisteix el terme de “tinció d'immunofluorescència” per tal poder entendre tot allò a què faré referència en les pròximes pàgines. Es tracta d'una tècnica d'immunomarcació que fa ús d'anticossos units químicament a una substància fluorescent per demostrar la presència d'una molècula determinada observant-ho a través del microscopi.

En el meu cas, l'objectiu d'aquesta pràctica és comparar dues línies tumorals diferents per tal de veure les diferències que existeixen en les histones de cadascun fent ús d'unes marques que ens permetran observar-ho: una marca activadora i una repressora.

Cal esmentar finalment, que es tracta d'un estudi a escala global dels gens que es troben a les cèl·lules, ja que també existeix un estudi a nivell més local que ens permet observar més específicament els gens i les modificacions sobre aquests.

#### 8.2.1. Protocol

El pas previ per tal de poder començar a realitzar aquest experiment és posar en marxa el procés de **creixement de les línies tumorals** desitjades en els cobreobjectes i condicions adequats uns dies abans; en el meu cas, les línies tumorals que s'han escollit han estat la cèl·lula de càncer d'úter (Hela S3) i la de càncer de ronyó (293T).

Quan el procés anterior ha finalitzat, retirar les restes que s'han format i utilitzar PBS<sup>57</sup> per **netejar-ho**.

**Fixació:** afegir un reactiu actuant com a agent fixador (PFA: paraformaldehid) per tal que es fixin les cèl·lules de les quals disposem tal com es troben *in vivo* (que no surtin del seu compartiment). A continuació, netejar-ho dues vegades amb PBS.

**Permeabilització:** fer forats a les membranes de les cèl·lules per tal que els anticossos puguin arribar al seu destí. En aquesta part del procés s'utilitzen el PBS com a detergent i el *Tritón*<sup>58</sup> com a solució tampó. Després, netejar dues vegades amb PBS.

---

<sup>57</sup> Solució tampó utilitzada en les investigacions biològiques formada per, entre d'altres compostos, clorur de sodi i metafosfat de sodi.

**Bloqueig:** es bloquegen diferents parts de les cèl·lules per tal que l'anticòs no es fixi per tots els costats; d'aquesta manera, s'especifica el lloc per on s'han de fixar en les zones que no estan bloquejades. Utilitzar PBS i deixar reposar durant 30 minuts.

**Incubació de les cèl·lules amb un anticòs primari** el qual reconeixerà antígens determinats. Aquest procés dura 1h a temperatura ambient; en el meu cas, les marques que volem que reconegui són:

- H<sub>3</sub>K<sub>4</sub>me<sub>3</sub> (*lisina 4 en la histona 3 trimetilada*): marca d'activació, ja que es troba en la majoria dels gens activats; s'ha extret de conill.
- H<sub>3</sub>K<sub>9</sub>me<sub>2</sub> (*lisina 9 en la histona 3 dimetilada*): marca de repressió, ja que està present en la majoria dels gens inactivats; s'ha extret de ratolí.

\*Han de ser de diferent espècie per tal de poder-los distingir utilitzant diferents colors: els més freqüents són els de conill i ratolí.

Seguidament, utilitzar PBS per netejar per tal que el contacte entre cèl·lules i anticòs sigui més clar (repetir la neteja 3 vegades).

**Incubació de les cèl·lules amb un anticòs secundari** que porta unit un fluoròfor (component d'una molècula que fa que aquesta sigui fluorescent) el qual reconeix el seu anticòs primari corresponent: en el cas de l'anticòs de conill s'ha d'utilitzar un anticòs anticconill ("antirabbit") que té una fluorescència de color vermell i en el cas de l'anticòs de ratolí s'ha d'utilitzar un anticòs antiratolí ("antimouse") que té una fluorescència de color verd. Deixar-ho reposar tot 1h a temperatura ambient i a les fosques.

**Afegir el DAPI** per tal de visualitzar l'ADN: es tracta d'un tint fluorescent que s'intercala entre les bases de l'ADN i marca els nuclèols servint-nos de referència:

- Fons de color blau: eucromatina que es troba empaquetada.
- Punts condensats: heterocromatina (nucleosomes molt empaquetats)

\*Si comparéssim una línia tumoral amb una cèl·lula normal probablement observariem diferències en l'heterocromatina.

