



Universidad
Zaragoza

TRABAJO DE FIN DE GRADO 2021

**HÁBITO TABÁQUICO Y CIR:
ENHANCERS Y SUPERENHANCERS**

**SMOKING AND IUGR:
ENHANCERS AND SUPERENHANCERS**

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA: Grado en Medicina

AUTORA: Marina García Espallargas

TUTORAS: Blanca Conde Guerri y Eva Barrio Ollero

ÍNDICE:

1. Resumen.....	3
2. Objetivos.....	4
3. Introducción.....	5
3.1. Epigenética.....	5
3.1.1. Metilación del ADN.....	6
3.1.2. Modificación de histonas.....	7
3.1.3. Elementos reguladores: ARN no codificante.....	8
3.1.3.1. miARN.....	9
3.1.3.2. siARN.....	10
3.1.3.3. piARN.....	11
3.2. Enhancers y superenhancers: embriogénesis, descubrimiento y función.....	12
4. Discusión.....	16
Desarrollo embrionario y epigenética.....	16
CIR.....	17
CIR y hábito tabáquico.....	20
Enhancers y superenhancers relacionados con el tabaquismo.....	23
5. Conclusiones.....	28
Listado de abreviaturas.....	29
Bibliografía.....	30

1. RESUMEN

La epigenética es la ciencia que estudia los cambios hereditarios causados por la activación y desactivación de genes sin cambios en las secuencias del ADN. La regulación epigenética puede modificar el ADN mediante diversos mecanismos como la metilación, la modificación de histonas o a partir de elementos reguladores, tal como MicroARN, SiARN y PiARN. También se lleva a cabo la regulación de los genes gracias a unos elementos novedosos y de gran importancia: los enhancers y los superenhancers. Un "enhancer" es una pequeña región del ADN eucariota que actúa como plataforma de unión de factor de transcripción integrado y activa la transcripción. Los "superenhancers" son un grupo de enhancers particularmente grandes y potentes. Ambos han sido estudiados como dianas de metilación y se relacionan directamente con los efectos producidos durante el desarrollo embrionario en el feto como consecuencia del hábito tabáquico materno. La exposición a dicho tóxico (ataque ambiental) podría afectar a la metilación en las regiones de genes impresos, encontrando una mayor sensibilidad en los enhancers. Estos DMR inducidos por el tabaco están enriquecidos en marcas epigenéticas que se corresponden a enhancers y esto sugiere mecanismos por los cuales el tabaco podría afectar el epigenoma y afectar el desarrollo placentario y crecimiento fetal, produciendo complicaciones tales como CIR.

Palabras clave: epigenética, CIR, tabaco, enhancer, metilación.

ABSTRACT

Epigenetics is the science that studies inherited changes caused by turning genes on and off without changes in DNA sequences. Epigenetic regulation can modify DNA through various mechanisms such as methylation, histone modification or from regulatory elements, such as MicroRNA, SiRNA and PiRNA. The regulation of genes is also carried out thanks to some novel and highly important elements: enhancers and superenhancers. An "enhancer" is a small region of eukaryotic DNA that acts as a binding platform for integrated transcription factor and activates transcription. The "superenhancers" are a group of particularly large and powerful enhancers. Both have been studied as methylation targets and are directly related to the effects produced during embryonic development in the fetus as a consequence of maternal smoking. Exposure to said toxin (environmental attack) could affect methylation in the imprinted gene regions, finding greater sensitivity in enhancers. These tobacco-induced DMRs are enriched in epigenetic marks that correspond to enhancers and this suggests mechanisms by which tobacco could affect the epigenome and affect placental development and fetal growth, producing complications such as IUGR.

Key words: epigenetic, IUGR, tobacco, enhancer, methylation.

2. OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo son:

1. Conocer conceptos clave tales como epigenética, metilación, modificación de histonas y ARN no codificante con sus subtipos.
2. Estudiar los enhancers y los superenhancers y su implicación en la regulación de los genes como dianas de metilación.
3. Estudiar cómo influyen los enhancers y los superenhancers en el desarrollo embrionario como consecuencia del hábito tabáquico en las gestantes.
4. Conocer la restricción del crecimiento intrauterino como una complicación que puede afectar al feto debido al efecto tóxico del tabaco.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. EPIGENÉTICA

Campo de la ciencia que estudia los cambios hereditarios causados por la activación y desactivación de los genes sin ningún cambio en la secuencia de ADN. Hace referencia a las modificaciones en la expresión de los genes que son heredables y que no producen alteraciones en la secuencia de nucleótidos.

La regulación epigenética modula la expresión y la cromatina; y además puede modificar el ADN por distintas modificaciones bioquímicas. (1)

La inactivación epigenética consiste en el silenciamiento funcional de los genes manteniéndose la secuencia y codificación de los mismos. Estaríamos hablando de una estrategia de control.

La importancia de la epigenética estriba en que se trata de un enfoque de investigación desde el cual se replantea la relación causal entre genes y rasgos, al hacerse énfasis en el estudio de la “expresión”.

La epigenética aparece como un nuevo lenguaje para entender cómo la cultura, la salud y la naturaleza intervienen de igual forma en la regulación de la herencia. Los cambios evolutivos surgen tanto de la cultura como de la selección natural de manera que la interacción de los genes con el entorno expresa la variación genética. De esta manera, la dimensión genética es sólo una pequeña parte del entramado hereditario.

Actualmente se puede tener información muy precisa, rápida y económica sobre la presencia de determinadas variantes genéticas en el genoma del individuo. (1)

A pesar de los grandes avances realizados en la secuenciación del genoma, el conocimiento de las variantes genéticas en el ADN no es suficiente para predecir el riesgo de enfermedad, ya que existen otros elementos reguladores más dinámicos denominados epigenoma, que a su vez tienen capacidad para regular la expresión de las secuencias de ADN. Por ello hoy resulta imprescindible estudiar conjuntamente el genoma y el epigenoma para un mejor conocimiento de las bases moleculares en los fenotipos.

A diferencia del genoma, que es el mismo en todas las células somáticas, el epigenoma es específico de cada tipo celular. (2)

A nivel celular, los mecanismos epigenéticos participarían en un proceso de «programación» durante el desarrollo temprano del individuo. Estos mecanismos comprenden una serie de modificaciones químicas sobre el ADN y las proteínas que interactúan con éste, las cuales modulan y regulan la expresión de genes a corto y largo plazo, sin alterar el código genético.

Esta hipótesis originalmente denominada «programación fetal» hoy es conocida como «origen en el desarrollo de la salud y enfermedad» debido a la creciente certeza de que el efecto sobre la salud del individuo está presente desde antes de la concepción hasta los primeros años de vida.

Durante las primeras etapas del desarrollo, los individuos presentan una alta capacidad de adaptación al medio ambiente y es aquí donde hablamos de la plasticidad. (3)

El epigenoma es muy plástico, cambia durante el desarrollo y al exponerse a señales ambientales externas. Los cambios pueden ocurrir dentro de generaciones o a través de generaciones.

Los cambios fenotípicos pueden preceder a los cambios epigenéticos. Las modificaciones epigenéticas pueden asociarse con la magnitud del cambio en las normas de reacción de algunos fenotípicos pero no de todos los rasgos.

Las señales ambientales, especialmente el estrés, conducen a cambios específicos en el epigenoma que se acompañan de modificaciones fenotípicas.

La dinámica de la plasticidad epigenética suele ser mucho más alta que la del genoma, en cambios de información epigenética observables en el tiempo, acompañan o lideran a los cambios fenotípicos. (4)

Dicha plasticidad le permite a una determinada especie desarrollar adaptaciones a corto plazo, además de las adaptaciones genéticas a largo plazo que se producen como consecuencias de la selección natural. Como resultado de esta interacción genoma-medio ambiente el organismo va generando un repertorio de respuestas a «eventos probables», proceso conocido como «programación fetal».

Este proceso afecta tanto al desarrollo placentario como fetal y está fuertemente influido por mecanismos epigenéticos, los cuales alteran a largo plazo la expresión de genes sin alterar la secuencia de ADN.

Los mecanismos epigenéticos tienen una función clave en el desarrollo, no solo controlando la diferenciación celular, sino además registrando señales del medio ambiente en condiciones fisiológicas y patológicas. Los mecanismos moleculares considerados epigenéticos incluyen metilación del ADN, modificaciones postraduccionales de histonas, modificación de la cromatina dependiente de ATP (adenosín trifosfato), y ARN no codificantes. (3)

Actualmente la investigación en epigenética es prioritaria y está un momento crucial. (4)

3.1.1. METILACIÓN DEL ADN

Consiste en la adición de un grupo metilo en la posición 5-C de dinucleótidos CpG (islas con alta concentración de citosina y guanina) que pueden relacionarse con la región promotora de los genes. Realizada por las enzimas metiltransferasa o aADN-metilasa (DNMT1, DNMT3a, DNMT3b). Compacta la estructura de la cromatina y produce silenciamiento génico. Es reversible y permite modular la expresión de genes siendo así una estrategia de control génico.

Encontramos dos grupos:

- DNMT1: ADN metiltransferasas de mantenimiento, son las que mantienen los patrones de metilación. Inmediata a la replicación.
- DNMT3A y DNMT3B: metiltransferasas de novo, son las que realizan nuevas metilaciones. Por adición de grupos metilo en posiciones nuevas en ambas cadenas.

La regulación epigenética por metilación es compleja pero en general la metilación en elementos reguladores de los genes, tales como promotores, potenciadores y represores; suprime su función. (2)

La metilación del ADN juega un papel importante en salud humana y se ha asociado con un número creciente de enfermedades, lo cual ha sido motivo de múltiples estudios.

Así, cabe mencionar un estudio de asociación del epigenoma (5) (EWAS- estudios de asociación del epigenoma completo) realizado para investigar las alteraciones en la metilación del ADN en lactantes expuestos en el útero al humo del tabaco materno.

El tabaquismo materno puede causar cambios biológicos que influyen en la susceptibilidad a ciertas enfermedades. Se produce una alteración del epigenoma fetal que puede tener consecuencias a largo plazo y por ellos se investigan alteraciones en la metilación del ADN en lactantes que indica exposición del feto en el útero al tabaco materno.

Los cambios se pueden estudiar tanto en el ADN de placenta, como en la sangre del cordón umbilical, células bucales, granulocitos o como enfoque más global en el epigenoma.

En dicho estudio se identificaron 185 islas CpG con metilación alterada en hijos de madres fumadoras en el genoma. Se destacan FRMD4A, ATP9A y MEG3 implicados en procesos relacionados con la dependencia de la nicotina, el abandono del tabaquismo y la placenta y embriones; los cuales explicaremos a continuación. (5)

Cabe destacar el papel de ciertos genes. Tiene gran importancia MEG3 (gen impreso de ARN expresado por la madre), relacionado con CIR (restricción del crecimiento intrauterino) y que afecta al desarrollo embrionario y a largo plazo produce efectos en la salud. FRMD4A (gen codificador de una proteína del dominio FERM) y ATP9A (gen codificador de proteínas) asociados con la nicotina, la dependencia de sustancias y la capacidad para dejar de fumar. Se relacionan con la dependencia de la nicotina en la adolescencia en hijos de madres que fumaban

durante el embarazo. GALNT2 identificado solo en recién nacidos expuestos y no adultos, puede afectar al desarrollo de la placenta y posteriormente podría influir en la salud del feto.

Por otro lado analizamos otro estudio y destacamos los genes de los loci H19/IGF2 en relación con el CIR. (6)

La expresión del locus H19/IGF2 implica una interacción compleja de tres medios de regulación epigenética: establecimiento adecuado de la metilación del ADN, la metilación del promotor de CTCF (factor de transcripción codificado por el gen CTCF) y la expresión de microARN-675.

CIR se asocia con cambios en la expresión del gen H19. Estos cambios son reversibles con suplementos dietéticos para favorecer el impacto del síndrome metabólico del adulto, siendo el individuo susceptible a la aparición de dicho síndrome en etapas más avanzadas de la vida. La suplementación dietética puede rescatar ese fenotipo y por ello hablamos de plasticidad postnatal del perfil de metilación.

