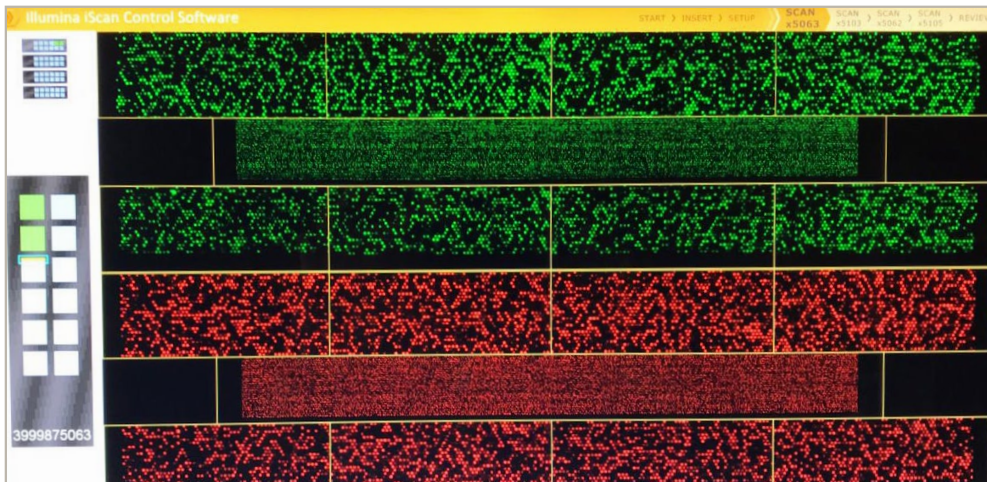


Epigenètica i envelliment

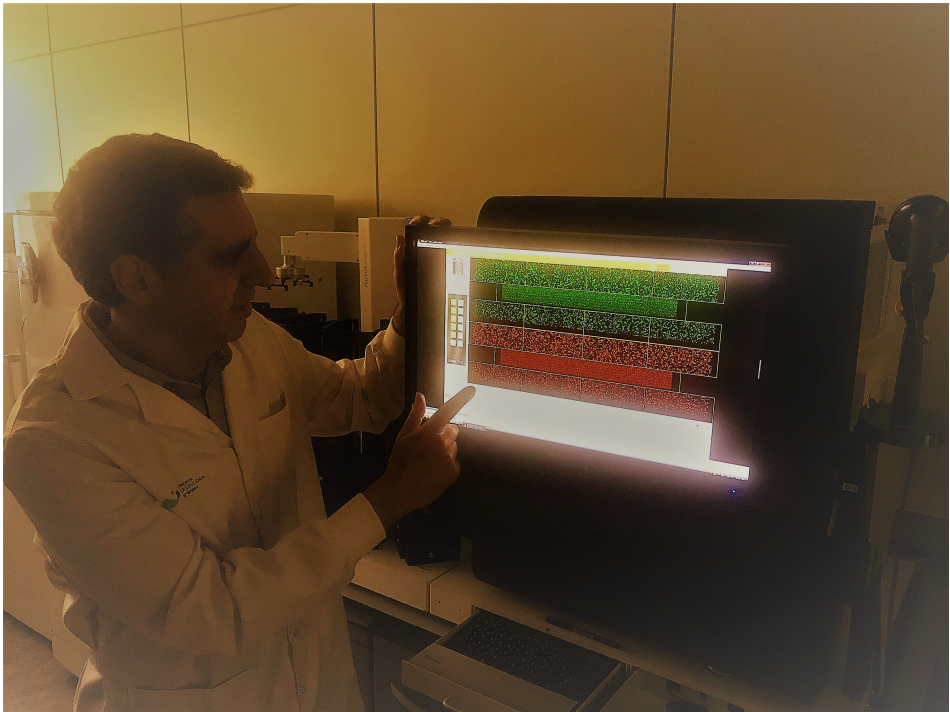
Discurs de presentació de Manel Esteller Badosa
com a membre numerari de la Secció de Ciències
Biològiques, llegit el dia 7 d'octubre de 2019



Institut
d'Estudis
Catalans

SECCIÓ
DE CIÈNCIES
BIOLÒGIQUES

Epigenètica i envelliment



El doctor Esteller assenyala els diferents punts que representen una citosina metilada (vermella) o no metilada (verda).

Epigenètica i envelliment

Discurs de presentació de Manel Esteller Badosa
com a membre numerari de la Secció de Ciències
Biològiques, llegit el dia 7 d'octubre de 2019

Barcelona, 2019



Institut
d'Estudis
Catalans

SECCIÓ
DE CIÈNCIES
BIOLÒGIQUES

Esteller, Manel, autor

Epigenètica i envelliment. — Primera edició

Bibliografia

ISBN 9788499654935

I. Institut d'Estudis Catalans. Secció de Ciències Biològiques II. Títol

1. Epigenètica 2. Envelliment — Aspectes genètics 3. Càncer — Aspectes genètics

577.216

612.67:575

616-006.6-056.7

© Manel Esteller Badosa

© 2019, Institut d'Estudis Catalans, per a aquesta edició

Carrer del Carme, 47. 08001 Barcelona

Primera edició: octubre del 2019

Text revisat lingüísticament per la Unitat de Correcció del Servei Editorial de l'IEC

Disseny de la coberta: Azcunce | Ventura

Compost per la Unitat de Producció del Servei Editorial de l'IEC

Imprès a Open Print, SL

ISBN: 978-84-9965-493-5

Dipòsit Legal: B 22768-2019

Són rigorosament prohibides, sense l'autorització escrita dels titulars del *copyright*, la reproducció total o parcial d'aquesta obra per qualsevol procediment i suport, incloent-hi la reprografia i el tractament informàtic, la distribució d'exemplars mitjançant lloguer o préstec comercial, la inclusió total o parcial en bases de dades i la consulta a través de xarxa telemàtica o d'Internet. Les infraccions d'aquests drets estan sotmeses a les sancions establertes per les lleis.

QUÈ ÉS L'EPIGENÈTICA?