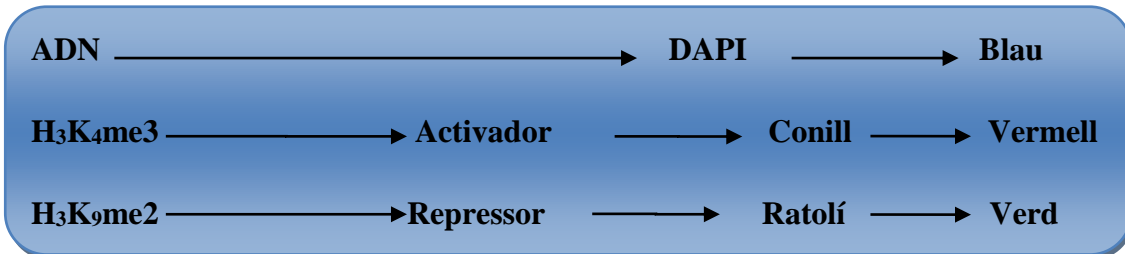
Passat 1 minut d'afegir el DAPI, netejar-ho tot amb PBS 3 vegades.

---

<sup>58</sup> Surfactant no-iònic (substància que influeix en la superfície de contacte entre dues fases) que conté una cadena d'òxid de polietilè hidrofílic i un grup hidrofòbic.

**Fer una solució amb glicerol i coure** per tal de poder veure la intensitat de les diferents marques i la seva distribució en el microscopi.

\*A vegades, la distribució és decisiva en els càncers i pot ser una marca indicativa entre una línia tumoral i la línia control.



### 8.2.2. Resultats de l'experiment

L'objectiu de la realització d'aquest experiment al laboratori era poder observar i comparar, al mateix temps, quins gens s'activaven i quins es reprimien en les dues línies tumorals diferents anteriorment esmentades (Hela S3 (càncer d'úter) i 293T (càncer de ronyó)).

Aquesta comparació va ésser possible gràcies a les marques repressores i activadores, afegides durant l'experiment, que es feien presents en les diferents cèl·lules; de fet, existeix una correlació entre el nivell de les diferents marques i l'activació o repressió dels gens. D'aquesta manera, podem afirmar que, depenent del càncer amb el qual es treballa, hi ha diferents gens activats, donant-nos evidència, per tant, que hi ha diferents marques epigenètiques.

En la pròxima taula que adjunto, es mostren els resultats de manera gràfica amb unes fotografies fetes amb un microscopi d'alta freqüència. Així, com he mencionat en el punt que precedeix aquest, aquesta taula correspon:

- Al primer nivell, amb color blau, es troben els resultats de la prova del DAPI servint-nos com a referència de les diferents cèl·lules mostrant-nos els nuclèols de les cèl·lules (de les cèl·lules, en aquestes imatges, el que observem són els nuclis amb els seus corresponents nuclèols).
- Al segon nivell, podem observar les fotografies corresponents a les marques activadores dels gens ( $H_3K_4me_3$ ) de les diferents línies tumorals que hem estudiat, donant-nos informació de quins gens es mostren en la seva forma activa en aquests tumors.
- Posteriorment, es mostren les marques repressores dels gens ( $H_3K_9me_2$ ), fent evidència, per tant, dels gens que se silencien en cadascun dels dos càncers.
- I, finalment, per tal de realitzar una comparació més fiable, hem realitzat una superposició de les dues marques que hem fet servir en l'experiment.