Tanto H19 como IGF2 son parte integral de crecimiento y desarrollo fetal. El IGF2 se expresa a partir del alelo paterno durante todo el desarrollo promocionando crecimiento fetal y placentario. Alteraciones en el mismo se han visto implicadas en el post control del crecimiento natal y la susceptibilidad a la obesidad.

Combinación de alteraciones en el ADN y metilación de CTCF pueden contribuir a la disminución de la expresión de H19 que está asociado con CIR y susceptibilidad a enfermedades en el adulto. (6)

Si seguimos analizando estudios sobre CIR y metilación, debemos saber también que la placenta juega un papel fundamental en la coordinación del crecimiento fetal, con muchas funciones clave reguladas por la impronta genómica. (7)

Se llevó a cabo una evaluación a gran escala de metilación y expresión en dominios metilados ubicuos y específicos de placenta.

Entre los resultados se encontró metilación aberrante aislada en todas las regiones metiladas diferencialmente (DMR) y abundante hipometilación en DMR específicos de placenta.

La metilación aberrante en DMR ubicuos se asocia con CIR y en DMR específicos es menos estable.

Igualmente, se vió una ganancia de metilación en dos DMR asociados con los genes MEST y MCTS2 y con una placenta CIR; y pérdida parcial de metilación en H19 y SNU13 DMR. (7)

3.1.2. MODIFICACIÓN DE HISTONAS

Las histonas son unas proteínas estructurales reguladoras de genes que se combinan en el núcleo de la célula con largas hebras de ADN que contienen los genes constituyendo los nucleosomas o primer nivel de compactación de la cromatina; material que constituye los cromosomas. Son un elemento fundamental, ya que sin ellas el ADN sería una maraña desorganizada de nucleótidos y con ellas se lleva a cabo el empaquetamiento eficiente del material hereditario en el núcleo celular y se controla la transcripción en los eucariotas. Es decir, su función como reguladoras del metabolismo del ADN es clave. (8)

Las histonas se estructuran en dos dominios: una región central plegada que interacciona con el ADN (hélice-alfa larga flanqueada por dos hélices-alfa cortas) y un dominio N-terminal llamado “colas de histonas”. Estas colas pueden sufrir diversas modificaciones postraduccionales que afectan a la estructura de la cromatina y a su función. (9)

Encontramos histonas divergentes o variantes (especializadas) y las típicas o canónicas. Las canónicas son los componentes universales de los nucleosomas y las variantes son las que están implicadas en la transcripción y se incorporan a la cromatina de forma independiente a la replicación del ADN. (9)

Las histonas son susceptibles de sufrir transformaciones químicas que aumentan o disminuyen su afinidad por el ADN y las clasificamos en cinco familias principales que componen el nucleosoma (unidad estructural de la cromatina): H1, H2A, H2B, H3 y H4.

En la familia H1 encontramos las histonas de enlace que se encargan de sellar los dos giros del ADN alrededor de la estructura central. Esto permite la compactación de la cromatina.

Por otro lado tenemos las histonas H2A.X y H2A.Z, involucradas en la reparación del ADN y en la regulación de la expresión génica, respectivamente.

También hay variantes de la familia H3 como H3.3, encargada de la reorganización de la cromatina espermática de los mamíferos o CENPA, encargada de la organización de la cromatina en los centrómeros de los cromosomas. (8)

A continuación vamos a hablar del código de histonas. Las histonas variantes intervienen en los procesos de condensación y descondensación de la cromatina y estas transformaciones se deben a la combinación de tres mecanismos: el reemplazamiento de histonas canónicas por histonas variantes, modificaciones químicas en la estructura de las histonas (modificaciones postraduccionales) y la asociación con complejos capaces de remodelar la estructura de la cromatina. Hace referencia a la correcta coordinación de ciertos mecanismos para lograr un resultado u otro. Estos tres mecanismos combinados son los que activan y regulan procesos concretos en el material hereditario. (8)

Vamos a hablar de las modificaciones postraduccionales de histonas. Las más conocidas son: acetilación, metilación y fosforilación. Son modificaciones dinámicas, que cambian rápidamente en respuesta a estímulos celulares y que proporcionan un enorme potencial de respuestas funcionales. (9)

- Acetilación: la acetilación de histonas está regulada por el equilibrio entre las histonas acetiltransferasas (HAT) y las histonas desacetilasas (HDAC). La acetilación puede reducir la carga positiva de los residuos de lisina, que luego inhibirán la unión entre las colas de histona y el ADN cargado negativamente, dejando expuesto el ADN subyacente. Por tanto, la acetilación de histonas se suele considerar una marca de histona activa. Hay muchos residuos de lisina que pueden acetilarse en histonas incluidos: H3K4, H3K9, H3K27, H3K36, H3K79, H4K5, H4K12 y H4K20.

- Metilación: generalmente ocurre en los residuos de lisina (K) de las histonas H3 y H4 por la adición de grupos metilo y es una de las modificaciones postranscripcionales más importantes. Está catalizada por la histona metiltransferasa (HMT) y utiliza S-adenosil metionina como sustrato para transferir grupos metilo en los residuos de lisina de las histonas. Estos residuos pueden ser mono, di o trimetilados para actuar como marcas activas o represivas de expresión génica. Consideramos activas H3K4, H3K36 y H3K79 y represivas H3K9, H3K27 y H4K20

- Fosforilación: es una de las modificaciones postraduccionales más comunes que también se produce en los residuos de serina y tirosina de las histonas. Participa en una amplia gama de procesos celulares, incluida la expresión génica, la regulación del ciclo celular, la reparación del daño del ADN y la división celular asimétrica. Dos de los sitios de metilación importantes, H3K9 y H3K27, comparten el mismo residuo de serina posterior que puede fosforilarse, formando un dominio "KS". (10)

3.1.3. ELEMENTOS REGULADORES: ARN NO CODIFICANTE

Una forma de regulación génica es por medio de los ARN de interferencia (iARN) los cuales no codifican para una proteína en específico, pero sus secuencias son complementarias a ADN o ARN codificante e impiden su traducción. Es una forma de regulación negativa de la expresión a nivel post-transcripcional. Uno de estos tipos de ARN son los micro ARN de interferencia (miARN), los cuales se unen a secuencias complementarias y degradan dicho transcrito impidiendo así que se dé la traducción a proteínas. Se ha visto la importancia de este tipo de regulación génica en varios escenarios como: regulación en producción de tumores, efectos del envejecimiento por cambios en la metilación, asociado al estrés por metilación en genes neurales, involucrado en imperfección del desarrollo fetal entre otros. (11)

Estos ARN no codificantes pueden causar silenciamiento génico a través de los denominados ARN de interferencia. El ARN interferente es una molécula de ARN que suprime la expresión de genes específicos mediante mecanismo conocidos globalmente como ribointerferencia (sistema

que utilizan las células de los organismos vivos para controlar los genes que están activos en un momento o un tipo celular y su grado de activación; o de forma más concreta, mecanismo de silenciamiento post-transcripcional de genes específicos ejercido por moléculas de ARN que conducen a la degradación de éste) o interferencia por ARN (iARN).

Los iARN son moléculas pequeñas que se generan por fragmentación de precursores más largos. Se clasifican en: ARN interferente pequeño (siARN), micro ARN (miARN) y ARN asociados a Piwi (piARN). A continuación hablaremos de ellos.

Esta propiedad está siendo utilizada en el desarrollo de nuevas terapéuticas.

Tienen un papel importante en algunos procesos tales como:

- Rol preponderante de la regulación génica en la producción de procesos tumorales.
- Perturbación en la metilación del ADN durante el envejecimiento.
- Relación entre trastornos del desarrollo fetal como el CIR y fenómenos epigenéticos. (11)

El ARN no codificante además, está involucrado en el desarrollo del cerebro, en el crecimiento de las neuronas, en las funciones sinápticas y en la traducción de la sinapsis. Este ARN puede importarse-exportarse entre células y dicha comunicación intercelular es un mecanismo poderoso que mejora las propiedades postsinápticas permitiendo el poder cognitivo del cerebro humano. (12)

3.1.3.1. miARN

ARN monocatenario de longitud entre 21 y 25 nucleótidos que presentan la capacidad de regular la expresión de otros genes mediante diversos procesos utilizando la ruta de ribointerferencia. Es un microrregulador de la expresión génica a nivel postranscripcional en una gran variedad de tipos celulares y procesos fisiológicos. En la figura 1 se observa la biogenia y el mecanismo de acción de estos elementos.

Está codificado en el genoma celular y es transcrito a ARN en el núcleo dando lugar a los pre-micro-ARN, los que madurarán en el citoplasma y realizarán su función ya como micro-ARN maduros.

Son capaces de disminuir la expresión en determinadas proteínas (aquellas con las que existe cierta complementariedad en unas regiones específicas de mRNA) mediante la degradación o inhibición de la traducción de mRNA a proteína. (13)

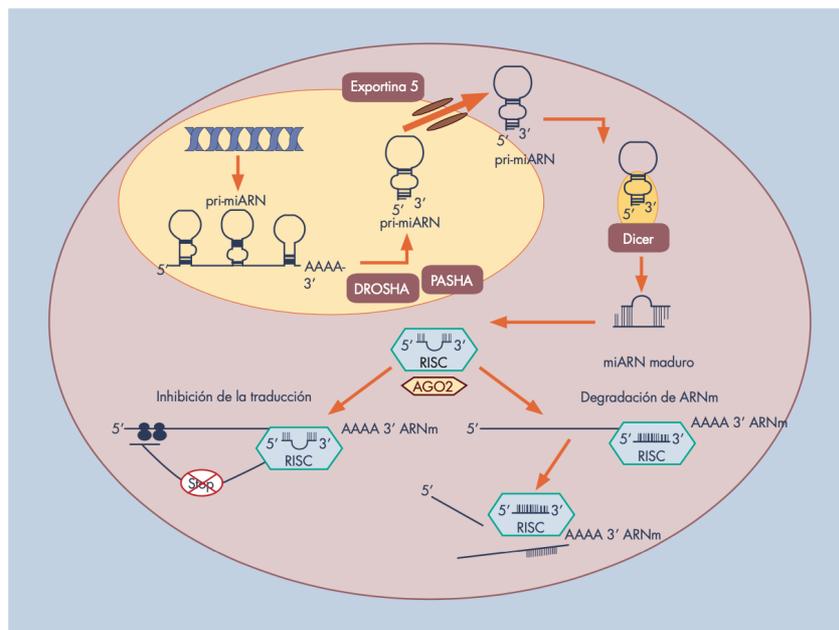


Figura 1. Biogenia y mecanismo de acción de los miARN. (13)

Son unos elementos reguladores especialmente interesantes por su posibilidad de actuar como herramienta terapéutica, ya que modifican de forma específica la expresión de determinados genes.

Las alteraciones en la expresión de los miARN no son simplemente una consecuencia de la transformación maligna, muchos de ellos están implicados en la regulación directa de vías moleculares controladas por genes supresores de tumores u oncogenes.

Los miARN pueden contribuir tanto al diagnóstico como al pronóstico de la enfermedad y podrían llegar a ser considerados como dianas terapéuticas potenciales para controlar la progresión del cáncer. (13)

3.1.3.2. siARN

ARN pequeño de interferencia o ARN de silenciamiento, se trata de un ARN bicatenario. Tiene una longitud de 20 a 25 nucleótidos y es altamente específico para la secuencia de nucleótidos de su ARN mensajero diana. Interviene en el mecanismo de interferencia, es decir, interfiere con la expresión de un gen específico y la reduce.

Su síntesis se puede hacer por varias vías: en invertebrados se pueden utilizar moléculas grandes de ARN de doble cadena que serán procesadas a siARN dentro de la célula, y en vertebrados necesitamos utilizar directamente moléculas de siARN o ARN pequeños de horquilla.

Una desventaja importante es el corto tiempo de duración del silenciamiento. Para incrementarlo se desarrollan vectores de expresión que contienen promotores de la ARN polimerasa para la transcripción de siARN dentro de la célula.