Està el nostre destí escrit en els gens? Quin paper té l'ambient en el que som? Ningú no té una resposta definitiva a aquests interrogants, però hi ha un camp del coneixement que pot indagar el vincle que hi ha entre la genètica i altres factors, com, per exemple, les condicions de l'entorn. Es tracta de l'*epigenètica* (del grec *epi*, 'sobre', i *gennētikós*, 'generatiu'), terme que significa 'per sobre dels gens', i que va ser descrit el 1942 pel paleontòleg i genetista escocès Conrad H. Waddington per designar l'estudi de les interaccions entre el genotip i el fenotip, és a dir, entre la informació codificada en els gens i aquella que efectivament s'expressa [1]. L'objecte d'anàlisi són les modificacions en l'expressió gènica i una de les fonts de canvi és l'ambient. En l'actualitat, per *epigenètica* s'entén la regulació genètica en què intervenen modificacions en l'estructura de la cromatina (material genètic empaquetat al voltant de proteïnes), o aquells canvis hereditaris en l'expressió genètica independents de la seqüència de nucleòtids del DNA [2]. L'epigenètica són les marques químiques que, encara que no originen canvis a la seqüència del DNA, poden influir en l'expressió dels gens. Waddington la va concebre com l'*anàlisi causal del desenvolupament*, que implicava les interaccions dels gens amb el seu medi ambient, i va desenvolupar el concepte *paisatge epigenètic*, que es visualitza en forma de cims i valls o regions amb alta i baixa concentració de marques epigenètiques, respectivament. El paisatge epigenètic descriu les opcions que una cèl·lula mare en un embrió segueix en punts clau del desenvolupament, i es dirigeix cap a un punt o cap a un altre per l'acció de factors inductors epigenètics embrionaris o *gens homeòtics* [3]. Waddington

va percebre que el camí per determinar les característiques adquirides mitjançant l'herència era descobrir les formes existents de plasticitat en el desenvolupament d'una població o esbrinar que l'ambient podia persuadir la població pel que fa a la conducta (figura 1) [4].

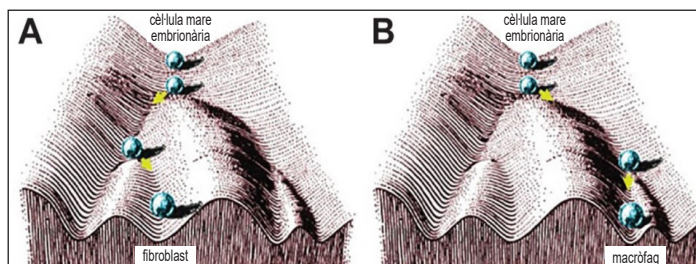


FIGURA 1. Diagrames de la panoràmica del desenvolupament de Waddington. La panoràmica i la bola superior són del seu diagrama original. Les posicions de la bola s'han afegit per il·lustrar la seva idea que el desenvolupament es pot canalitzar seguint rutes diferents (A i B). [4] (Diagrama modificat per K. Mitchell).

PROPIETATS DINÀMIQUES I ESTOCÀSTIQUES DE LA CROMATINA

L'estructura de la cromatina és dinàmica i està sotmesa a grans remodelacions durant el desenvolupament, l'envelliment i la malaltia. Per aquest motiu, aquesta remodelació té a veure amb malalties com el càncer i, alhora, amb l'esperança de vida de l'organisme. Malgrat tot, els canvis estocàstics no deterministes en l'estructura de la cromatina al llarg del temps també poden contribuir a alterar les funcions nuclear, cel·lular i tissular, i, consegüentment, conduir a la vellesa i les seves xacres. La longevitat de l'organisme i l'envelliment estan influïts per molts factors complexos, entre els quals cal destacar l'acumulació de mutacions en els genomes nuclear i mitocondrial, l'escurçament i disfunció dels telòmers, el dany oxidatiu al DNA i a altres macromolècules cel·lulars i factors hormonals sistèmics (per exemple, insulina), la senescència, l'apoptosi i la diferenciació alterada dels teixits autorenovables que depenen de les cèl·lules mare [5].

La unitat bàsica repetitiva en l'estructura de la cromatina és el nucleosoma, que comprèn 146 parells de bases enrotllades al voltant d'un octàmer d'histones (H1-H4) (figura 2). La cromatina es divideix en dos tipus: heterocromatina i eucromatina. L'eucromatina es descondensa durant la interfase, s'activa transcripcionalment i es replica a l'inici de la fase S. Per contra, l'heterocromatina roman condensada durant la interfase, és transcripcionalment silent i es replica més tard. L'heterocromatina se subdivideix en dos tipus: constitutiva i facultativa. La cons-

titutiva es troba al DNA pericentromèric i telomèric, és heterocromàtica en totes les cèl·lules d'un organisme i s'havia considerat que és essencialment fixa i irreversible al llarg de la vida. En canvi, l'heterocromatina facultativa intervé en els processos regulats de diferenciació cel·lular o en altres canvis del fenotip cel·lular. Per exemple, un sol cromosoma X se silencia per mitjà de l'heterocromatinització en cèl·lules de mamífer femella per a la compensació de la dosi de cromosoma sexual. El fet que la cromatina formi eucromatina o heterocromatina és determinat per les modificacions de les histones i del DNA. Per exemple, l'acetilació de les cues de l'N-terminal de les histones promou la formació d'eucromatina. I, a l'inrevés, la metilació del DNA dona lloc a la formació d'heterocromatina [6, 7].

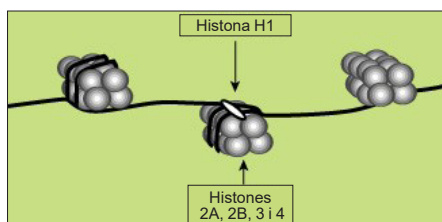


FIGURA 2. Nucleosoma, format per 146 parells de bases enrotllades al voltant d'un octàmer d'histones.

FONT: Elaboració pròpia.

SENESCÈNCIA CEL·LULAR I REDISTRIBUCIÓ DE LA CROMATINA

La senescència cel·lular es caracteritza per una aturada irreversible de la proliferació. S'inicia per diversos desencadenants, entre els quals, un nombre excessiu de divisions cel·lulars i l'escurçament dels telòmers (senescència replicativa) [8, 9]. A causa de la senescència, la major part de les cèl·lules primàries humanes tenen una vida proliferativa limitada, de manera que contribueix a l'envelliment del teixit *in vivo*, ja que limita la seva autorenovació cel·lular. Les cèl·lules senescentes i els marcadors moleculars del fenotip senescent augmenten en alguns teixits i estan connectats amb patologies associades a l'edat, com l'osteoartritis, l'ateroesclerosi i la cirrosi hepàtica. A més, la manipulació dels senyals que inicien la senescència —com la longitud dels telòmers i l'expressió de l'inhibidor de la proliferació p16INK4a— pot modular alguns aspectes de l'envelliment de l'organisme. La senescència cel·lular és també un procés ben establert de supressió tumoral, atesa la capacitat que té de frenar la proliferació i la progressió neoplàstica en cèl·lules que arrosseguen lesions oncogèniques.