#### **Ara sí, quina conclusió en traiem d'aquesta pràctica?**

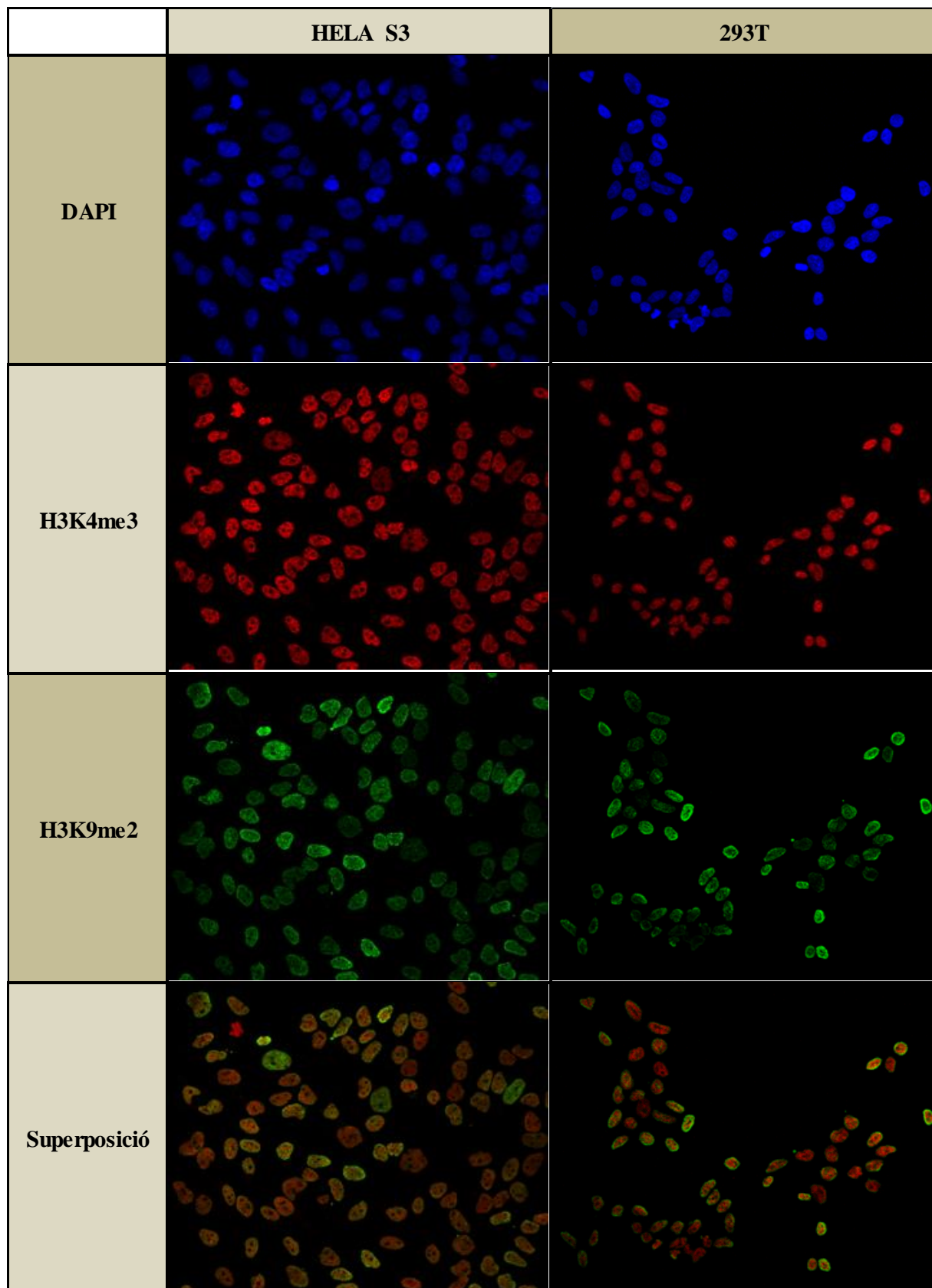
Observant aquestes imatges podria afirmar que no hi ha diferència entre una línia tumoral i l'altra, ja que són molt similars entre elles. La raó d'aquest fet rau en què, potser, ambdues funcionen epigenèticament molt semblant i, per tant, en el càncer

presenten un aspecte molt igual. A més, un altre perquè seria que, encara que aparentment en aquest experiment no ho percebem, perquè, tal com hem dit es tracta d'un estudi a nivell global del genoma, pot haver-hi canvis més locals en gens específics; aquests resultats tan exactes només són apreciables en els estudis amb una visió més local.

Tot i això, si ens fixem bé en les imatges, som capaços d'observar que en el cas de la línia tumoral 293T, els anticossos repressors ( $H_3K_4me_2$ ), que estan tenyits de color verd, es troben més a la perifèria dels nuclis de les cèl·lules; mentre que els activadors ( $H_3K_4me_3$ ) estan a la posició central exclouent els nuclèols.

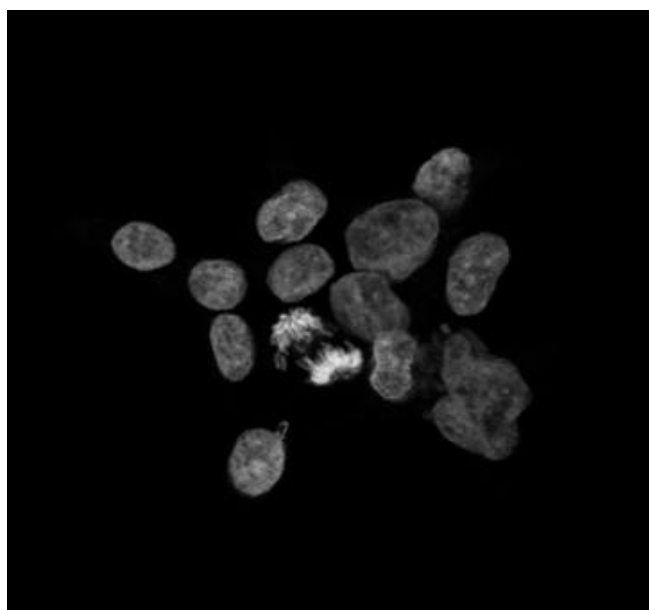
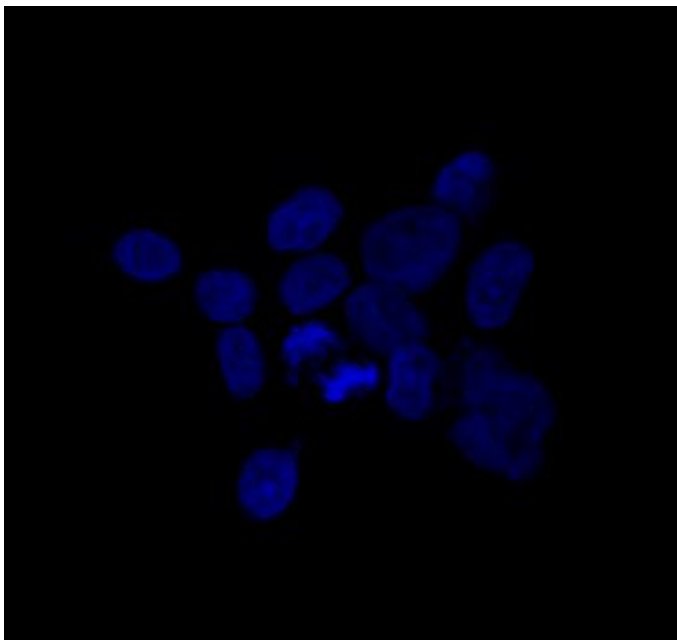
No obstant això, en la línia tumoral Hela S3 podem apreciar que la repartició de les diferents marques és bastant uniforme en algunes cèl·lules, mentre que en la majoria la marca més abundant és la que ens mostra que els gens estan actius ( $H_3K_4me_2$ ).