A continuación vamos a explicar el mecanismo de silenciamiento génico. Los siARN son producidos a partir de precursores de ARN que son procesados por miembros de la familia de enzimas que degradan al ARN (ARNasa tipo III). La enzima que genera los siARN se conoce como Dicer, y una vez generados van a ser incorporados a un complejo denominado complejo de silenciamiento inducido por el ARN o RISC (RNA-induced silencing complex), el cual está formado por numerosas proteínas celulares. En la figura 2 se observan los pasos necesarios en la formación y funcionamiento de RISC. (14)

Al incorporarlo, se produce la separación de las dos hebras en cadenas simples, una de las cuales (hebra guía) se mantiene asociada al complejo e identifica el ARN mensajero blanco con el que se va a complementar. La hebra guía del siARN y el ARNm deben presentar una perfecta complementariedad cerca del sitio de ruptura, ya que el silenciamiento génico se basa en la complementariedad de bases entre la molécula de siARN y la molécula de ARNm para conseguir la hidrólisis del mensajero. (14)

El silenciamiento se puede llevar a cabo en dos niveles: transcripcional y post-transcripcional.

El transcripcional sucede dentro de la célula y se inhibe la síntesis de ARNm al no tener lugar la transcripción. Los genes se silencian por reordenamiento del ADN y modificación química de las histonas, induciendo la formación de heterocromatina y dando lugar a zonas de ADN de alta densidad que impiden que se lleve a cabo la transcripción y los genes que se encuentran en esa región no se expresan.

Por otro lado, el silenciamiento post-transcripcional consiste en que se produce transcripción del gen silenciado. El ARNm sufre una degradación específica en función de su secuencia y no habrá síntesis proteica del gen “silenciado”.

Podemos medir el grado de silenciamiento y para ello habría que determinar la disminución de los niveles de ARNm blanco o de la proteína blanco. Hablamos de silenciamiento válido cuando ocurre una disminución sustancial de los niveles de expresión del gen de interés. (15)

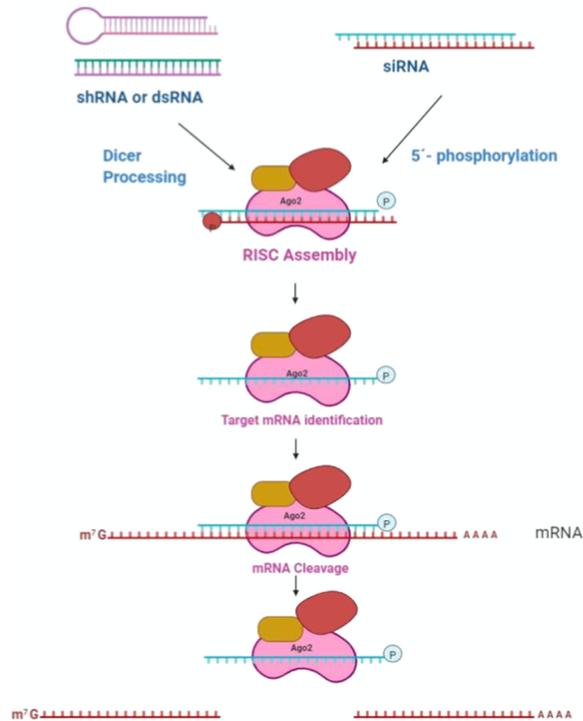


Figura 2. Pasos en la formación y funcionamiento de RISC. (14)

Entre las aplicaciones del siARN hablamos de una herramienta en investigación básica y en el desarrollo de agentes terapéuticos. Vamos a centrarnos en su relación con el tratamiento del cáncer.

SiARN es una herramienta útil para eliminar los genes que son responsables directa o indirectamente de la proliferación anormal de células cancerosas. Su capacidad de silenciamiento génico ha demostrado ser la herramienta crucial en comprender las funciones genéticas en plantas y animales, pudiéndose convertir en una nueva clase de fármaco no convencional que podría inhibir los genes promotores o causantes de la enfermedad. Además, siARN ha demostrado ser prometedor para potenciar la quimioterapia al sensibilizar las células cancerosas resistentes a los medicamentos.

De esta manera, lo que se quiere conseguir es acabar con las células cancerosas pero también rescatar las células sanas del daño colateral. (14)

3.1.3.3. piARN

Los ARN asociados a proteínas Piwi (P-element Induced Wimpy testis) impiden la expansión de los elementos genéticos egoístas, los transposones (elemento genético transponible, secuencia de ADN que puede moverse de manera autosuficiente a diferentes partes del genoma de una célula). Las proteínas de la subfamilia PIWI se expresan en células de la línea germinal y forman RISC con una pequeña población de ARN (piARN). Estos RISC se denominan piRISC.

Los piARN son más largos que microARN y siARN y se procesan a partir de transcripciones de precursores monocatenarios a través de un mecanismo independiente de Dicer. Regulan principalmente la actividad de los transposones, su expresión y transposición dentro del genoma. Resulta esencial esta regulación porque existe un alto riesgo de dañar el genoma intracelularmente y de esta forma se preserva la gametogénesis y la reproducción. Las secuencias de piARN son mucho más diversas que las de cualquier otra clase de ARN y constituyen la clase más grande de ARN no codificante. (16)

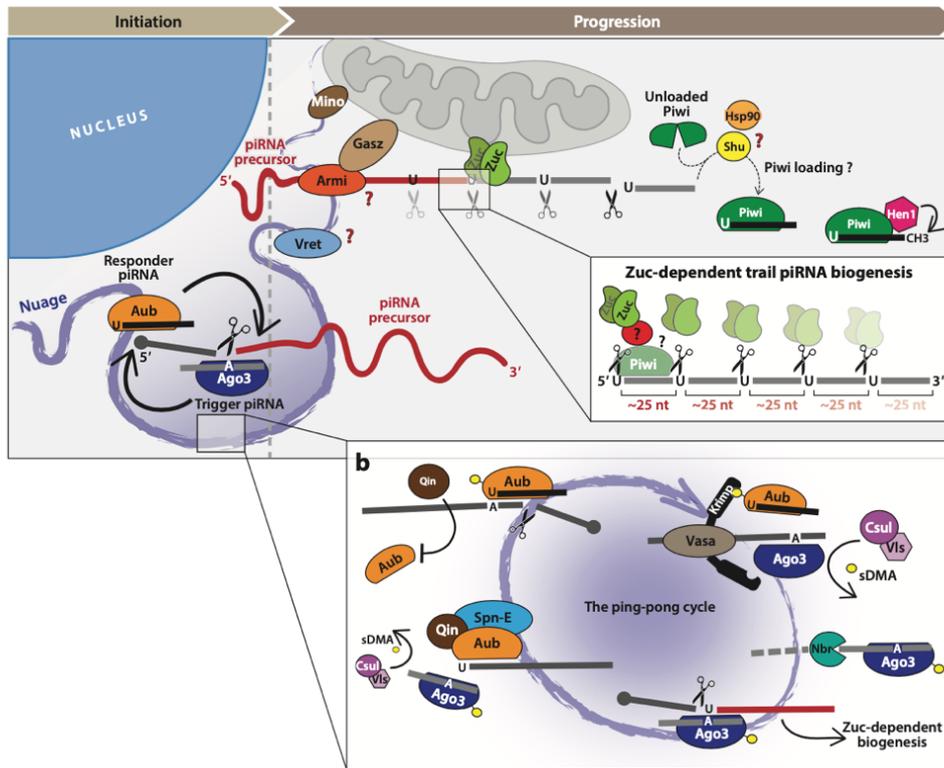


Figura 3. Biogénesis de piARN siguiendo diversas rutas. (16)

Encontramos dos vías principales para la biogénesis de piARN, las cuales se pueden observar en la figura 3: la vía de procesamiento principal y el ciclo de ping-pong que amplifica los piARN secundarios.

Los piARN primarios tienen un sesgo hacia la uridina (sesgo 1U) mientras que los secundarios tienen un sesgo de sentido con adenosina en el décimo nucleótido (sesgo 10A).

La regulación epigenética se lleva a cabo porque después de que los PIWI-piRISC se importen al núcleo, dirigen la metilación de la histona H3K9me3 sobre la cromatina en los loci de transposones diana para inducir la formación de heterocromatina, silenciando así los transposones transcripcionalmente. (16)

Entre las funciones de piARN encontramos:

- Silenciamiento de transposones: dicho silenciamiento transcripcional ocurre cuando las proteínas PIWI guiadas por piARN se unen a nacientes transcripciones de transposones.
 - Adquisición de características de inmunidad innata y adaptativa.
 - Defensa viral: piARN proporciona típicamente defensa antiviral en los tejidos somáticos.
- (17)

3.2. ENHANCERS Y SUPERENHANCERS: EMBRIOGÉNESIS, DESCUBRIMIENTO Y FUNCIÓN

Los enhancers y los superenhancers son secuencias de ADN directamente implicadas en la regulación de los genes y se han visto múltiples referencias de los mismos como dianas de metilación.

La regulación de la transcripción por potenciadores se ha estudiado desde 1980 y existen investigaciones más recientes que han sugerido que hay diferentes categorías de elementos reguladores con subtipos de superpotenciadores.

Más adelante, en 2013, hubo laboratorios que identificaron grandes potenciadores cerca de varios genes especialmente importantes para establecer identidades celulares. (18)

- Enhancers:

Un “enhancer” o potenciador es una pequeña región del ADN eucariota que, al unirse con proteínas (factores de transcripción), puede aumentar los niveles de transcripción de genes en un grupo de genes. Es decir, actúan como plataformas de unión de factor de transcripción integrado (TF) y activan la transcripción.

Lo curioso de los potenciadores es que no necesariamente tienen que estar localizados cerca de los genes sobre los que actúan, ni siquiera en el mismo cromosoma.

La estructura del complejo de cromatina del ADN está plegada de un modo que, aunque el ADN esté lejos de los genes en los nucleótidos, geoméricamente está próximo al promotor y al gen. Esto le permite interactuar con los factores de transcripción y con la polimerasa II.

Estos potenciadores fueron descritos por primera vez en la década de 1980 como una secuencia de ADN que aumentaba la expresión de un gen ligado, de forma independiente respecto a su distancia y orientación.

Cabe remarcar que, el primer potenciador era una secuencia de 72 pares de bases (pb), que fue capaz de aumentar la expresión del gen de la beta-globina humana.

Desde entonces, se han encontrado “enhancers” en muchos organismos metazoos, incluidos los humanos, y se ha demostrado que reclutan factores de transcripción específicos para dictar la expresión genética espacio-temporal durante el desarrollo, la fisiología normal e incluso en enfermedades. (18)

Con los avances en las tecnologías de secuenciación, se ha facilitado la identificación de potenciadores en todo el genoma y, las estimaciones actuales, sugieren que hay más de 400.000 potenciadores dispersos por todo el genoma. Y estos pueden ubicarse tanto dentro de los genes, como en regiones fuera de los mismos, e incluso en diferentes cromosomas.

Las interacciones entre los potenciadores y los genes diana no son exclusivas y, con frecuencia, se encuentran promotores para interactuar con múltiples potenciadores y viceversa. En la figura 4 se observa un modelo de interacción.

Se debe destacar que los potenciadores son de tipo celular específicos y, por lo tanto, no se espera que todos los potenciadores se activen al mismo tiempo.

Las alteraciones de los “enhancers” se están convirtiendo en una de las principales dianas en el conocimiento de las enfermedades, incluido el cáncer, ya que la creciente evidencia en muchos tipos de tumores muestra que las redes de potenciadores están reconfiguradas por aberraciones moleculares que conducen colectivamente al fenotipo del cáncer. Las translocaciones, deleciones y mutaciones dentro de las regiones reguladoras del genoma se observan con frecuencia en pacientes con cáncer, lo cual puede causar una pérdida de expresión de los supresores de tumores o sobreexpresión de oncogenes. (18)

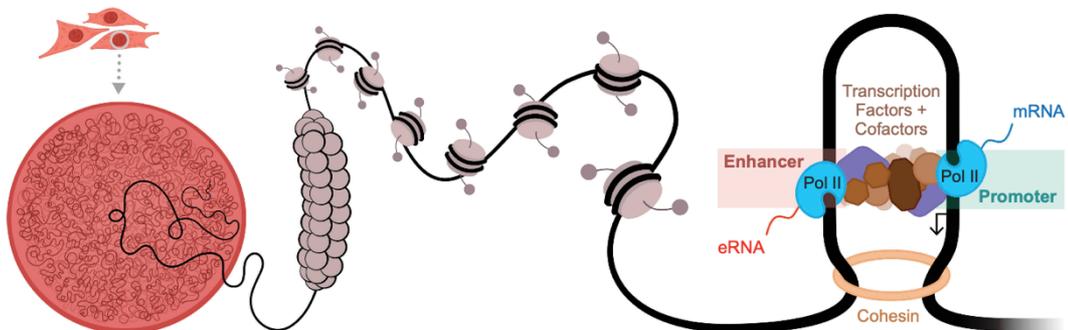


Figura 4. Un modelo de interacciones potenciador-promotor dentro del núcleo de una célula. (18)

- Super-enhancers:

Son un grupo de enhancers. Regiones potenciadoras particularmente grandes y potentes que controlan los genes que establecen la identidad de las células madre embrionarias, incluidos Oct-4, Sox2, Nanog, Klf4 y Esrrb. Esto producirá una variedad de efectos sobre la expresión de sus genes diana.