Moltes cèl·lules senescentes, tant si són conseqüència de rondes de proliferació excessives com si són activades per oncogens, mostren grans canvis en l'estructu-

ra de la cromatina perquè formen dominis especialitzats d'heterocromatina facultativa, anomenats *focus d'heterocromatina associats a la senescència* (SAHF). Aquests SAHF estan més condensats que la cromatina de la interfase i contenen modificacions en les histones i proteïnes associades a les característiques de l'heterocromatina. Els SAHF silencien l'expressió de gens promotors de la divisió cel·lular i, així, contribueixen a l'aturada de la proliferació típica de la senescència. Encara que els SAHF aparentment són el resultat de la condensació de cromosomes quasi sencers, les seqüències del DNA que estan típicament contingudes en l'heterocromatina constitutiva —com els pericentròmers i els telòmers— sembla que són excloses del gruix del cromosoma condensat. Això suggereix que aquestes regions heterocromàtiques potser són desheterocromatitzades en cèl·lules senescentes. D'acord amb aquesta idea, si més no en el cas dels telòmers, s'ha demostrat que els telòmers curts de ratolins que manquen de telomerasa tenen l'heterocromatina reduïda en comparació amb els telòmers de les cèl·lules normals [9]. Així doncs, a mesura que el teixit envelleix, la senescència cel·lular sembla que va acompanyada d'una redistribució de l'heterocromatina, des de l'heterocromatina constitutiva fins a altres llocs que normalment són eucromàtics d'una manera específica i fins a aquells dominis especialitzats d'heterocromatina facultativa.

CANVIS EPIGENÈTICS DURANT L'ENVELLIMENT

La modificació epigenètica més estudiada és la metilació del DNA en els residus citosina que van seguits d'un nucleòtid de guanina. Normalment, la metilació comporta el silenciament del gen, però pot implicar també l'expressió de gens veïns. Una altra modificació epigenètica és la que determina l'organització de les *histones* (*acetilació*, *metilació*, etc.), que produeix una alteració en l'accessibilitat al DNA per a la transcripció.

La *metilació covalent del DNA* en el genoma de mamífers suposa l'addició d'un grup metil a l'anell aromàtic d'una base del DNA. Aquesta reacció està restringida, en mamífers, a l'anell de la citosina del dinucleòtid CpG, que dona lloc a la 5-metilcitosina (5mC), i està catalitzada per la DNA-metiltransferasa (DNMT), en presència d'un donant de grups metil, l'S-adenosilmetionina (SAM) (figura 3). La 5mC pot experimentar una desaminació espontània i donar lloc a timina (T), la qual cosa fa que els CpG siguin punts calents per a la mutació i s'eliminin a poc a poc durant l'evolució.

La metilació del genoma origina el silenciament de determinades àrees del DNA. Hi ha dos tipus de metilació: la metilació de manteniment i la metilació *de novo*. La de manteniment afegeix grups metil a cadenes de DNA recentment sintetitzades en punts *oposats* als llocs metilats a la cadena mare. Aquesta activitat garanteix que les molècules filles de DNA mantinguin un perfil de metilació des-

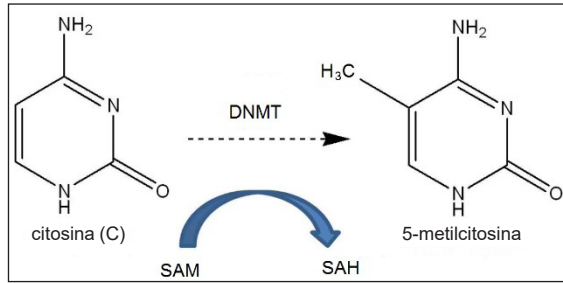


FIGURA 3. Metilació de la citosina mitjançant l'activitat enzimàtica de la DNMT en presència d'un agent donant de grups metil, la SAM.
 FONT: Elaboració pròpia.

prés de la divisió cel·lular. En canvi, la metilació *de novo* afegeix grups metil en posicions noves, canviant el perfil de metilació en una regió localitzada del genoma. Els gens que s'han d'expressar en els teixits tenen regions no metilades conegudes com a *illes CpG*, localitzades en els promotors mínims dels gens. Els gens que s'han de silenciar en els teixits diferenciats tenen metilades les illes CpG, la qual cosa permet que un complex histona-desacetilasa (HDAC) s'uneixi i comprimeixi la forma del material genòmic, i així s'inactivi el gen. Les illes CpG són regions del DNA que tenen dinucleòtids de citosina i guanina en una freqüència elevada, i la seva metilació a prop o dins dels promotors dels gens és el que provoca el silenciament d'aquests gens [10]. Atès que l'envelliment i el càncer presenten alteracions epigenètiques que en alguns casos convergeixen, és interessant conèixer la funció i la significació biològica de les alteracions epigenètiques que s'acumulen durant l'envelliment i que són importants en la tumorigènesi. En són exemples la pèrdua global de la metilació del DNA en l'envelliment i en el càncer per mitjà del promotor de la hipermetilació de gens, amb un paper dual en la supressió tumoral i en la progèria [11].

La *modificació de la cromatina* és el segon aspecte més complex de l'epigenètica. Les protagonistes aquí són les histones, les proteïnes bàsiques que formen el nucleosoma (figura 2). Les histones H2A, H2B, H3 i H4, juntament amb 147 parells de bases de DNA genòmic, que s'enrotllen al voltant de nucleosomes, són unitats bàsiques de la cromatina. Les interaccions entre el DNA i les histones desencadenen un elevat grau de condensació que impedeix la transcripció genètica. La *modificació epigenètica de les histones* té un perfil definit durant l'envelliment i la transformació cel·lular. Les sirtuïnes —una família de desacetilases dependents del dinucleòtid de nicotinamida i adenina (NAD)— actuen sobre la lisina (K) 16 de la histona 4, i es considera que estableixen una connexió entre la transformació cel·lular i la longevitat. Per exemple, la trimetilació de l'H4-H20 està enriquida en

cèl·lules indiferenciades, s'eleva amb l'edat, i normalment és reduïda en cèl·lules canceroses (figura 4). Curiosament, la trimetilació de l'H4-K20 es redueix després del tractament amb l'hepatocarcinogen tamoxifèn. La pèrdua de l'H4-K20 trimetilada en cèl·lules canceroses pot estar causada per la pèrdua d'expressió de la metiltransferasa específica d'H4-K20, Suv4-20h (homòleg 4-20 del supressor de la variació de la *Drosophila*), la pèrdua del supressor de tumors retinoblastoma o l'alteració d'altres enzims modificadors de les histones. L'increment de l'H4-K20 trimetilada en cèl·lules envellides s'ha associat amb defectes a la làmina nuclear, si bé existeixen poques dades sobre els mecanismes moleculars que connecten les làmines nuclears amb la maquinària modificadora de les histones. De tota manera, hi ha una associació entre les alteracions de les làmines nuclears i la morfologia nuclear alterada. En aquest aspecte, s'ha observat que l'alteració de FACE1 —una metal·loproteasa implicada en la maduració proteolítica del precursor de la làmina A— s'associa amb l'envelliment prematur i amb la disrupció de la integritat de l'embolcall nuclear. No se sap si les alteracions nuclears dependents de la làmina s'associen amb modificacions epigenètiques, per bé que també s'observen alteracions en la morfologia nuclear en cèl·lules humanes deficientes en DNMT [10, 12].