M'ha encantat realitzar aquesta pràctica de laboratori juntament amb les grans professionals que em van guiar, ja que gràcies a elles he estat capaç de veure la biologia d'una manera que no havia estat mai capaç, una manera fascinant en la que cada pas està dotat d'una gran importància i en la qual no sempre s'arriba al resultat desitjat fent tan essencial la paciència dedicada a la investigació.

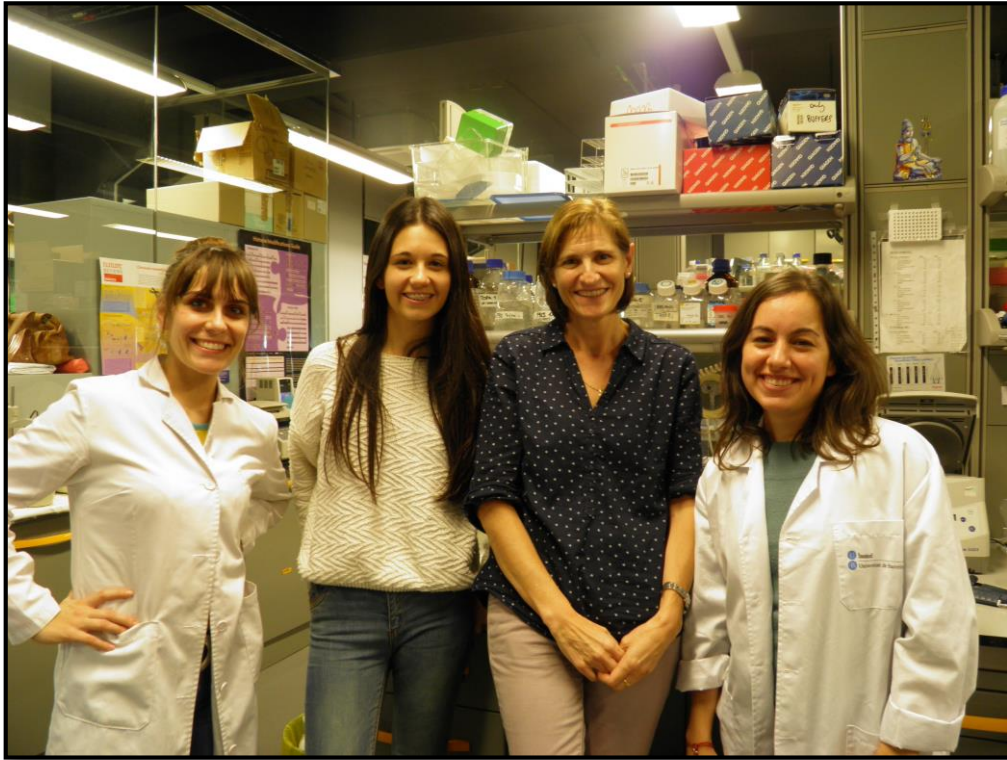


Com a curiositat a què m'agradaria fer menció, durant l'observació amb el microscopi de les cèl·lules preparades en l'experiment, una companya del laboratori i jo mateixa vam ésser capaces de veure un procés de mitosi impressionant en el qual es percep de forma molt clara tot allò estudiat en les classes teòriques de Biologia del col·legi.