Definidos como una región del genoma de mamífero que comprende múltiples potenciadores que están unidos colectivamente por una serie de proteínas para impulsar la transcripción de genes implicados en la identidad celular. Los superpotenciadores están asociados con genes que se expresan en mayor grado. La expresión de genes asociados con superpotenciadores es particularmente sensible a la disfunción y pérdida de su estado fisiológico. (18)

Los avances en la identificación de enhancers utilizando tecnologías de secuenciación de alto rendimiento han revelado la presencia de grandes grupos de potenciadores muy próximos que parecen funcionar sinérgicamente para la activación de genes diana.

Estos grupos de enhancers, denominados superenhancers, se caracterizan por su inusualmente alta ocupación de factores interactivos, enzimas y modificaciones de histonas, que trabajan juntos para impulsar la expresión de genes específicos de linaje prominente. Los superpotenciadores son más grandes que los enhancers como tal, y están altamente enriquecidos con las características clásicas de potenciadores activos.

Dentro de los 10.000 a 150.000 enhancers activos que hay en una célula, apenas hay unos pocos cientos de superenhancers.

La evidencia actual sugiere que los superpotenciadores contribuyen a la alta expresión de genes pluripotentes en células madre embrionarias, genes específicos de tipo celular en células diferenciadas terminalmente, y oncogenes en varios tipos de células cancerígenas. Es por ello por lo que han obtenido una gran atención. (18)

Propiedades generales de los superpotenciadores:

- Los superpotenciadores están asociados con genes de pluripotenciales.
- Los superpotenciadores se pueden definir en cualquier tipo de célula: la habilidad para definir superpotenciadores no se limita a las células madre. Se utilizaron factores de transcripción específicos de linaje para identificar superpotenciadores en células pro-B, miotubos, células T auxiliares y macrófagos.
- Los superpotenciadores en las células cancerígenas se enriquecen en oncogenes: las células cancerígenas tienen alterados los patrones de expresión y el uso de potenciadores en comparación con sus homólogos normales. Respectivamente, en las células cancerígenas, los superpotenciadores se enriquecen en genes con reconocida función oncogénica.
- Los superpotenciadores se enriquecen con variantes asociadas a rasgos: no obstante, los potenciadores generalmente se enriquecen con variantes asociadas a la enfermedad, y esta asociación es más fuerte en los tejidos implicados en la correspondiente enfermedad.
- Los superpotenciadores se superponen con los dominios reguladores de gran escala previamente definidos: los superpotenciadores se superponen con otras características regulatorias previamente identificadas de tamaño similar. De los superpotenciadores identificados en un conjunto de 6 tipos de células humanas, el 13,7% (410 de 2.989) 23 coincidieron con valles de metilación del ADN identificados de forma independiente. (19)

Existe una importante relación de los mismos con enfermedades, ya que se han observado mutaciones en: cáncer, diabetes tipo 1, Alzheimer, lupus, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, esclerodermia sistémica, cirrosis biliar primaria, enfermedad de Crohn, enfermedad de Graves, vitíligo y fibrilación auricular. (19)

Toda esta información acerca de los superpotenciadores la conocemos gracias a múltiples estudios que se están realizando y que nos están permitiendo descubrir cada día más información, como por ejemplo el siguiente estudio que los relaciona con la regulación de las células de la placenta. (20)

Es importante conocer las células que forman la placenta.

El origen de la placenta es el trofotodermo (TE: capa de células externas que envuelve al blastocisto; embrión de día 5) y los tejidos placentarios poseen múltiples células especializadas como células gigantes de trofoblasto (TGC), espongiotrofoblastos (SpT) y sincitiotrofoblastos (SynT). Si la diferenciación del linaje TE es anormal, habrá complicaciones en el embarazo.

El desarrollo del linaje del TE es fundamental para la implantación, placentación y embarazo saludable. Solo unos pocos factores de transcripción (TF) específicos de TE han sido caracterizados sistemáticamente, lo que dificulta la comprensión de este proceso. Para entender los mecanismos reguladores subyacentes al desarrollo de TE se lleva a cabo un mapeo de superpotenciadores (SE) en células madre de trofoblasto (TSC). (20)

Se están utilizando TSC de roedores para estudiar el desarrollo de la placenta. Se ha observado que TF específicos del tipo de célula (principalmente superenhancers) orquestan el linaje y la expresión génica para determinar la identidad celular y las funciones. Los superenhancers que han sido identificados como reguladores clave son: Tead4, Cdx2, Gata3, Tfap2c, Eomes, Ets2 y Elf5.

En las células madre embrionarias, los SE están asociados con TF de pluripotencia maestra como Oct4, Sox2 y Nanog. Paralelamente, múltiples TF maestros co-ocupan SE comunes, amplificando aún más los niveles de genes diana asociados a SE. (20)

Los genes asociados a SE que definimos en TSC están implicados en el desarrollo placentario y mucho de ellos codifican para TF. Algunos TF muestran cambios dinámicos en sus patrones de unión al potenciador tras la diferenciación.

Los TF asociados a SE muestran cuatro patrones de expresión distintos durante la diferenciación de TSC y estas diferentes clases de TF demuestran roles discretos durante la diferenciación del linaje TE.

En uno de los estudios, se identificaron un total de 39.957 y 36.190 superenhancers en TSC y ESC, respectivamente. (20)

Los TF específicos de TE previamente conocidos, como Elf5 y Gata3, se asociaron con múltiples sitios diana p300 exclusivamente en los TSC, mientras que los elementos reguladores de los TF específicos de ESC, como Oct4 y Nanog, estaban ocupados por p300 solo en ESC.

Los genes asociados a superenhancers específicos de TSC están enriquecidos en términos relacionados con el desarrollo de la placenta y TE.

Se evidencia una fuerte correlación positiva entre la actividad genética y el número de superenhancers, lo que indica que múltiples superenhancers específicos del tipo de célula pueden activar sinérgicamente el gen diana asociado.

Gata3, Teads y Tfap2C están incrustados dentro de los SE específicos de TSC, por lo que los SE pueden servir como centros de destino de múltiples TF específicos de TE.

La relación de gen asociado a SE produce enriquecimiento del desarrollo de la placenta embrionaria y la diferenciación de células trofotodérmicas, así como el citoesqueleto de actina y la unión adherente.

Estos múltiples avances y el descubrimiento de clases de TF asociados a SE es fascinante. (20)

En definitiva, los potenciadores son la parte más utilizada dinámicamente del genoma y la estimación actual del número de potenciadores albergado por el mismo es más de un millón. Esta asombrosa expansión y diversificación de elementos potenciadores sugiere una enorme complejidad combinatoria de patrones de expresión durante el desarrollo humano. (21)

4. DISCUSIÓN

Descritas las características de los enhancers y los superenhancers vamos a relacionarlos con el desarrollo embrionario y vamos a estudiar las consecuencias que aparecerán en el mismo debido al hábito tabáquico en la gestante. Para ello, vamos a hacer un breve recordatorio sobre el CIR y a continuación nos basaremos en los artículos más relevantes que hemos localizado y que relacionan los enhancers y los superenhancers con la epigenética y consecuentemente con el CIR.

DESARROLLO EMBRIONARIO Y EPIGENÉTICA

Parte de la importancia de la epigenética radica en su papel durante el desarrollo embrionario y es fundamental para una descripción molecular y comprensión del desarrollo embrionario.

El feto se somete a múltiples tensiones (incluidas las técnicas de reproducción asistida) que pueden alterar su crecimiento y crear una predisposición a una variedad de enfermedades metabólicas después del nacimiento. Estos efectos van a limitar la capacidad del organismo para alcanzar su máximo potencial genético.

Estas tensiones que acabo de mencionar, son las que van a modificar los patrones de expresión génica codificada por el programa epigenético creado durante el desarrollo embrionario.

La epigenética involucra una variedad de modificaciones mitóticas heredables que afectan a la estructura de la cromatina. Cada evento de diferenciación que ocurre en el desarrollo temprano implica cambios fundamentales en la configuración epigenética de la célula.

Uno de los mecanismos epigenéticos más importantes son las modificaciones covalentes de la citosina del ADN, especialmente dentro de los dinucleótidos de citosina-guanina. (22)

Las células del embrión temprano poseen la capacidad de diferenciación, la cual resulta de patrones modificados de expresión génica. Los cambios en la expresión génica son cambios en la estructura y función de la cromatografía que ocurren sin ningún cambio en la secuencia de nucleótidos subyacente del ADN. La gama de cambios de cromatina necesarios para lograr esto son la base de la epigenética.

Se reconoce que el fenotipo de un individuo se crea por el código genético heredado de los padres pero cada vez se reconoce más que el medio ambiente en el que el embrión, el feto y el recién nacido se desarrollan crea alteraciones sutiles de la configuración epigenética que puede causar cambios a largo plazo.

Todos los cambios sufridos son conocidos como los “orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad”. (22)

Vamos a ver algunas de las características epigenéticas que están involucradas en transiciones críticas del desarrollo embrionario.

Se considera que tienen lugar dos rondas de reproducción epigenética durante el desarrollo embrionario. La primera ocurre durante la formación de células germinales primordiales (PGC) y la segunda en el embrión temprano poco después de la fertilización.

En ambos casos se han observado cambios profundos en propiedades epigenéticas pero PGC se diferencia en gametos y las células pluripotentes del embrión se diferencian en todas las células del organismo. (22)

En estos dos períodos de reprogramación global, el patrón de metilación del ADN es borrado y re-establecido.

La metilación del ADN y el establecimiento de la impronta genómica, cuyo ciclo podemos observar en la figura 5; es una de las modificaciones epigenéticas clave esencial para el mantenimiento de la integridad genómica y papel importante en la formación de varias

características epigenéticas generalizadas, incluida la formación de la heterocromatina, improntación genómica del padre de origen e información de la activación del cromosoma X. Algunos genes mantienen su estado de metilación y esto resulta esencial para el desarrollo embrionario posterior. Durante el desarrollo posterior los patrones de metilación son nuevamente establecidos en tejidos embrionarios y extraembrionarios.