DISCORDANÇA EPIGENÈTICA I VARIABILITAT FENOTÍPICA

La interacció dels factors mediambientals amb la discordança fenotípica entre bessons monozigòtics (MZ) va ser observada fa molts anys [13, 14], però poc se sabia aleshores dels mecanismes moleculars mitjançant els quals els factors mediambientals podien —d'una manera permanent o transitòria— influir en la funció genètica. Posteriorment, les nostres dades obtingudes de bessons MZ han proporcionat evidències que corroboren que les variants epigenètiques s'acumulen amb l'edat independentment de la seqüència genètica [15]. Aquest estudi va analitzar la contribució epigenètica a la discordança entre bessons i va aclarir l'efecte de les característiques ambientals sobre la funció genètica. Fins avui s'han analitzat en una gran quantitat de bessons homozigòtics (HZ) les diferències globals, la metilació específica del DNA i la modificació de les histones. Les dades obtingudes han revelat un canvi epigenètic entre aquests germans MZ durant l'envelliment, que es va associar amb discordances fenotípiques, atribuïdes a un ambient no compartit [15, 16]. Hi ha evidències experimentals de la modulació epigenètica com a resposta a factors ambientals i a partir d'altres fonts. Per exemple, un ambient intrauterí anormal s'associa amb la regulació de gens implicats en la funció de les cèl·lules beta pancreàtiques i la dieta materna respecte al perfil de la metilació del DNA de la descendència. Existeixen canvis epigenètics que s'esdevenen durant el desenvolupament ontogènic que no es poden explicar només per factors ambientals —per exemple, en animals bessons i endogàmics—, quan les diferències fenotípiques es

produeixen en absència de diferències ambientals i, també, quan aquestes diferències ambientals no augmenten significativament el grau de variació fenotípica. Això demostra que, a part del medi ambient, es requereixen altres components per aconseguir la variabilitat fenotípica. Aquests components poden ser el resultat d'una classe de recombinació epigenètica estocàstica, també coneguda com el *tercer component*, després de la reproducció sexual. La hipòtesi del tercer component està en consonància amb el concepte *epigenotips múltiples*, com ara les variacions epigenètiques intraindividuals —específiques dels teixits— i les interindividuais —que poden explicar els diferents perfils trobats fins i tot entre individus joves [17]. Com que la funció genètica i l'estructura de la cromatina poden ser modulades per mitjà de modificacions químiques en el DNA i en les histones que l'acompanyen, la idea que el medi ambient pugui provocar respostes fenotípiques en què intervenen factors epigenètics resulta molt atractiva. No obstant això, els mecanismes precisos mitjançant els quals l'ambient pot generar aquestes respostes fenotípiques adaptatives no es coneixen encara i representen una àrea d'un interès extraordinari.

Les conseqüències dels canvis epigenètics associats a l'envelliment s'han estudiat en profunditat en llevats. En aquests organismes, la redistribució de Sir2 i les proteïnes heterocromatíniques contraresten el procés d'envelliment. L'efecte de les diverses formes de regulació epigenètica associada a l'edat en mamífers roman ara per ara en fase especulativa. De tota manera, l'envelliment va acompanyat de diversos fenotips alterats que poden estar connectats amb els canvis epigenètics relacionats amb l'edat. Estudis pioners de Richard Doll *et al.* [18], en els anys seixanta del segle passat, van indicar que l'edat s'associava amb l'aneuploidia cel·lular. Com que la mateixa segregació cromosòmica depèn de l'estructura i funció de l'heterocromatina constitutiva pericèntrica, la disminució en la metilació del DNA i la desheterocromatinització de seqüències pericentromèriques repetitives poden contribuir a la segregació cromosòmica defectuosa i a l'aneuploidia associada a l'edat. Estudis més recents en llevat han demostrat que l'aneuploidia confereix diversos fenotips cel·lulars alterats, incloent-hi l'alteració proliferativa, que pot contribuir a la disminució de la capacitat de renovació tissular amb l'edat. L'aneuploidia també pot promoure el càncer, malaltia en què l'envelliment és el principal factor de risc [19]. L'envelliment va també acompanyat de canvis d'expressió gènica. Cal destacar que algun d'aquests canvis sembla que té un component estocàstic. Per exemple, l'envelliment està associat amb una variabilitat incrementada en l'expressió gènica en cardiomiòcits. Les cèl·lules mare hematopoètiques velles també exhibeixen canvis en l'expressió gènica. Aquests canvis són consistents amb una predisposició cap a la diferenciació mieloide i aparentment s'assemblen al canvi de limfoide a mieloide, que va unit a l'envelliment del sistema immunitari i contribueix a la declinació de la immunitat adapta-

tiva. No és clar si aquestes modificacions associades a l'edat es deuen a alteracions epigenètiques o a alteracions genètiques (acumulació del dany al DNA), però és possible que l'epigenètica hi contribueixi en una bona part. D'acord amb aquesta possibilitat, hi ha les divergències dependents de l'edat, en el perfil de metilació del DNA i acetilació de les histones en parelles de bessons HZ, abans anomenats. En aquest estudi amb bessons, els gens que estaven modificats de manera diferent es van expressar també de manera distinta, la qual cosa suggereix que la divergència epigenètica dependent de l'edat en individus genèticament idèntics condueix a la divergència dels perfils d'expressió gènica [14].

La metilació de les illes CpG dependents de l'envelliment pot presentar profundes conseqüències funcionals en els supressors *INK4a* i *VHL* que precedeixen el desenvolupament de canvis neoplàstics en l'organització tissular. Si una conseqüència d'aquesta metilació de les CpG és silenciar gens supressors de tumors —procés desavantatjós per a l'organisme—, és possible que estigui connectada a altres canvis beneficiosos en l'estructura de la cromatina, si bé reflecteix una direcció estocàstica no determinada d'aquest procés. Per exemple, si els SAHF contribueixen al fenotip senescent, han de fer-ho en primer lloc a la supressió tumoral mitjançada per la senescència. De tota manera, els errors estocàstics en els processos d'acoblament dels SAHF poden contribuir erròniament a la metilació de les illes CpG en els promotors d'alguns gens supressors de tumors, tenint en compte el silenciament d'aquests gens en l'envelliment. Si aquests errors epigenètics estocàstics esdevenen només rares mutacions genètiques, han de conferir el primer avantatge selectiu en el camí cap al càncer.