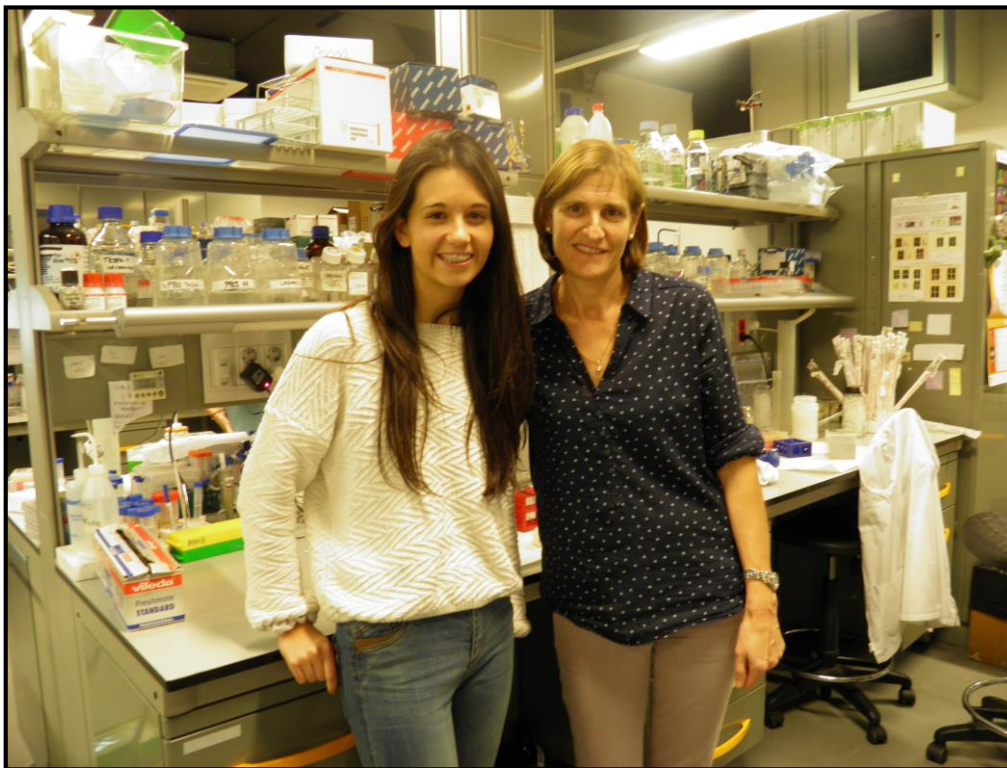
És per això, que em fa especial il·lusió incloure al meu treball les fotografies que vam realitzar, ja que, encara que no tinguin res a veure amb el tema que tracto durant totes aquestes pàgines, em van semblar molt interessants perquè no tothom és capaç de poder observar aquesta meravella que tots hem sigut explicats en alguna classe i que rarament podem visualitzar amb els nostres propis ulls.







Imatge 13: Fotografia realitzada amb l'equip de laboratori de la Marian Martínez que em van ajudar en el meu experiment



Imatge 14: Fotografia realitzada amb la Marian al laboratori on vam dur a terme l'experiment

## 9. AGRAÏMENTS

Després d'haver finalitzat aquest treball el qual ha requerit moltes hores de dedicació i esforç, totes aquestes estones es miren des d'una altra perspectiva; una perspectiva que permet adonar-te'n que han valgut la pena, no només per la feina realitzada sinó també per la gran quantitat de coneixements i satisfacció personal que m'ha aportat.

Tot i això, estic segura que aquest treball no hagués estat possible sense el suport que he rebut de determinades persones des del primer moment que vaig decidir començar a endinsar-me en aquest món totalment desconegut per a mi.

Agrair en primer lloc la col·laboració del tutor que m'ha guiat al llarg de la realització d'aquest Treball de Recerca, estant a la meva disposició en tot allò que necessitava i orientant-me en la direcció que prendrien aquestes pàgines.

Seguidament, una altra persona que m'ha ajudat enormement ha estat la Dra. Marian Martínez, doctora en ciències i investigadora científica del CSIC, que m'ha facilitat molta informació sobre el tema que he estat tractant i m'ha acollit al seu laboratori en dues ocasions de les que n'he sortit molt contenta i amb una mica més d'amor a la genètica. També es mereixen el meu gràcies les altres dues companyes que hi havia al laboratori durant la meva pràctica que em van anar guiant en aquesta.

Finalment, a la meva mare, el meu pare, la meva germana i la resta de la família per donar-me suport en tot moment i per fer-me ser conscient de la necessitat de dedicar esforç en tot allò que es fa per després obtenir-ne una immensa satisfacció.