La expresión de la gran mayoría de genes ocurre desde ambos alelos de manera simultánea pero un número reducido de ellos es afectado por este proceso de impronta genómica y su expresión va a depender del origen parental. (23)

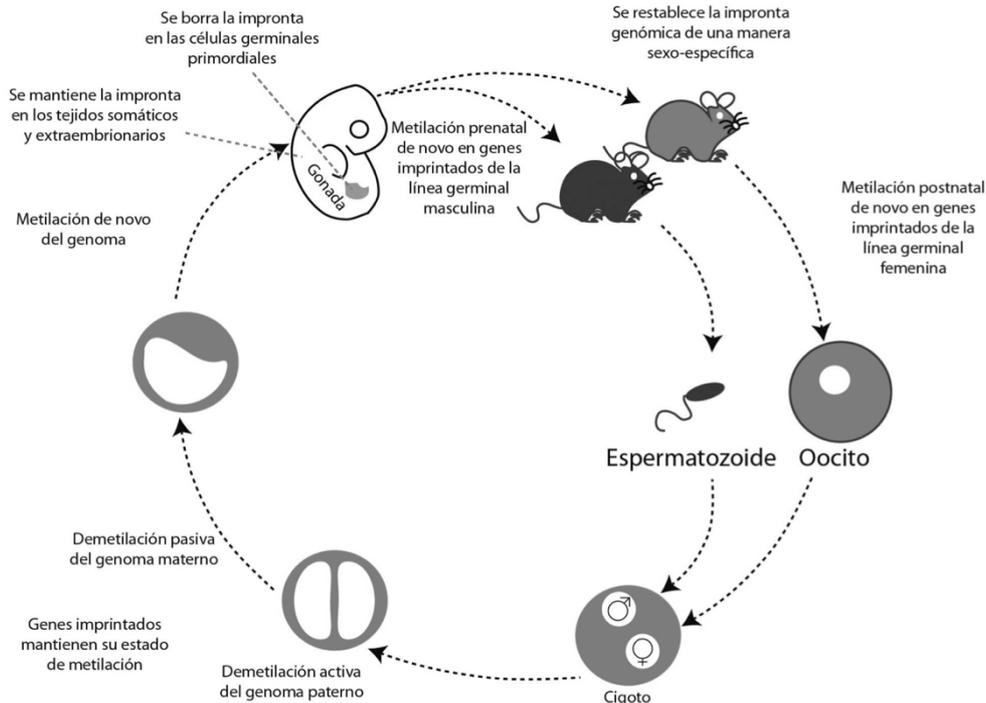


Figura 5. Ciclo de establecimiento de la impronta durante el desarrollo del ratón. (23)

CIR, RESTRICCIÓN DEL CRECIMIENTO INTRAUTERINO

Se define como una tasa de crecimiento fetal menor de lo normal para el potencial de crecimiento de un feto según su raza y su género. Se trata de una definición clínica con evidencias de malnutrición en el niño que aparece con mayor frecuencia asociado a prematuridad. A nivel global, 13.7 millones de niños nacen cada año con este problema, de los cuales el 11% corresponden a países en desarrollo (en primer lugar Asia, seguido de África y Latino América). (24)

Dicha patología presenta un riesgo de recurrencia del 29% en el segundo embarazo y del 44% si los dos anteriores se han visto afectados. (25)

Hablamos de CIR cuando el peso estimado se encuentra por debajo del percentil 10 para su edad gestacional, pudiendo ser moderado (entre 3 y 10) o severo (menor de 3).

Diagnosticamos CIR:

1. Peso fetal estimado por ecografía por debajo del percentil 3 para edad gestacional y sexo, independientemente de la presencia de alteración hemodinámica Doppler.
2. Peso fetal estimado por ecografía entre el percentil 3 y 10 para edad gestacional y sexo, asociado a una o más de las siguientes alteraciones en la evaluación hemodinámica Doppler:

- Índice de pulsatilidad de la arteria umbilical (IPAU) > percentil 95.
- Índice de pulsatilidad medio de las arterias uterinas (IPmAUT) > percentil 95.
- Índice de pulsatilidad de la arteria cerebral media (IPAMC) < percentil 5.
- Razón cerebroplacentaria (RCP) < percentil 5. (26)

Podemos realizar una clasificación basada en las medidas antropométricas y así distinguir dos tipos, los cuales aparecen esquematizados en la figura 6:

1. Asimétrico: 70-80% de los casos. Aparece en el tercer trimestre y en muchas ocasiones es debido a una insuficiencia útero-placentaria. Hasta entonces crecen normal pero a partir de ese momento se visualiza una circunferencia abdominal disminuida con un diámetro biparietal, circunferencia cefálica y longitud del fémur normales.
2. Simétrico: 20-30% de los casos. Comienzo precoz, el feto tiene un número reducido de células. Se debe a un problema genético o a alguna infección. Disminución proporcional del diámetro biparietal, la circunferencia de la cabeza, la circunferencia abdominal y la longitud del fémur. Mal pronóstico respecto a morbilidad y mortalidad en comparación con asimétricos. (24)
- 3.

Inicio	Antes de la semana 30	Después de la semana 30
Morfología	Simétrica	Asimétrica
Perímetro abdominal	Normal	Disminuido
Perímetro cefálico	Disminuido	Normal
Talla	Disminuida	Normal
Peso	Disminuido	Disminuido
Etiología	Fetal	Materna/placentaria
Complicaciones	A largo plazo	Neonatales

Figura 6. Clasificación morfológica de los tipos de retraso del crecimiento intrauterino. (25)

Entre las posibles causas encontramos:

1. Idiopáticas 20-30%. (27)
2. Maternas 40%: edad menor de 16 o mayor de 35 años, bajo nivel socioeconómico, HTA, diabetes, insuficiencia renal, LES, síndrome antifosfolipídico, trombofilias adquiridas, uso de técnicas de reproducción asistida, tóxicos... Entre los tóxicos encontramos el tabaco y el alcohol que también tienen un papel importante. La exposición al humo reduce el peso al nacer 150-200g y existe un efecto dosis-dependiente lineal de los niveles de cotinina sobre el peso medio y la longitud media del lactante al nacer: el tabaco produce disfunción endotelial y vasoconstricción de las arterias uterinas por la nicotina. El consumo excesivo de alcohol por parte de la madre se asocia con síndrome de alcoholismo fetal y puede causar CIR. Otras sustancias: medicamentos como warfarina o esteroides, marihuana, cocaína... Por otro lado y teniendo en cuenta la altitud, las mujeres que viven en mayores altitudes tienen comprometido el flujo sanguíneo placentario con un volumen de sangre reducido y de esta manera le llega menos oxígeno al feto, afectando al crecimiento del mismo. Infecciones como TORCH, malaria, tuberculosis...
3. Placentarias 40%: una placenta pequeña con una consecuente reducción de tejido funcional disminuye el área de intercambio entre la madre y el feto tanto en el área de superficie vellosa como en el área de superficie capilar fetal. Esto reduce la capacidad de transferir oxígeno y nutrición de la madre al feto. Existe un aumento de resistencia en las venas umbilicales y en las arterias uterinas. También pueden aparecer infecciones como la malaria placentaria. Y además, se observa una sobreexpresión del gen de la endoglina

placentaria en los fetos con CIR y esto da como resultado una disfunción vascular que conduce a una hipoxia fetal crónica.

4. Fetales 10%: anomalías cromosómicas que producen el 7-19% de los CIR (trisomías 13, 18 y 21). Se reducen el número de arterias musculares en la placenta y aumentan las resistencias vasculares. Anomalías congénitas como fistula tráqueo-esofágica, problemas cardíacos, hernia diafragmática congénita, malformaciones anorrectales, etc. Infecciones congénitas que constituyen el 5%: toxoplasmosis y citomegalovirus en países desarrollados y malaria en no desarrollados. (24)
5. Genéticas:
 - Placentarias: Homeobox (dominio en el ADN de un gen que codifica una secuencia de aminoácidos o dominio proteico que puede adherirse a segmentos del ADN para regular la expresión de otro gen implicado en el desarrollo y es importante para el desarrollo y el mantenimiento de los sistemas vasculares), Serpina3 (controla por inhibición cascadas proteolíticas catalizadas por enzimas proteasas de la familia de las quimotripsinas), Cullin (proteína de armazón hidrofóbica que proporciona soporte para ubiquitina ligasas, CUL4B y CUL7 están relacionados con CIR), Neat1 (ARN no codificante nuclear que se transcribe desde el locus de neoplasia endocrina múltiple y cuya expresión está aumentada en CIR), PGF (factor de crecimiento placentario cuyas bajas concentraciones están relacionadas con un desarrollo anormal de la placenta) ...
 - Maternas: ET-1 (potente vasoconstrictor codificado por el gen EDN1 cuyas concentraciones son altas en CIR), leptina (adipoquina producida por los adipocitos cuyas concentraciones son bajas en CIR), visfatina (citoquina que se expresa en el tejido graso visceral y sus niveles circulantes se correlacionan con la obesidad, apareciendo altos en madres que tienen hijos con CIR)...
 - Fetales: proteína S100B (niveles elevados en la orina de los fetos con CIR), hormona paratiroidea N-terminal (niveles bajos en relación con CIR, lo cual significa compromiso de la función placentaria)... (25)

Diagnóstico de CIR.

Resulta fundamental contar con una historia materna detallada con factores de riesgo para CIR, examen físico materno, palpación del feto, altura del fondo uterino, cardiocografía y Doppler (arteria umbilical, arteria uterina, arteria cerebral media y ductus venoso de Arancio).

Se confirma mediante ecobimetría fetal y eco-doppler, siendo la eco-doppler la prueba Gold Standard para dicha patología y en ella observamos lo siguiente: elevación de las resistencias que provoca una disminución de la diástole hasta hacerla desaparecer y en un estadio final aparece una inversión del flujo. Esta secuencia de deterioro nos conduce a CIR. (27)

Son de utilidad la ecografía para valorar el líquido amniótico y ver si existe oligoamnios (<50mm) y el perfil biofísico para ver el equilibrio ácido-base.

Para medir el feto es necesaria la longitud del fémur, el perímetro cefálico y el perímetro abdominal en el primer trimestre. (24) La circunferencia abdominal tiene una especificidad y valor predictivo negativo del 90%. (25)

Para el diagnóstico postnatal podemos incluir entre otros antropometría, examen clínico, índice ponderal y CAN Score. (26)

Respecto al tratamiento no hay uno efectivo pero lo más útil sería finalizar la gestación y por supuesto abandonar el hábito tabáquico pero vamos a estudiar más posibilidades.

Entre las 24+0 y las 35+6 semanas de gestación, cuando la gestación ya puede ser programada, se pueden administrar corticoesteroides. El momento óptimo de dicha gestación nos lo dirá la edad gestacional del feto y el estudio doppler de la arteria umbilical. (24)

También se puede administrar ácido acetilsalicílico en pequeñas dosis en gestantes con una patología en la arteria uterina confirmada en el primer trimestre. Ha resultado ser eficaz en la

prevención de CIR y de preeclampsia si se administra antes de las 16 semanas. Está indicada si existe enfermedad autoinmune, preeclampsia o alteraciones de la coagulación.

La decisión de finalizar o no la gestación debe tomarse teniendo en cuenta que la finalización reduce la frecuencia de las complicaciones asociadas a la prematuridad pero expone al feto a las consecuencias a corto, medio y largo plazo de hipoxia fetal crónica y posible muerte intrauterina. (27)

Respecto a la cesárea, se realizará siempre si existe sufrimiento fetal. En el caso de feto maduro con CIR se termina el embarazo siempre que haya más beneficio que riesgo. Se valorará la amnioinfusión si tiene oligoamnios porque disminuye la tasa de cesáreas. (25)

Al nacer puede ser necesaria intubación y asistencia respiratoria. Además, estos niños tienen poco tejido adiposo y puede haber hipotermia por lo que será necesaria una manta tibia o funda de polietileno. También hay riesgo de hipoglucemia y llevaremos a cabo aporte energético después de nacer por vía enteral si es posible o por perfusión de un soluto glucosado por vía periférica.

Respecto al futuro a medio plazo destaca una vigilancia especial mínimo hasta los 3 años y observar crecimiento compensador somático comenzando por perímetro cefálico, luego peso y luego talla. (24)

Es fundamental hacer hincapié en la prevención mediante suplementos proteicos, tratamiento preventivo de la malaria, suplementos de micronutrientes, dejar de fumar... (27)

Esta patología va a ser responsable de múltiples complicaciones que aumentan la mortalidad de los niños con CIR entre 3 y 10 veces por encima del resto de niños:

1. Complicaciones a corto plazo incluye: asfixia perinatal, aspiración meconial, hipertensión pulmonar persistente, hipotermia, hipoglucemia, hiperglucemia, hipocalcemia, policitemia, ictericia, problemas de alimentación, intolerancias alimenticias, enterocolitis necrotizante, sepsis y hemorragia pulmonar.
2. Complicaciones a largo plazo incluye: crecimiento físico anormal y retraso en el desarrollo neurológico

Los cambios epigenéticos aumentan el riesgo de padecer enfermedades en un futuro, por ello es necesario monitorizar dichas complicaciones y hacer un seguimiento para identificarlas precozmente. (26)

CIR Y HÁBITO TABÁQUICO

Aproximadamente durante el embarazo fuman entre un 15 y un 20% de las madres (con una prevalencia mayor entre los 20 y 24 años) y el 5% de muertes perinatales se deben al tabaco. Por esta razón, resulta fundamental promover el cese del hábito tabáquico. (28)

La mayoría de las mujeres embarazadas reducen o abandonan dicho hábito durante el embarazo pero entre un 20 y un 50% continúan fumando en países desarrollados. (29) Se podría reducir dicha patología o incluso hacer que desaparezca con eficaces estrategias de prevención primaria y ayudando a las madres con terapia psicológica. Se debe apoyar el cese del hábito tabáquico sobre todo teniendo en cuenta que la exposición en el tercer trimestre sería lo más determinante con una reducción del peso de 27g por cada cigarro. (30)

Los compuestos más significativos del tabaco y en los cuales nos vamos a centrar son la nicotina y el monóxido de carbono.