METILOMES DE DNA, ENVELLIMENT I CÀNCER

El perfil de metilació del DNA s'hereta amb una gran fidelitat en una cèl·lula normal, en cada ronda de divisió cel·lular, i està assegurada per les DNMT. De tota manera, la cèl·lula vella experimenta un canvi en la metilació del DNA (figura 4). Està demostrat que la metilació global del DNA disminueix en l'envelliment en molts tipus de teixits [20] i s'ha observat que els fibroblasts de mamífers cultivats fins a la senescència patien una pèrdua més gran de la metilació del DNA. La pèrdua de la metilació del DNA en la vellesa és deguda probablement a la desmetilació passiva de l'heterocromatina, a conseqüència d'una disminució progressiva de l'eficàcia de les DNMT o de l'expressió errònia de l'enzim per altres cofactors. És també possible que la resposta natural de la cèl·lula a la pèrdua de la metilació del DNA —en seqüències repetides del DNA— sigui la sobreexpressió *de novo* de la metilasa del DNA, la DNMT3b —com s'ha trobat en fibroblasts en cultiu. Un resultat lògic de la sobreexpressió de la DNMT3b és que regions com les illes CpG, que es troben no metilades en cèl·lules normals, siguin hipermetilades de manera

aberrant en els gens humans MUTL homòleg 1 *MutL (MLH1)* i *p14ARF*. Curiosament, la hipometilació global del DNA, la hipermetilació aberrant i la sobreexpressió modesta de la DNMT3b són alteracions epigenètiques conegudes en càncer. Així doncs, l'acumulació d'alteracions epigenètiques durant l'envelliment pot contribuir a la transformació tumorigèna [12].

Diverses regions del DNA genòmic s'hipermetilen amb l'edat. Per exemple, s'ha detectat un increment de metilcitosina dins els grups de DNA ribosòmic en fetge de rates velles que pot associar-se amb la disminució dels nivells d'RNA durant l'envelliment. La metilació de les illes CpG en teixits no tumorigens s'ha descrit per a diversos gens, incloent-hi el receptor d'estrògens (RE), l'antigen de diferenciació miogènica 1 (*MYOD1*), el factor de creixement insulínic II (*IGF2*) i el candidat 33 supressor tumoral (N33). En alguns casos, com *MLH1* i *p14ARF*, la hipermetilació del promotor va ser més comuna en teixits envellits. Un estudi més recent ha trobat hipermetilació en el promotor dels gens supressors de tumors lisil-oxidasa (*LOX*), *p16INK4a*, factor de transcripció 3 relacionat amb *runt (RUNX3)*, i el gen induïble TPA (*TIGI*), en mucosa gàstrica no neoplàstica, que es va relacionar d'una manera significativa amb l'envelliment [12].

Encara que és possible associar l'acumulació de la metilació en els promotors dels gens supressors de tumors durant l'envelliment amb la predisposició a desenvolupar càncer, no hi ha cap evidència experimental d'una relació directa entre aquests gens i l'envelliment [12]. La regulació del *locus INK4/ARF* durant l'envelliment reclama una atenció especial. D'una banda, la regió promotora del gen *p16INK4a* guanya un major nombre d'illes CpG metilades en teixits normals durant l'envelliment, i, per bé que encara no s'ha investigat, la hipermetilació en l'interior d'aquest promotor suggereix que *p16INK4a* es troba reduït en cèl·lules velles. D'altra banda, se sap que l'expressió de *p16INK4a* augmenta amb l'edat en mamífers i el més notable és que la seva regulació (activació) està directament implicada en la disminució del potencial d'autorenovació d'algunes cèl·lules mare madures. Així doncs, la regulació del *locus INK4/ARF* ha de tenir un paper important en l'envelliment i el càncer. Durant l'envelliment, *INK4/ARF* pot arribar a hipermetil·lar-se i, de vegades, quan la hipermetilació és extensa i densa a les illes CpG del promotor, el *locus* pot ser reprimit, la qual cosa afavoreix la transformació maligna. Al mateix temps, aquest *locus* sembla que està activat de manera epigenètica i independent durant l'envelliment en un procés que pot tenir un paper directe en el menor potencial proliferatiu de cèl·lules progenitores madures [12].

SILENCIAMENT EPIGENÈTIC DELS GENS PROGEROIDES

Les síndromes progeroides comprenen un grup de malalties caracteritzades per trets clínics d'envelliment prematur. Dues de les entitats clíniques reconegudes són

la síndrome de Werner i la progèria o malaltia de Hutchinson-Gilford, associades amb mutacions genètiques al gen *WRN*, que codifica un membre de la família RecQ d'helicases, i el de la làmina nuclear A/C (*LMNA*), respectivament. S'ha demostrat que la inactivació epigenètica dels gens progeroides, *WRN* i *LMNA*, pot també contribuir a la transformació maligna (figura 4). El gen *LMNA* va ser el primer gen del qual es va saber que estava implicat en l'envelliment que exhibeix activitat supressora de tumors i està freqüentment reprimat en càncer per hipermetilació del promotor. La làmina nuclear es localitza en el costat intern de la membrana nuclear i cons-