## 10. CONCLUSIONS

En el moment de començar el meu treball de recerca no vaig formular-me cap hipòtesi amb la intenció d'arribar a una resposta al final d'aquest, sinó que el principal objectiu que em va impulsar a realitzar-lo van ser les ganes de conèixer de què tractava aquest tema del qual no n'havia sentit mai a parlar. Des de fa molts anys, el món de la genètica m'ha fascinat, de tal manera que l'acompliment d'aquest treball m'ha permès augmentar-ne els coneixements i ser una mica més crítica en aquest camp tan desconegut per la majoria.

Com he mencionat durant la realització del meu treball, en l'opinió d'un gran nombre de persones, i m'hi incloc a mi fa uns mesos, el que rep el pes més important en el procés de desenvolupament de l'ésser humà és allò que està escrit en la nostra seqüència d'ADN des del moment que naixem. No obstant això, aquestes pàgines m'han ajudat a adonar-me que la veritable importància rau en la manera amb què tractem els nostres gens tenint-ne una concepció de quelcom que pot presentar una expressió o una altra dependent de la vida que portem.

Durant moltes generacions s'ha cregut que no existia cap relació entre allò que experimenta una persona durant la seva vida i l'herència d'aquests caràcters a la descendència; doncs bé, en termes epigenètics les modificacions químiques que es donen en els gens no només afecten la persona que ha estat exposada a certs factors ambientals sinó també la seva descendència, arribant fins a la tercera o la quarta generació.

Moltes persones, després de llegir aquest treball, potser pensaran que l'epigenètica converteix la nostra vida en avorrida i trista en estar predeterminats a certs aspectes en el naixement causats per la vida que van portar els nostres avantpassats perdent d'aquesta manera el control de la nostra vida. Malgrat això, hem de tenir present que encara que tinguem determinats gens activats o desactivats som nosaltres els qui tenim l'última paraula i el poder de mantenir-los tal com estan o modificar-los canviant també la nostra manera de viure.

Es té la tendència de pensar que el terme "epigenètica" és quelcom nou que ha estat implantat fa molt pocs anys. Doncs bé, hem pogut comprovar que, encara que la gent no

sigui conscient de la seva existència, aquesta és una rama de la biologia que ha estat estudiada durant molts anys i que determina, a més, el futur d'una nova manera de concebre el tractament de les malalties, especialment el càncer, i la medicina preventiva.

En la meua opinió, un major coneixement d'aquest camp de la biologia en la nostra societat conscienciaria d'una manera molt notable a tothom de la importància que té anar en compte amb la nostra pròpia vida, la qual cosa afavoriria la disminució d'un gran nombre de malalties que podrien ser evitades amb un canvi en els hàbits diaris. Tothom sap que la genètica es refereix a la seqüència de l'ADN que serveix com a suport inamovible; però, tot i això, allò que realment li dóna "vida" i permet funcionar al genoma és desconegut en gran part per tothom.

L'epigenètica, per tant, essent un tema que va aparèixer per casualitat davant meu, m'ha obligat, a canviar completament les meves idees anteriors i a adonar-me de la meravellosa porta que ens obra aquesta ciència, considerant-la tant o més important que la genètica que ens ensenyen a l'escola, ja que ens fa partícips del fet que no som "màquines" que venim predestinades de fàbrica a viure, ser i comportar-nos d'una manera determinada, sinó que som cadascú de nosaltres qui decidim quines eines utilitzar, quins botons polsar i en quines mans ens disposem per tal de funcionar i escriure el nostre futur.

No és hora, doncs, que reflexionem i ens plantegem com volem que sigui la nostra vida i la d'aquells que ens precediran?

## 11. FONTS D'INFORMACIÓ

### EPIGENÈTICA EN GENERAL

LACHMANN, MICHAEL i SELLA, GUY (17-01-2003). *Epigenetic vs. Genetic, a story of the evolution of the germline* [consultat 02-07-2015]. Disponible a Internet: <http://www.santafe.edu/media/workingpapers/03-02-012.pdf>

TERRADAS, JAUME (2014). *Notícies sobre l'evolució – 8.El desenvolupament i l'epigenètica (p101)* [consultat 01-07-2015]. Disponible a Internet: [http://issuu.com/creaf\\_ecologia/docs/noticies\\_sobre\\_evolutio\\_optim](http://issuu.com/creaf_ecologia/docs/noticies_sobre_evolutio_optim)

*Investigación i ciencia – Epigenética* [consultat 02-07-2015]. Disponible a Internet: <http://www.revistaeidon.es/archivo/crisis-y-salud/investigacion-y-ciencia/117910-epigenetica>

SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR (març del 2014). *Epigenética* [consultat 04-07-2015]. Disponible a Internet: [http://www.sebbm.com/revista/imagenes/revistasebbm\\_0179.pdf](http://www.sebbm.com/revista/imagenes/revistasebbm_0179.pdf)