La nicotina cruza la placenta y podemos detectarla en la circulación fetal en niveles incluso un 15% mayores a los que se detectan en la madre. Además, la concentración en el líquido amniótico es un 88% mayor que en el plasma materno. Las acciones de la nicotina son entre otras producir una disminución del flujo de sangre en la arteria uterina, cambios en el flujo de la arteria umbilical y variaciones en la oxigenación del feto y en su equilibrio ácido-base. También aumenta la presión arterial. (29)

Por otro lado, el monóxido de carbono cruza la placenta y se detecta rápidamente en la circulación fetal. Este gas se une a la hemoglobina y de esta manera, la curva de disociación del oxígeno queda desplazada hacia la izquierda y los tejidos fetales sufrirán hipoxia. (31)

El tabaco se relaciona con la restricción del crecimiento intrauterino, ya que el consumo de dicho tóxico es uno de los mayores riesgos para que ocurran situaciones adversas como prematuridad, PEG (pequeño para la edad gestacional), CIR y mortalidad perinatal.

Hay que tener en cuenta múltiples factores maternos y prestar una especial atención a la edad, ya que la reducción del peso en los fetos cuyas madres han sido fumadoras durante el embarazo es de 135g en gestantes menores de 17 años y de 301g en gestantes mayores de 35 años. (30)

El CIR es uno de los efectos tóxicos más frecuentes en los hijos de madres fumadoras y conlleva una reducción del peso al nacer de entre 90 y 200g. Esto implica un riesgo elevado en el bienestar fetal, ya que la mayoría de las morbilidades y muertes perinatales se relacionan con fetos que pesan menos de 2500g. (31)

El tabaco se relaciona tanto con el aumento de CIR como con la toxicidad mitocondrial. Las mitocondrias son necesarias para que las células sobrevivan porque son orgánulos clave para proporcionar suministro de energía y desencadenar la apoptosis, de manera que un fallo durante el desarrollo fetal nos lleva a una reducción del peso al nacer.

Se ha demostrado que el CO derivado del tabaco es una toxina mitocondrial y estos podrían ser factores clave que conduzcan a la reducción del peso al nacer en mujeres embarazadas fumadoras. (29)

El riesgo de restricción del crecimiento aumenta cuanto mayor es y más prolongada la exposición al humo del tabaco. Además, el efecto del humo es más dañino si la exposición ocurre durante el tercer trimestre.

Existen estudios acerca de esto que demuestran que las madres no expuestas al humo tuvieron hijos que al nacer pesaron significativamente más (3205g), no solo que los de las madres fumadoras (2959g), si no también que los de las madres expuestas (3089). (30)

En la actualidad, la cotinina, alcaloide hallado en el tabaco y metabolito de la nicotina que se utiliza para medir la exposición al humo activo y sobre todo al pasivo; es el mayor biomarcador para distinguir entre fumadores y no fumadores.

Existe una correlación negativa entre el peso del recién nacido y los niveles de cotinina en la orina de las madres, de forma que un incremento de 10 ng/ml de la cotinina materna urinaria se asocia con una reducción de peso de 149g en neonatos con retraso asimétrico y de 127g en aquellos con retraso simétrico. (29)

Existe relación materno-fetal en los niveles de cotinina en el plasma de ambos, lo que indica que algunos tóxicos del tabaco pueden atravesar la placenta y llegar al feto sin obstáculos. El feto se encuentra en un momento crucial de desarrollo y el paso de los componentes del tabaco a través de la sangre de la madre afectará a su peso. (30)

En relación con la epigenética, vamos a estudiar algunos genes asociados y ciertos polimorfismos en los genes CYP1A1 y GSTT1 que pueden aumentar el riesgo de CIR.

CYP1A1 codifica una enzima del citocromo p450 y se relacionan con una mayor tasa de CIR en hijos de madres fumadoras.

GSTT1 codifica Glutation S-Transferasa Theta y se relaciona con CIR en las madres que presentan una delección de este gen (reducción de 642g) en comparación con las madres portadoras del gen (reducción de 258g).

La interacción entre el humo del tabaco y los genes que regulan el metabolismo puede alterar el desarrollo normal del feto. CYP1A1 y GSTT1 participan respectivamente en reacciones de fase I y II, por lo que son responsables de la conversión de metabolitos tóxicos, como los hidrocarburos derivados de la combustión del tabaco, en compuestos menos tóxicos. Por tanto, son genes fundamentales para preservar las células del estrés oxidativo y del daño genotóxico: los compuestos oxidativos y genotóxicos derivados del tabaquismo y de un sistema de conversión deficitario debido a los polimorfismos antes mencionados, podrían llegar al feto y alterar su desarrollo normal.

Se ha demostrado que existe una mayor expresión de CYP1A1 en madres fumadoras que no fumadoras, por el contrario GSTT1 no se diferencia.

Los hidrocarburos aromáticos son inicialmente convertidos por las enzimas de fase I como CYP1A1 en compuestos intermedios altamente reactivos, que son convertidos nuevamente por enzimas de fase II como GSTT1, en moléculas menos dañinas que pueden ser excretadas. La actividad aumentada de CYP1A1, sin un aumento correspondiente de la actividad de GSTT1 o, peor aún, en presencia de su delección, conduce a una acumulación de compuestos reactivos que pueden atravesar la placenta y exponer al feto a un mayor estrés oxidativo.

Por ello, genotipo GSTT1 nulo junto con exposición al humo durante el embarazo aumenta el riesgo de resultados adversos y con ellos de CIR. (30)

El humo del tabaco puede alterar la metilación normal del ADN humano a nivel placentario y de la combustión del tabaco surgen toxinas que afectan directamente a la proliferación celular del feto y de la placenta. Se reduce el flujo útero-placentario y se produce vasoconstricción e hipoxia. La placenta de las madres fumadoras, de hecho, muestra un estrechamiento de la membrana basal del trofoblasto, una reducción de la vascularización e hinchazón de las arteriolas de las vellosidades.

De esta manera se produce necrosis, actividad reducida de pinocitosis y degeneración.

Además, al ser la nicotina un constrictor fuerte, aumenta la presión materna y la frecuencia cardíaca, comprometiendo aún más la correcta perfusión placentaria y por tanto la nutrición fetal.

Es decir, hipoxia persistente + nicotina = capacidad mitótica reducida del citotrofoblasto.

Estas evidencias sugieren, en conclusión, que la exposición al humo del tabaco puede influir en el desarrollo normal de las vellosidades durante el primer trimestre a través de una alteración del mecanismo de angiogénesis y apoptosis y por tanto perjudicar la remodelación de la arteria espiral, la función placentaria y luego el crecimiento fetal.

El tabaquismo materno ejerce un efecto perjudicial para el desarrollo fetal no solo en lo que respecta al peso neonatal al nacer, sino también al desarrollo de los órganos principales, como el cerebro. Si la madre deja de fumar al principio del embarazo, el peso del bebé tiende a aumentar.

El humo del tabaco se relaciona directamente con la restricción del crecimiento fetal pero dicha asociación es modificada por el genotipo de un individuo. (31)

ENHANCERS Y SUPERENHANCERS RELACIONADOS CON EL TABAQUISMO

Varios estudios nos informan sobre el papel de los enhancers relacionados con el tabaco.

Tal y como se explica en el estudio realizado por *Tobias Bauer* (32), los cambios epigenéticos asociados con el tabaquismo materno nos llevan a estudiar la metilación del ADN, la modificación de histonas y la transcripción en mujeres embarazadas y sus hijos recién nacidos.

Encontramos una amplia metilación diferencial global que se ve enriquecida en los enhancers y que va a persistir durante años de vida. Por esta razón, en los enhancers la metilación se traducirá funcionalmente más a menudo que en otras regiones.

La cromatina tiene un papel importante, ya que la exposición ambiental prenatal en los niños conduce a la misma a un estado hiperactivo.

Es importante entender el mecanismo por el cual los factores ambientales producen alteraciones en los patrones epigenéticos (epigenoma) y esto da lugar a cambios fenotípicos. Esto hace al individuo más susceptible a la enfermedad, sobre todo en etapas tempranas de la vida.

Dentro de estos factores ambientales nos interesa el tabaco, una de las exposiciones más peligrosas y comunes.

Se ha estudiado la metilación del ADN en la sangre del cordón umbilical y gracias a estos estudios epidemiológicos se dispone de información sobre los cambios de metilación globales y específicos del sitio.

Cambios de metilación del ADN asociados al tabaquismo + modificación de histonas ChIP-seq (técnica de secuenciación de inmunoprecipitación de cromatina) + transcripción medida por secuenciación del ARN = desarrollo de la enfermedad más adelante en la vida de los niños.

Se demuestra que la exposición en el útero al humo del tabaco afecta al epigenoma global tanto de madres como de niños en elementos reguladores y esta modulación epigenética se va a mantener de forma estable.

Tanto la madre como el feto están expuestos a desafíos ambientales pero la respuesta si hablamos del nivel de metilación y de la modificación de las histonas es distinta. Esto se explica con el patrón epigenético relacionado con la edad y con la especificidad de la barrera placentaria; la cual expone en mayor medida al feto a los componentes del humo del tabaco que a la madre.

Aquí destacamos el papel de los enhancers, los cuales vinculan su actividad a la metilación del ADN. Se ha encontrado un impacto combinado del humo del tabaco y el genotipo en la metilación del ADN del enhancer JNK2 (quinasa c-jun n-terminal) ubicado en el gen GFPT2 y muestran que, la pérdida de metilación del ADN y la ganancia de las marcas de histonas activantes dentro de este enhancer, se correlacionan con un aumento de la expresión del gen JNK2.

Además, la pérdida de metilación del ADN en el potenciador JNK2 se asoció con un mayor riesgo de que los niños desarrollen síntomas de sibilancias más adelante en su vida. (32)

Un modelo de asma de ratón corroboró la relevancia funcional de nuestro análisis de epigenoma; los ratones JNK2 mostraron una inflamación e hiperreactividad de las vías respiratorias notablemente reducidas en comparación con los controles. Esto sugiere un papel directo de JNK2 en el desarrollo de la enfermedad pulmonar.

Se ha demostrado que la metilación diferencial en los enhancers se correlaciona negativamente con la expresión. Por lo tanto, la modulación de los enhancers a través de la metilación variable del ADN condicionada por efectos no genotípicos conduce a una regulación diferencial de genes.

El hecho de que los enhancers que se superponen con regiones diferencialmente metiladas (DMR) tengan más genes diana en comparación con el conjunto completo de enhancers, indica que la metilación diferencial se dirige a los centros reguladores. (32)

Más evidencia de la función reguladora de JNK2 proviene de un estudio reciente que demuestra una mayor inflamación de las vías respiratorias y deterioro de la función pulmonar debido a una pérdida de la función reguladora de las células T reguladoras de origen natural provocada por JNK2. Las células T reguladoras se identificaron como reguladores importantes de las enfermedades pulmonares alérgicas, ya que se reclutan de la sangre a los pulmones expuestos a alérgenos que inhiben las respuestas asmáticas.

Este estudio se centra únicamente en los cambios de metilación del ADN en los sitios CpG preseleccionados que cubren en el mejor de los casos el 5% del genoma. Aún no es factible para cohortes más grandes con cientos o miles de individuos, pero los resultados obtenidos en un conjunto de muestra más pequeño son representativos.