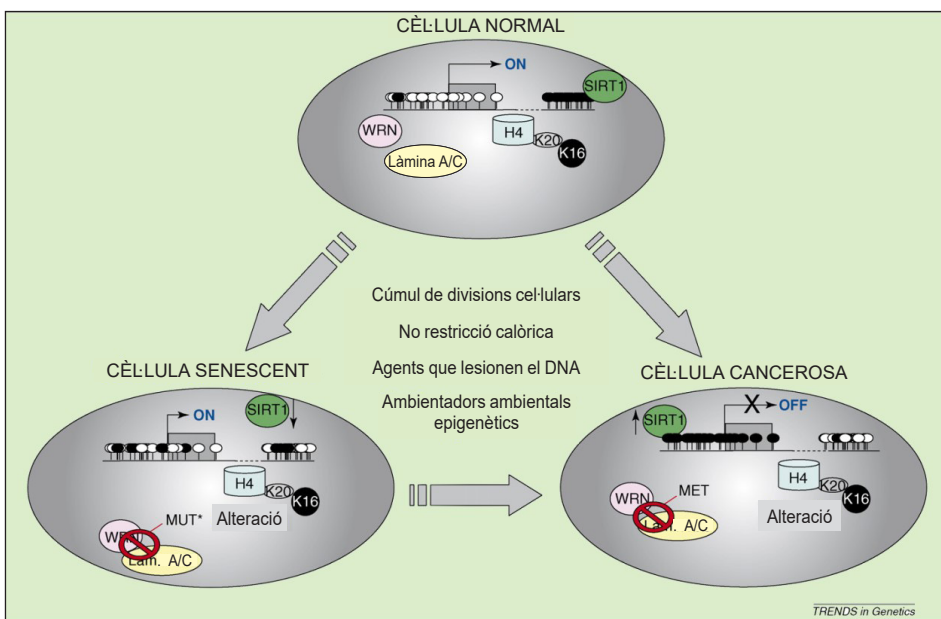


FIGURA 4. Epigenomes de cèl·lules normals, senescentes i canceroses. Els cercles blancs i negres indiquen dinucleòtids no metilats i metilats, respectivament. Les cèl·lules sanes tenen una disposició epigenètica caracteritzada per seqüències repetitives amb una metilació densa del DNA, illots CpG no metilats de gens constitutius i nivells elevats de lisina 16 monoacetilada i lisina 20 trimetilada en la histona H4. Les cèl·lules canceroses pateixen hipometilació en seqüències repetitives de DNA, hipermetilació en CpG dels gens supressors de tumors associats amb el silenciament transcripcional, reclutament de DNMT i SIRT1 en aquests *locus* i reducció de les formes lisina 16 monoacetilada i lisina 20 trimetilada en la histona H4. En les cèl·lules senescentes, hi deu haver una pèrdua progressiva de citosines metilades en les regions repetitives i la presència de llocs de 5-metilcitosines en les regions promotores acompanyats d'una disminució en l'activitat SIRT1. Gens relacionats amb l'envelliment, com *WRN* i làmina A/C, que funcionen correctament en la cèl·lula jove sana, poden convertir-se en hipermetilats i silenciats en cèl·lules canceroses o tenir mutacions en la línia germinal (MUT*) en casos de síndromes progeroides, com la de Werner (*WRN*), o la de Hutchinson-Gilford (làmina A/C) [12].

ta de filaments de l'intermediari làmina de tipus A i B. Les làmines nuclears són molt dinàmiques i se suggereix que estan implicades en el posicionament —no a l'atzar— dels dominis subcromosòmics, en l'organització total de la cromatina i, possiblement, en la regulació de l'expressió gènica. Les làmines s'agrupen en les dues subfamílies esmentades. En les de tipus A, els seus membres s'expressen en la majoria de les cèl·lules somàtiques diferenciades; i en les de tipus B, els seus membres s'expressen en quasi totes les cèl·lules i són essencials per a la viabilitat cel·lular. El gen de làmina A/C codifica les làmines A i C, dues isoformes que sorgeixen com a resultat d'un trencament de l'RNA alternatiu. Encara que les del tipus A són importants per al manteniment de l'estabilitat de les làmines nuclears, també tenen un paper central en el control de l'expressió genètica. Les mutacions del gen làmina A/C causen diverses malalties hereditàries específiques de teixits, com la síndrome de la distròfia muscular d'Emery-Dreifuss i la lipodistròfia familiar parcial de tipus Dunnigan. Cal destacar que la repressió del gen de làmina A/C en leucèmia i limfoma sovint està associada amb la metilació del seu promotor. Altres proteïnes associades a làmina, com LAP2a, s'han relacionat també amb la tumorigènesi; de tota manera, els mecanismes precisos moleculars mitjançant els quals les làmines contribueixen al càncer són encara poc clars.

La síndrome de Werner —un altre exemple d'un gen implicat directament en l'envelliment i amb propietats de supressor tumoral— és una malaltia hereditària autosòmica recessiva rara, que es caracteritza per un envelliment prematur, inestabilitat genòmica i un increment en la incidència del càncer. Aquesta patologia està causada per la pèrdua de funció del gen *WRN*, que codifica una proteïna, un membre de la família RecQ amb activitat helicasa i exonucleasa. Els trets indicatius de l'envelliment accelerat inclouen cataractes, diabetis de tipus 2, osteoporosi, diverses formes d'arterioesclerosi i hipogonadisme a una edat relativament primerenca. La proteïna WRN exerceix un paper important de moltes maneres diferents, com les mitjançades per p53, la replicació del DNA, la reparació del DNA i el metabolisme dels telòmers. S'ha suggerit que la família de proteïnes RecQ té propietats supressores de tumors, i s'ha demostrat que l'expressió de *WRN* està freqüentment reprimida en càncer humà per la hipermetilació de les illes CpG del promotor. Fins i tot és més interessant el fet que el tipus dels neoplasmes que succeeix en pacients amb la síndrome de Werner és notablement diferent d'aquells observats en individus que no patien la síndrome. Així, el quocient càncer mesenquimàtic / càncer epitelial és 1:1, mentre que en la població normal senescent és d'1:10. Per tant, sembla que el procés accelerat d'envelliment en pacients amb síndrome de Werner contribueix en la major incidència de tumors, però la pèrdua específica del gen *WRN* confereix un fenotip particular propens a tumors d'una manera similar a l'observada amb altres gens supressors familiars amb funció reparadora del DNA, com *MLH1* [12, 21].

SIRTUÏNES I LA SEVA RELACIÓ AMB L'ENVELLIMENT I EL CÀNCER

S'han descrit altres mecanismes epigenètics que estan potencialment implicats en l'envelliment i el càncer. D'aquests, mereix una atenció especial la família d'enzims epigenètics amb activitat histona acetilasa (HDAC), coneguts com a *sirtuïnes*. L'acetilació de les histones és crucial per al control de l'estructura de la cromatina i per a la regulació de l'expressió gènica. Les sirtuïnes, que comprenen la classe III de la família de les HDAC, dependents de l'NAD, es troben implicades en esdeveniments cel·lulars múltiples, entre els quals s'inclouen la remodelació de la cromatina, el silenciament transcripcional, la mitosi i el control de la longevitat. El primer membre de la família, SIR2 (regulador silent de la informació 2), va ser inicialment descrit en llevats. Els enzims SIR2 catalitzen una reacció que implica el trencament de l'NAD. La deleció de SIR2 escurça la vida del llevat, mentre que una còpia extra del gen l'allarga, la qual cosa implica que la família SIR2 té un paper destacat en l'envelliment i la longevitat. La importància de l'NAD en moltes vies metabòliques, i el fet que les sirtuïnes poden controlar l'activitat de moltes altres proteïnes que intervenen en el creixement cel·lular, sembla indicar que la família SIR2 es troba implicada en la longevitat mitjançada per la restricció calòrica [22]. S'ha suggerit que el flux de carboni en la glucòlisi i el cicle tricarbòxilic estan molt reduïts en condicions de restricció calòrica i, d'aquesta manera, SIR2 disposa de més quantitat d'NAD per exercir la seva activitat catalítica. Això demostra que les SIR2 estableixen connexió entre el ritme metabòlic i l'envelliment, mitjançant la regulació de gens que depenen de l'NAD i la remodelació de la cromatina. La longevitat aconseguida per restricció calòrica requereix SIR2 i s'acompanya d'un increment en la respiració, el qual, a la vegada, eleva l'activitat de les SIR2. Aquesta evidència ha provocat un interès considerable en aquestes proteïnes de mamífers, que comprenen set homòlegs de SIR2 de llevat: les sirtuïnes 1-7 (SIRT1-7), que tenen funcions importants en l'expressió de gens, la resposta a l'estrès, la reparació del DNA, l'apoptosi, el cicle cel·lular, l'estabilitat genòmica i la regulació de la insulina. Per tant, les sirtuïnes intervenen en el control de vies metabòliques, la regulació del creixement cel·lular i el càncer. Entre els membres d'aquesta família, SIRT1 i SIRT2 són d'interès particular perquè s'ha descrit que estan alterades en cèl·lules canceroses, que la seva expressió pot dependre de l'envelliment i que actuen sobre les cues d'histones.