Vídeos de TV2: *Genes fantasma (1, 2 i 3)* (24-02-2009) [consultat 04-07-2015]. Disponibles a Internet: [http://www.dailymotion.com/video/xb97y6\\_epigenetica-genes-fantasma-1\\_school](http://www.dailymotion.com/video/xb97y6_epigenetica-genes-fantasma-1_school) , [http://www.dailymotion.com/video/xb97xn\\_epigenetica-genes-fantasma-2\\_school](http://www.dailymotion.com/video/xb97xn_epigenetica-genes-fantasma-2_school) , [http://www.dailymotion.com/video/xb97wy\\_epigenetica-genes-fantasma-3\\_school](http://www.dailymotion.com/video/xb97wy_epigenetica-genes-fantasma-3_school)

ESTELLER, MANEL (setembre 2014). *Epigenètica; Senescència 3* [consultat 01-07-2015]. Disponible a Internet: [www.ub.edu/senesciencia/noticia/epigenetica/](http://www.ub.edu/senesciencia/noticia/epigenetica/)

### EPIGENÈTICA I CÀNCER

A. DAWSON, MARK; KOUZARIDES, TONY (06-07-2012). *Cancer Epigenetics: From Mechanism to Therapy*; Revista Cell [consultat: 23-09-2015]. També disponible a Internet: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867412007623>

ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA DE MÉXICO (novembre - desembre 2002). *Modificaciones epigenéticas de la cromatina en la generación del cáncer*; vol.

138; núm. 6. [consultat: 23-09-2015]. També disponible a Internet: <http://www.revista.unam.mx/vol.5/num2/entrevist/gacmedmex.pdf>

W. LAIRD, PETER (21-01-2005). *Cancer epigenetics*; vol. 14; Review Issue I; [consultat: 23-09-2015]. També disponible a Internet: [http://hmg.oxfordjournals.org/content/14/suppl\\_1/R65.full](http://hmg.oxfordjournals.org/content/14/suppl_1/R65.full)

H. LUND, ANDERS; VAN LOHUIZEN, MAARTEN. *Cancer epigenetics* [consultat: 23-09-2015]. Disponible a Internet: <http://genesdev.cshlp.org/content/18/19/2315.full>

KOUZARIDES, TONY (23-02-2007). *Chromatin modifications and their function*; vol. 124; p. 693-705; [consultat: 23-09-2015]. També disponible a Internet: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867407001845>

A. STEFANSSON, OLAFUR; ESTELLER, MANEL (Octubre 2013) *Epigenetic modification in breast cancer and their role in personalized medicine*; vol. 183; p.1052-1063; [consultat: 23-09-2015]. També disponible a Internet: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002944013004598>

RODRÍGUEZ DORANTES, MAURICIO (febrer 2004). *DNA methylation: an epigenetic process of medical importance*. [consultat:30-08-2015]. Disponible a Internet: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0034-83762004000100010&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0034-83762004000100010&script=sci_arttext)

LOBO, INGRID (2008). *Genomic Imprinting and Patterns of Disease Inheritance*; Nature Education; [consultat: 28-08-2015]. Disponible a Internet: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/genomic-imprinting-and-patterns-of-disease-inheritance-899>

SHARMA, SHIKHAR; K. KELLY, THERESA; A. JONES, PETER (14-07-2009). *Epigenetics in cancer*; [consultat: 25-07-2015]. Disponible a Internet: <http://carcin.oxfordjournals.org/content/31/1/27.full>

*Epigenetic modifications regulate gene expression*. [consultat: 27-07-2015] Disponible a Internet: <http://sabiosciences.com/manuals/EPIG-article.pdf>

B. BAYLIN, STEPHEN (16-08-2005). *DNA methylation and gen silencing in cancer*; Nature Clinical Practise Oncology; [consultat: 15-07-2015]; Disponible a Internet: <http://www.nature.com/nrclinonc/journal/v2/n12s/full/ncponc0354.html>

ESTELLER, MANEL (12-08-2002). *CpG island hypermethylation and tumour suppressor genes: a booming present, a brighter future*; vol. 21; núm. 35; p. 5427-5440; [consultat: 02-08-2015]; Disponible a Internet: <http://www.nature.com/onc/journal/v21/n35/full/1205600a.html>

Vídeo: ESTELLER, MANEL (24-06-2011). *Manel Esteller: Epigenètica del càncer*. [consulta: 10-08-2015]; Disponible a Internet: [http://www.dailymotion.com/video/xjhxyj\\_manel-esteller-epigenetica-del-cancer\\_school](http://www.dailymotion.com/video/xjhxyj_manel-esteller-epigenetica-del-cancer_school)