Así, se pudo demostrar por primera vez que la exposición ambiental desregula regiones particularmente reguladoras del genoma. Además, al combinar la metilación del ADN, la modificación de histonas y los análisis de expresión génica, se mostró que la perturbación epigenética por exposición ambiental se traduce funcionalmente y está potencialmente vinculada al desarrollo del fenotipo.

Estas alteraciones debidas a la exposición prenatal al humo del tabaco dan lugar al deterioro de la función pulmonar en etapas más avanzadas en la vida de los niños y con ello enfermedades respiratorias. (32)

Teniendo en cuenta estas complicaciones y a pesar de la creciente concienciación sobre los riesgos asociados al tabaquismo durante el embarazo, el estudio realizado por *Sophie Rousseaux* (33) nos muestra como entre el 5 y el 20% de las mujeres continúan fumando durante el embarazo en el EE.UU. y Europa. El abandono del hábito tabáquico sería la medida más efectiva para evitar resultados adversos en la salud respiratoria, cardiometabólica, el neurodesarrollo y el cáncer del niño.

Esto se explica porque la vida intrauterina es un período crítico de plasticidad durante el cual las agresiones ambientales pueden alterar la programación del desarrollo a través de fenómenos epigenéticos, con efectos inmediatos visibles al nacer o efectos retardados que aparecen en la infancia, la pubertad o la edad adulta. Es aquí donde vuelve a cobrar importancia la siguiente marca epigenética: la metilación del ADN.

El presente estudio identificó 203 regiones genómicas que estaban metiladas significativamente diferencialmente en la placenta según el tabaquismo durante el embarazo. Curiosamente, 26 de estos DMR se caracterizaron por cambios de metilación persistentes en las placentas de exfumadores, a pesar de la ausencia de exposición directa de estas placentas al tabaco, lo que sugiere la posibilidad de una "memoria epigenética" de exposición al tabaquismo antes del embarazo. Este resultado también está respaldado por la observación de una desmetilación significativa de las secuencias de LINE-1 en las placentas de exfumadores.

La exploración del estado epigenético de todos los DMR reveló que las regiones genómicas que llevan enhancers, podrían ser particularmente sensibles a la exposición al tabaco.

Cabe destacar una limitación con la que se encuentra este estudio y se refiere al tamaño relativamente pequeño del grupo de exfumadores, lo que podría resultar en una falta de poder estadístico y afectar la significación de las diferencias de metilación de CpG entre fumadores actuales y exfumadores. (33)

Gracias a este estudio encontramos el hallazgo de que la exposición al tabaquismo (ataque ambiental) podría afectar a la metilación en las regiones de genes impresos, encontrando una mayor sensibilidad a la exposición al tabaco en los enhancers.

Se estudia el efecto intrauterino del tabaquismo materno activo sobre la metilación del ADN de la placenta y se encuentran 9 CpG en los siguientes genes: TRIO, CMIP / PLCG2, TINAGL1, PDXK, ACOX3, TGM1 y PDGFB / RPL3, y todos están incluidos en DMR asociados con un patrón de metilación reversible al dejar de fumar, excepto PDXK, que es categorizado como una "memoria epigenética".

Aunque se requieren más estudios para determinar la relación funcional entre estos genes y su metilación placentaria, nuestros hallazgos podrían ser de interés en la búsqueda de explicaciones del aparente efecto protector del tabaquismo materno sobre el riesgo de preeclampsia, y más en general en la relación entre el tabaquismo materno y las alteraciones de la angiogénesis placentaria. (33)

Una observación interesante es el efecto desmetilante de la exposición al tabaquismo en las secuencias LINE-1. En comparación con otros tejidos, se sabe que la placenta humana tiene niveles más bajos de metilación de LINE-1 y Alu (repeticiones intercaladas). Curiosamente, aunque se realizó el mismo enfoque que para el análisis LINE-1 para medir los niveles de metilación de las regiones Alu, esta última no varió significativamente en función de la exposición al tabaco. Por lo tanto, aunque los niveles de metilación de LINE-1 y Alu se consideran marcadores sustitutos de los niveles globales de metilación, el presente estudio no sugiere que la exposición al tabaco induzca cambios globales en los niveles de metilación, sino que destaca que los niveles de metilación de estas repeticiones son afectados diferencialmente por la exposición al tabaco.

Este estudio se ha centrado en las mujeres que habían fumado pero dejaron de fumar antes del embarazo y, por tanto, antes de la diferenciación de la placenta. Los resultados identificaron 152 DMR donde los perfiles de metilación del ADN se alteraron en la placenta de mujeres que fumaban actualmente durante el embarazo y no en la placenta de no fumadoras o exfumadoras, lo que sugiere que las alteraciones de metilación del ADN de estas regiones podrían ser asociado con la exposición directa de la placenta al tabaco y "reversible" al dejar de fumar.

Otras 26 regiones mostraron perfiles de metilación del ADN alterados en la placenta, no solo en mujeres que fumaban activamente durante el embarazo, sino también en mujeres expuestas a fumar cigarrillos antes del embarazo.

Este resultado, en línea con la desmetilación significativa de las secuencias LINE-1 observadas en la placenta de exfumadores, sugiere que las placentas de exfumadores llevan marcas epigenéticas que reflejan una exposición pasada al tabaquismo, antes del desarrollo de la placenta. Implica que de alguna manera el recuerdo del tabaquismo pasado se transmite a las placentas que no han sido expuestas directamente al tabaquismo. (33)

Otra observación importante de este trabajo es que las alteraciones de metilación del ADN inducidas por el tabaco también afectan las regiones de control de improntas (ICR).

Se destacan tres loci de impronta. Los dos primeros loci, NNAT / BLCAP (20q11.23) y SGCE / PEG10 (7q21.3), se asociaron con metilación del ADN alterada (disminuida y aumentada, respectivamente) en mujeres que fumaban actualmente durante el embarazo y clasificadas como regiones "reversibles". El aumento de la expresión de NNAT / BLCAP se asoció con un mayor riesgo de bebés grandes o pequeños para la edad gestacional. En cuanto a SGCE / PEG10, su metilación en la sangre del cordón se asoció con el peso al nacer y su expresión en el epitelio bronquial se asoció con el tabaquismo en adultos. La desmetilación del tercer locus, que controla la expresión de H19 / MIR675 (11p15.5), se observó no solo en la placenta de las mujeres que fumaban actualmente, sino también detectable en la placenta de exfumadoras, lo que sugiere que

este importante locus impreso podría ser parte de los que llevan el recuerdo de una exposición pasada al tabaco. Se ha encontrado una menor metilación de este gen asociada con una mayor expresión en placentas con restricción del crecimiento fetal. En un estudio reciente, se encontró una menor metilación de H19 en la sangre del cordón umbilical asociada significativamente con el tabaquismo materno durante el embarazo. Con esto se apoya firmemente la hipótesis de que el locus H19 / MIR675 es un determinante importante del crecimiento fetal y que la metilación de la sangre del cordón umbilical y del ADN placentario son importantes. ambos sensibles a la exposición directa al tabaquismo. (33)

En definitiva, gracias a este estudio (el cual tiene el tamaño de muestra más grande publicado hasta la fecha) podemos conocer el efecto del tabaquismo sobre la metilación del ADN placentario humano a alta resolución e identificar DMR en las placentas de fumadores actuales y exfumadores. Estos DMR inducidos por el tabaco están enriquecidos en marcas epigenéticas correspondientes a enhancers, y algunos de ellos se superponen a regiones que contienen genes impresos o controlan su expresión monoalélica, lo que sugiere mecanismos por los cuales el tabaco podría afectar el epigenoma y afectar el desarrollo placentario y crecimiento fetal. (33)

Siguiendo con las alteraciones del desarrollo y el crecimiento fetal, también cabe destacar un estudio llevado a cabo en roedores en el que se investigó el gen IGF-1 hepático (factor de crecimiento insulínico tipo 1). (34)

Tal y como he mencionado antes, el hábito tabáquico en la gestante puede producir complicaciones tales como CIR en el feto, y dicha complicación interrumpe la maduración del desarrollo normal del intrón 2 del IGF-1 hepático (IN2GHRE) y disminuye los niveles de IGF-1 en suero.

Adquiere importancia el papel de un enhancer débil distal (IGF-1 59) como control de especificidad de elementos de respuesta a la hormona del crecimiento (GHRE).

Los patrones de desarrollo relacionados con la metilación del ADN y del histonismo caracterizan a cada GHRE y CIR interrumpe la epigenética del desarrollo alrededor de GHRE distal en el gen IGF-1 hepático de rata.

CIR va a producir cambios en el patrón de desarrollo de las modificaciones de las histonas de los GHRE en el IGF-1 hepático y deben estudiarse las metilaciones.

Cuatro marcas de metilación de histonas, que son K4me2, K4me3, K9me3 y K36me3 en la histona HE. Estas marcas fueron elegidas por razones claras: se distribuyen alrededor del promotor y están correlacionadas con la actividad de los enhancers. Se van a ver perturbadas por el CIR.

CIR disminuyó consistentemente la marca H3K36me3 a lo largo del gen IGF-1 hepático de rata que se correlaciona con la expresión disminuida de IGF-1 en CIR y otros modelos de estrés prenatal.

H3K9me3 no se ve afectada por CIR, por lo que hablaríamos de una marca neutra. (34)

Las modificaciones epigenéticas, incluida la metilación de histonas y ADN, se alteran durante el desarrollo. Los datos muestran 2 GHRE con distintas modificaciones de histonas y patrones de metilación del ADN que cambian a lo largo del desarrollo.

De esta manera, encontramos un cambio en el patrón de desarrollo de la epigenética GHRE por CIR.

El desarrollo postnatal normal requiere una regulación positiva de IGF-1 a través de regiones GHRE distales, que son sitios de unión afines del factor de transcripción STAT5b, el cual media la inducción de GH (hormona del crecimiento) de IGF-1 hepático casi exclusivamente.

Se activa GH, se fosforila STAT5b, se dimeriza, se transloca a nuclear, se une a GHRE y regula positivamente la transcripción de genes diana que responden a GH.

Con estos datos encontramos modificaciones epigenéticas de IGF-1 GHRE inducidas por CIR en el contexto del desarrollo. Estos cambios epigenéticos en GHRE pueden dar lugar a complicaciones inducidas por CIR a largo plazo.

CIR afecta la epigenética de GHRE durante todo el desarrollo. Estos cambios alteran el estado de la cromatina de una manera específica para el sitio y el sexo. Este cambio en el estado de la cromatina puede conducir a consecuencias a largo plazo. (34)

Para conocer un poco más sobre genes relacionados con CIR, vamos a analizar un estudio (35) sobre los genes PLAGL1 e HYMAI; los cuales se correlacionan positiva y significativamente, pero en los casos de CIR, las anomalías en la regulación hacen que se pierda esa correlación.

Se demostró que variaciones en la producción transcripcional de los alelos expresados de genes impresos se informan con más frecuencia en embarazos complicados con CIR.

Los genes PLAGL1 e HYMAI (dos transcripciones impresas desreguladas en la DM neonatal transitoria) están involucradas en CIR, ya que existe pérdida de correlación entre la expresión de PLAGL1 e HYMAI en dicha patología.

Encontramos mayor expresión de HYMAI en gestaciones con CIR junto con la regulación a la baja de PLAGL1 (además de hipoperfusión vascular materna) en placentas de niñas con CIR, pero no de niños.

Se produce la unión de PLAGL1 a los enhancers de H19/IGF2 en la placenta, con correlaciones significativas entre los niveles de PLAGL1 con los niveles de expresión de H19 e IGF2.

El crecimiento fetal se va a ver influenciado por la expresión alterada de la red de genes PLAGL1 en la placenta humana. (35)

El aumento de HYMAI en placentas de CIR y los niveles más bajos de PLAGL1 placentario de bebés concebidos tras técnicas de reproducción asistida no fueron paralelos a la pérdida o ganancia de metilación en PLAGL1, respectivamente.