La proteïna SIR1 mostra activitat desacetilasa dependent de l'NAD, similar a la de SIR2 del llevat. En mamífers, SIRT1 pot actuar sobre les histones, principalment sobre les posicions H4-K16 i H3-K9, i també sobre els factors de transcripció clau, com la proteïna supressora de tumors p53, factors de transcripció *forkhead* (FOXO), la histona p300 acetiltransferasa, el supressor tumoral p73, el factor de transcripció E2F1, la subunitat de l'antigen de 70 kDa (Ku70) del factor de repara-

ció del DNA, el factor nuclear kappa B (NF- κ B) i el receptor d'andrògens (RA). SIRT1 s'expressa àmpliament en la majoria dels teixits i s'inhibeix en cèl·lules senescentes i durant l'envelliment. SIRT1 s'activa en carcinomes de pulmó, limfomes i sarcomes de teixits de ratolí, i en el càncer de pulmó, el càncer de pròstata i la leucèmia en humans. Més important encara és que les histones diana de SIRT1 —les H4-K16 i H3-K9— estan alterades en diversos tipus de tumor. Les cèl·lules canceroses tenen un nivell més baix d'H4-K16 monoacetilada i la hipoacetilació d'H3-K9 s'associa amb un risc més alt de recurrència en càncer de pròstata. Com que SIRT1 pot desacetilar específicament aquestes posicions, la seva regulació en tumorigènesi podria contribuir a l'establiment del perfil específic de modificació d'histones en càncer. En el cas d'H4-K16 monoacetilada, SIRT1 actua com a activadora pel que fa al promotor del gen. D'aquesta manera, la influència de les alteracions de SIRT1 en l'H4-K16 acetilada global pot ser modulada. De fet, una part substancial de les histones H4-K16 monoacetilades, que es perden en cèl·lules canceroses, pot procedir de l'acetilació d'altres lisines de la cua d'histona i de l'increment de la quantitat d'isoformes H4 poliacetilades [22].

L'activació de la proteïna SIRT1 en alguns tipus de tumor i la seva relació amb la proliferació i esperança de vida suggereix que aquesta desacetilasa dependent de l'NAD pot estar directament implicada en la tumorigènesi. El potencial oncogènic de SIRT1 és el resultat del seu paper en el control de diverses molècules crucials. La relació més òbvia amb el càncer és probablement la capacitat que té de desacetilar i inactivar els gens supressors de tumors p53 i p73, encara que també s'ha implicat en altres mecanismes com la desacetilació de les histones H4-K16 localitzades dins els promotors dels gens supressors de tumors i altres factors com E2F1, Ku70, FOXO, el receptor d'andrògens i l'NF- κ B.

SILENCIAMENT EPIGENÈTIC MITJANÇANT NCRNA

Els gens que codifiquen proteïnes ocupen només el 2 % del genoma humà; l'altre 98 % s'ha considerat durant molt de temps com «DNA escombraries», fins que el projecte de l'enciclopèdia dels elements DNA (ENCODE) i el consorci funcional del genoma de mamífers (FANTOM) van fer les seves primeres publicacions. Amb aquests estudis s'han identificat, mitjançant anàlisis transcriptòmiques, un gran nombre de nous transcrits anomenats *RNA no codificants* (ncRNA), procedents de les regions del DNA considerades «escombraries». En els últims anys, l'estudi de la funció dels gens i la seva rellevància en malalties s'ha enriquit enormement amb el descobriment d'aquests minigens, que, si bé no produeixen les proteïnes amb les quals s'estructuren els organismes, generen unes petites molècules d'RNA capaces de regular la major part dels gens de les nostres cèl·lules. Aquests ncRNA són una classe abundant de petits RNA endògens, evolutivament

conservats, que regulen els RNA missatgers (mRNA) per mitjà de mecanismes com l'emparellament de bases i el silenciament gènic posttranscripcional. Amb base a la longitud d'aquests transcrits, els ncRNA s'han dividit en ncRNA petits o RNA micro (miRNA) i ncRNA grans (lncRNA).

Els miRNA, d'uns vint-i-dos nucleòtids de mida, regulen l'expressió gènica posttranscripcional, ja que afecten la degradació i traducció dels mRNA. Els miRNA tenen un paper important en el creixement cel·lular, la diferenciació, la proliferació, l'apoptosi i la polarització de neurones. Fins a un 30 % de gens humans estan probablement regulats pels miRNA i cadascun d'ells pot controlar centenars de gens. Malgrat tot, només uns pocs d'aquests gens han estat confirmats fins avui per un miRNA particular. La patogènesi de moltes malalties —com les cardíques, les autoimmunitàries o el càncer— es relaciona amb l'expressió aberrant de gens regulats potencialment per miRNA [23].

Els lncRNA són el principal tipus d'ncRNA heterogenis amb magnituds de més de dos-cents nucleòtids. Se'ls reconeix ara com a nous reguladors en múltiples processos cel·lulars: desenvolupament, diferenciació, remodelació cromosòmica, impressió genètica (*imprinting*) i control del cicle cel·lular.

S'ha demostrat que els lncRNA es troben molt regulats i són molt específics de cada teixit. A més, l'alteració dels lncRNA s'ha associat amb malalties com el càncer i malalties neurodegeneratives. Malgrat tot, la funció de la majoria dels lncRNA roman sense caracteritzar [24, 25].