HUMAN MOLECULAR GENETICS (Oxford Journals) (15-04-2006). *Non-coding RNA*; vol. 15; [consultat: 15-08-2015]; Disponible a Internet: [http://hmg.oxfordjournals.org/content/15/suppl\\_1/R17.full](http://hmg.oxfordjournals.org/content/15/suppl_1/R17.full)

Vídeo: MicroRNAs in the development and treatment of cancer (Memorial Sloan Kettering) [consultat: 20-08-2015]; Disponible a Internet: <https://www.youtube.com/watch?v=Yuvtrho7ehg>

### FACTORS EXTERNES QUE PROVOQUEN CANVIS EPIGENÈTICS

MARTIN, ESTHER (03-09-2013). *Los hábitos pueden modificar nuestra predisposición genética a enfermar*; Revista online “Inspira” [consultat: 10-10-2015]; Disponible a Internet: <http://www.fundrogertorne.org/salud-infancia-medio-ambiente/divulga/inspira-nuevo/2013/09/03/los-habitos-pueden-modificar-nuestra-predisposicion-genetica-a-enfermar/>

GERSTEN, TODD (20-09-2013). *Deficiencia de folato* [consultat: 10-10-2015]; Disponible a Internet: <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000354.htm>

*Dieta Epigenética, ¿somos lo que comemos* (05-10-2010) [consultat: 10-10-2015]; Disponible a Internet:

[http://www.terapiaalternativa.eu/terapias\\_alternativas/terapias\\_tratamientos/epigenetica.html](http://www.terapiaalternativa.eu/terapias_alternativas/terapias_tratamientos/epigenetica.html)

VAN DER KNAAP, L. J. (08-04-2014). *Glucocorticoid receptor gene methylation following stressful events between birth and adolescence*. [consultat: 27-12-2015]. Disponible a Internet: <http://www.nature.com/tp/journal/v4/n4/full/tp201422a.html>

CELNIKIER, FABIO (2007). *Lo Transgeneracional* [consultat: 27-12-2015]. Disponible a Internet: <http://www.epigenetica.org/rachel-yehuda-johnatan-seckl-holocausto-y-11-s/>

E. PARETS, SASHA (21-08-2014). *Preterm birth and its long-time effects: Methylation to mechanisms*; [consultat: 29-12-2015]. Disponible a Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4192624/>

L. BALE, TRACY (setembre 2014). *Lifetime stress experience: transgeneracional epigenetics and germ cell programming*; [consultat: 29-12-2015]. Disponible a Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4214173/>

*Hacer deporte modifica la epigenética y previene la diabetes-2* (14-03-2012) [consultat 30-12-2015]; Disponible a Internet: <http://www.ehu.es/ehusfera/genetica/2012/03/14/hacer-deporte-modifica-la-epigenetica/>

*Sólo una noche sin dormir puede causar enfermedades y variar nuestro reloj biológico* (29-07-2015) [consultat: 30-12-2015]; Disponible a Internet: <http://www.ideal.es/sociedad/201507/29/solo-noche-dormir-puede-20150727175200.html>

### HERÈNCIA DELS CANVIS EPIGENÈTICS

A. ALEDO (25-02-2010). *Más allá de la herencia: Epigenética, el legado de Lamarck*; [consultat: 13-12-2015]. Disponible a Internet: <https://paradigmedical.wordpress.com/2010/02/25/mas-alla-de-la-herencia-epigenetica-el-legado-de-lamarck/>



FELSENFELD, GARY [consultat: 25-12-2015]. Disponible a Internet o en format PDF:  
[http://w3.biosci.utexas.edu/atkinson/Epigenetics2014/Epigenetics2014/Readings\\_files/Ch2BriefHistoryEpigenetics.pdf](http://w3.biosci.utexas.edu/atkinson/Epigenetics2014/Epigenetics2014/Readings_files/Ch2BriefHistoryEpigenetics.pdf)

MARTIENSSEN, ROBERT. A (27-03-2014). *Transgeneracional Epigenetic Inheritance; Myths and Mechanisms*; vol. 157; Cell [consultat: 25-12-2015]. Disponible a Internet: [http://www.cell.com/cell/abstract/S0092-8674\(14\)00286-4?\\_returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867414002864%3Fshowall%3Dtrue](http://www.cell.com/cell/abstract/S0092-8674(14)00286-4?_returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867414002864%3Fshowall%3Dtrue)

### UN PETIT VIATGE AL LLARG DEL TEMPS... (HISTÒRIA)

CAREY, NESSA (2012). *Beyond DNA: Epigenetics (Deciphering the link between nature and nurture)*. [consultat: 27-12-2015]; Disponible a Internet: <http://www.naturalhistorymag.com/features/142195/beyond-dna-epigenetics>