Confirmamos que PLAGL1 actúa como un factor de transcripción activador y en nuestras muestras, la expresión de PLAGL1 se correlacionó con la expresión de genes impresos y no impresos, con una fuerte asociación con H19 e IGF2 para los que confirmamos la unión de PLAGL1 a la región potenciadora. Por tanto, en la placenta humana, PLAGL1 co-regula la expresión de varios genes de crecimiento importantes actuando como factor de transcripción. (35)

5. CONCLUSIONES

1. Una buena regulación epigenética es fundamental, ya que los cambios epigenéticos aumentan el riesgo de padecer enfermedades en un futuro.
2. La exposición en el útero al humo del tabaco afecta al epigenoma global tanto de madres como de niños y esta modulación epigenética se va a mantener de forma estable.
3. El CIR es uno de los efectos tóxicos más frecuentes en los hijos de madres fumadoras y conlleva una reducción del peso al nacer de entre 90 y 200g, siendo así responsable de múltiples complicaciones tanto a corto como a largo plazo que aumentan la mortalidad de los niños entre 3 y 10 veces.
4. Los enhancers y los superenhancers son la parte más utilizada dinámicamente del genoma y están directamente relacionados con el hábito tabáquico en las gestantes, siendo una importante diana de metilación.
5. Las regiones con metilación diferencial inducidas por el tabaco están enriquecidas en marcas epigenéticas correspondientes a enhancers y superenhancers que se superponen a regiones que contienen genes impresos o controlan su expresión y esto explica mecanismos por los cuales el tabaco afecta al epigenoma y al desarrollo placentario y crecimiento fetal.
6. Existe una fuerte correlación positiva entre la actividad genética y el número de enhancers y superenhancers, lo que indica que múltiples potenciadores específicos del tipo de célula pueden activar sinérgicamente el gen diana asociado.

LISTADO DE ABREVIATURAS

- **SIARN:** ARN pequeño de interferencia/ARN de silenciamiento
- **MIARN:** ARN micro
- **PIARN:** ARN asociado a PIWI
- **PIWI:** P-element Induced Wimpy testis
- **DMR:** regiones con metilación diferencial
- **CIR:** restricción del crecimiento intrauterino
- **IUGR:** intrauterine growth restriction
- **ATP:** adenosín trifosfato
- **CPG:** isla de citosina y guanina
- **CTCF:** proteína con dedo de 11 zinc
- **DNMT1:** ADN-citosina 5-metiltransferasa 1
- **DNMT3A:** ADN-citosina 5-metiltransferasa 3A
- **DNMT3B:** ADN-citosina 5-metiltransferasa 3B
- **EWAS:** estudios de asociación del epigenoma completo
- **IGF2:** factor de crecimiento insulínico tipo 2
- **HAT:** histona acetiltransferasa
- **HDAC:** histona desacetilasa
- **K:** lisina
- **HMT:** histona metiltransferasa
- **IARN:** ARN de interferencia
- **MARN:** ARN mensajero
- **IAM:** infarto agudo de miocardio
- **ARNASA:** ARN ribonucleasa
- **RISC:** RNA-induced silencing complex
- **TF:** factores de transcripciónpb
- **TE:** trofotodermo
- **TGC:** células gigantes de trofoblasto
- **SPT:** espongiotrofoblastos
- **SYNT:** sincitiotrofoblastos
- **SE:** superpotenciadores
- **TSC:** células madre de trofoblasto
- **PGC:** células germinales primordiales
- **IPAU:** índice de pulsatilidad de la arteria umbilical
- **IPMAUT:** índice de pulsatilidad medio de las arterias uterinas
- **IPAMC:** índice de pulsatilidad de la arteria cerebral media
- **RCP:** razón cerebroplacentaria
- **HTA:** hipertensión arterial
- **LES:** lupus eritematoso sistémico
- **TORCH:** toxoplasmosis-rubéola-citomegalovirus-herpes simple-VIH
- **PGF:** factor de crecimiento placentario
- **CAN SCORE:** clinical assessment of nutritional status score
- **PEG:** pequeño para edad gestacional
- **CO:** monóxido de carbono
- **CHIP-SEQ:** técnica de secuenciación de inmunoprecipitación de cromatina
- **JNK2:** quinasa c-jun n-terminal
- **IGF1:** factor de crecimiento insulínico tipo 1
- **GHRE:** elementos de respuesta a la hormona del crecimiento
- **IN2GHRE:** intron 2 del IGF1 hepático
- **GH:** hormona del crecimiento
- **DM:** diabetes mellitus

BIBLIOGRAFÍA

1. Chantal Aristizábal, José Vicente Bonilla, Hugo Cárdenas, Santiago Galvis, Luis Alejandro Gómez y cols. Carlos Eduardo Maldonado, ed. Una introducción a la epigenética. Investigaciones en complejidad y salud. Universidad El Bosque Editorial. Facultad de Medicina. Grupo de Investigación Complejidad y Salud. N°1. Año 1, enero-marzo 2019. ISSN: 2665-1564.
2. Corella D, Ordovas M. Factores moleculares relacionados con la genética Conceptos básicos y la epigenética. 2017;70(x):744–53.
3. Casanello P, Krause BJ, Castro-Rodriguez JA, Uauy R. Fetal programming of chronic diseases: Current concepts and epigenetics. *Rev Chil Pediatr.* 2015;86(3):135–7.
4. Grunau C, Luyer J Le, Laporte M, Joly D. The epigenetics dilemma. *Genes (Basel).* 2020;11(1):10–2.
5. Markunas CA, Xu Z, Harlid S, Wade PA, Lie RT, Taylor JA, et al. Identification of DNA Methylation Changes in Newborns Related to Maternal Smoking during Pregnancy. *Environ Health Perspect.* 2014;122(10):1147–53.
6. Gonzalez-Rodriguez P, Cantu J, O’Neil D, Seferovic MD, Goodspeed DM, Suter MA, et al. Alterations in expression of imprinted genes from the H19/IGF2 loci in a multigenerational model of intrauterine growth restriction (IUGR). *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2016;214(5):625.e1-625.e11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2016.01.194>
7. Monteagudo-Sánchez A, Sánchez-Delgado M, Mora JRH, Santamaría NT, Gratacós E, Esteller M, et al. Differences in expression rather than methylation at placenta-specific imprinted loci is associated with intrauterine growth restriction. *Clin Epigenetics.* 2019;11(1):1–15.
8. González Romero R, Ausió J, Méndez J, Eirín López J. El papel clave de las histonas. *Investig Cienc.* 2011;(423):36–43.
9. Michael Grunstein. Las histonas, proteínas reguladoras de genes. Investigación y ciencia. Diciembre, 1992.
10. Ray-Gallet D, Almouzni G. The Histone H3 Family and Its Deposition Pathways. Vol. 1283, *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2021. 17–42 p.
11. Kaminker P, Kaminker P. Epigenética, ciencia de la adaptación biológica heredable. *Arch Argent Pediatr.* 2007;105(6):529–31.
12. Gabriel Dorado, Fernando Luque, Plácido Pascual, Inmaculada Jiménez y cols. Implicaciones del ARN no codificante en biología y evolución: desde los primeros homínidos hasta los humanos modernos. *Revista Archaeobios* N°14, Vol. 1. Diciembre 2020.

13. Eva Brandés y Jesús García-Foncillas. Micro-ARN y cáncer. Implicaciones clínicas de la investigación básica. GH continuada. Laboratorio de Farmacogenómica. Área de Oncología. Centro de Investigación Médica Aplicada. Universidad de Navarra. Septiembre-octubre 2009. VOL. 8 N°5.
14. Charbe NB, Amnerkar ND, Ramesh B, Tambuwala MM, Bakshi HA, Aljabali AAA, et al. Small interfering RNA for cancer treatment: overcoming hurdles in delivery. *Acta Pharm Sin B* [Internet]. 2020;10(11):2075–109. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.10.005>
15. Sánchez ML. El silenciamiento génico. Revisión. *Bioquímica y Patol Clínica*. 2017;81-N°3:42–51.
16. Czech B, Munafò M, Ciabrelli F, Eastwood EL, Fabry MH, Kneuss E, et al. PiRNA-guided genome defense: From biogenesis to silencing. *Annu Rev Genet*. 2018;52:131–57.
17. Ozata DM, Gainetdinov I, Zoch A, O’Carroll D, Zamore PD. PIWI-interacting RNAs: small RNAs with big functions. *Nat Rev Genet* [Internet]. 2019;20(2):89–108. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41576-018-0073-3>
18. Lewis MW, Li S, Franco HL. Transcriptional control by enhancers and enhancer RNAs. *Transcription* [Internet]. 2019;10(4–5):171–86. Available from: <https://doi.org/10.1080/21541264.2019.1695492>
19. Sebastian Pott & Jason D Lieb. What are super-enhancers? Perspective. *Nature Genetics*. Volume 47. Number 1. January 2015.
20. Lee BK, Jang Y, Kim M, LeBlanc L, Rhee C, Lee J, et al. Super-enhancer-guided mapping of regulatory networks controlling mouse trophoblast stem cells. *Nat Commun* [Internet]. 2019;10(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-12720-6>
21. Calo E, Wysocka J. Modification of Enhancer Chromatin: What, How, and Why? *Mol Cell* [Internet]. 2013;49(5):825–37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2013.01.038>
22. Chris O’Neill. The epigenetics of embryo development. Kolling Institute for Medical Research, Sydney Medical School, Royal North Shore Hospital, NSW, 2065 Australia. Jan. 2015, Vol. 5, N° 1.
23. Reig G, Concha ML. Impronta Genómica y Desarrollo Embrionario. *Int J Morphol*. 2012;30(4):1453–7.
24. Sharma D, Shastri S, Farahbakhsh N, Sharma P. Intrauterine growth restriction—part 1. *J Matern Neonatal Med*. 2016;29(24):3977–87.
25. Sanchez-Cruzat Albertin C, Galdeano Gorris MP. Review of the literature on intrauterine growth retardation. *Matronas Prof*. 2012;13(1):23–8.

26. Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, Sharma P. Intrauterine growth restriction—part 2. *J Matern Neonatal Med.* 2016;29(24):4037–48.
27. Benítez LA, Hernández M M, De Abreu M J, Guevara V C, Luna M J. Retardo de crecimiento intrauterino. *Inf Med [Internet].* 2005;7(1):13–24. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1245-1789\(10\)70175-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1245-1789(10)70175-X)
28. Garrabou G, Hernández AS, Catalán García M, Morén C, Tobías E, Córdoba S, et al. Molecular basis of reduced birth weight in smoking pregnant women: mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Addict Biol.* 2016;21(1):159–70.
29. Dessì A, Corona L, Pintus R, Fanos V. Exposure to tobacco smoke and low birth weight: from epidemiology to metabolomics. *Expert Rev Proteomics.* 2018;15(8):647–56.
30. Grazuleviciene R, Danileviciute A, Nadisauskiene R, Vencloviene J. Maternal smoking, GSTM1 and GSTT1 polymorphism and susceptibility to adverse pregnancy outcomes. *Int J Environ Res Public Health.* 2009;6(3):1282–97.
31. Andres RL, Day MC. Perinatal complications associated with maternal tobacco use. *Semin Neonatol.* 2000;5(3):231–41.
32. Bauer T, Trump S, Ishaque N, Thürmann L, Gu L, Bauer M, et al. Environment-induced epigenetic reprogramming in genomic regulatory elements in smoking mothers and their children. *Mol Syst Biol.* 2016;12(3):861.
33. Rousseaux S, Seyve E, Chuffart F, Bourova-Flin E, Benmerad M, Charles MA, et al. Immediate and durable effects of maternal tobacco consumption alter placental DNA methylation in enhancer and imprinted gene-containing regions. *BMC Med.* 2020;18(1):1–20.
34. Fu Q, Yu X, Callaway CW, Lane RH, McKnight RA. Epigenetics: intrauterine growth retardation (IUGR) modifies the histone code along the rat hepatic IGF-1 gene. *FASEB J.* 2009;23(8):2438–49.
35. Iglesias-Platas I, Martin-Trujillo A, Petazzi P, Guillaumet-Adkins A, Esteller M, Monk D. Altered expression of the imprinted transcription factor PLAGL1 deregulates a network of genes in the human IUGR placenta. *Hum Mol Genet.* 2014;23(23):6275–85.