Els trets de l'envelliment estan governats per mitjà de canvis en subgrups de proteïnes. Els lncRNA poden modular l'expressió del perfil de les proteïnes, controlant la transcripció genètica, l'estabilitat de l'mRNA i l'abundància de proteïnes. La influència dels lncRNA modula els esdeveniments moleculars clau implicats en l'envelliment, entre els quals s'inclouen la longitud telomèrica, l'expressió epigenètica dels gens, la proteostasi, la funció de les cèl·lules mare, la comunicació intercel·lular, la proliferació cel·lular i la senescència cel·lular. Hi ha evidències que indiquen que els lncRNA exerceixen un efecte sobre la declinació fisiològica de la vellesa i les patologies associades amb l'edat. Per tant, existeix un gran interès en el diagnòstic, pronòstic i disseny de les molècules que elevin o disminueixin el seu nivell, i esdevenen molt atractius com a dianes clíniques. De tota manera, la utilitat potencial dels lncRNA sobre les disfuncions i malalties associades a la vellesa no pot fer-se realitat avui dia [26]. En primer lloc, perquè cal conèixer més bé els lncRNA, el seu model espaciotemporal d'expressió, les molècules amb les quals interaccionen (proteïnes, DNA i RNA) i l'impacte que té alterar-ne l'abundància sobre la funció cel·lular. En segon lloc, perquè s'han de desenvolupar models animals adequats per estudiar-ne la funció en teixits, òrgans i sistemes, i avaluar com actuen sobre l'envelliment. L'avenç d'aquestes àrees proporciona un major coneixement molecular amb intervencions efectives per millorar les patologies de l'edat avançada [27].

EVOLUCIÓ EPIGENÈTICA ENTRE ENVELLIMENT I CÀNCER

La senyalització epigenètica anormal té un paper important en la tumorigènesi i, a més, els canvis epigenètics poden ser factors determinants destacats en la senescència cel·lular i l'envelliment de l'organisme. S'ha comentat anteriorment que les metilacions epigenètiques més ben conegudes són la metilació del DNA i les modificacions posttranscripcionals de les histones —com la metilació, l'acetilació, la ubiquitinació, l'ADP-ribosilació, la fosforilació, etc. Diverses alteracions epigenètiques, com la hipometilació global i la hipermetilació dels illots CpG, s'acumulen progressivament durant l'envelliment i contribueixen d'una manera directa a la transformació cel·lular. Per bé que el camp de les modificacions epigenètiques en càncer ha estat intensament estudiat, no passa el mateix amb l'envelliment. L'epigenètica de l'envelliment és una disciplina que en el moment actual es troba en estat emergent, la qual cosa fa concebre grans esperances en les revelacions futures, que han de presentar un interès enorme i ser de gran utilitat per la seva gran repercussió en els àmbits patològic i social [28, 29]. Interessa saber la significació biològica de les alteracions epigenètiques en termes de les seves contribucions relatives al desenvolupament ontogènic, la senescència i la proliferació cel·lular. També és interessant conèixer quines alteracions epigenètiques s'acumulen per efecte de la vellesa i tenen un paper directe en la transformació cel·lular, i quines modificacions epigenètiques mostren una evolució clara durant l'envelliment, que tenen un sentit contrari en càncer [30]. L'exemple més ben conegut del primer cas és la pèrdua global de metilació del DNA en l'envelliment i en el càncer, i la hipermetilació del promotor de gens amb un doble paper en la supressió tumoral i en la progèria, com *WRN* i *LNMA*. Un dels exemples més estudiats del segon cas és probablement la longitud telomèrica, que pot ser controlada per modificacions epigenètiques i decreix amb l'edat, però s'eleva ràpidament després de la transformació [31]. Recentment s'ha descrit que l'activitat de diversos membres de la família de les sirtuïnes —que actuen sobre les histones— disminueix l'envelliment, mentre que s'eleva en cèl·lules canceroses. S'ha proposat que les sirtuïnes estableixen una relació entre la restricció de la dieta i la longevitat, considerant el paper específic de diversos membres d'aquesta família en la tumorigènesi, per la qual cosa sorgeix la possibilitat que les sirtuïnes estableixin també connexió entre la dieta i el càncer [28].

FÀRMACS EPIGENÈTICS

Entre les dianes terapèutiques epigenètiques, les metiltransferases de DNA i les desacetilases de les histones són en l'actualitat les més estudiades pel que fa a nous fàrmacs. Els perfils de metilació del DNA són relativament malleables i

l'exploració de marques epigenètiques és avui un mitjà útil de detecció primerenca i diagnòstic. Com que les alteracions en les modificacions epigenètiques són reversibles, els fàrmacs epigenètics que reverteixen la metilació aberrant del DNA —inhibint l'activitat de les DNMT o la dels enzims que modifiquen les histones, específicament les HDAC— ja són quimioteràpies aprovades per a algunes classes de càncer. L'epigenoma pot ser també modulats per la dieta, de manera que la prevenció és un camp emergent d'investigació en les malalties associades a l'edat. Per exemple, les modificacions epigenètiques responsables de la malaltia d'Alzheimer (MA), en els gens implicats en la memòria i l'aprenentatge, s'ha demostrat que estan hipometilades en aquesta malaltia. Per tant, s'ha postulat que el suplement dietètic amb agents donants de metil, com l'àcid fòlic (precursor de la SAM), pot ajudar a restaurar la capacitat cognitiva que declina amb l'edat [32]. També s'ha demostrat que els inhibidors de l'HDAC posseeixen rellevància clínica potencial en l'MA; així, l'àcid valproic redueix la producció del β -amiloid i alleugereix els dèficits de comportament en models murins d'MA (figura 6). Com que els fàrmacs que reverteixen les modificacions epigenètiques anòmales no són específics, s'ha de mirar de trobar l'especificitat per millorar la terapèutica epigenètica. També s'ha de considerar que un epigenoma individual pot ser modulats amb dietes sanes i un estil de vida saludable, que redueixen el risc de malaltia i les xacres pròpies de la vellesa [33]. Components fitoquímics com el resveratrol (activador de les sirtuïnes) i la curcumina (poderós antioxidant) estan sent considerats i recomanats pels efectes que tenen sobre l'envelliment i la qualitat de vida.

En l'actualitat, les dianes més avançades en aquest camp són les DNMT i les HDAC per a les quals hi ha fàrmacs aprovats per les agències reguladores i s'estan utilitzant clínicament. A més a més, diversos inhibidors de l'HDAC i de la DNMT es troben avui en dia en assaigs clínics que inclouen teràpies combinades. Les dianes restants —histona-acetiltransferasa (HAT), histona-metiltransferasa (HMT) i histona-desmetilasa (HD)— es troben en estadis menys avançats, que van des dels desenvolupaments preclínics a les fases clíniques. S'ha de destacar que aquests inhibidors s'estan estudiant en malalties associades a l'envelliment; en conseqüència, és possible que en els propers anys l'ús de fàrmacs epigenètics s'estengui a diversos àmbits de la biomedicina [34]. Es poden veure representacions dels diferents fàrmacs epigenètics en les figures 5 i 6.

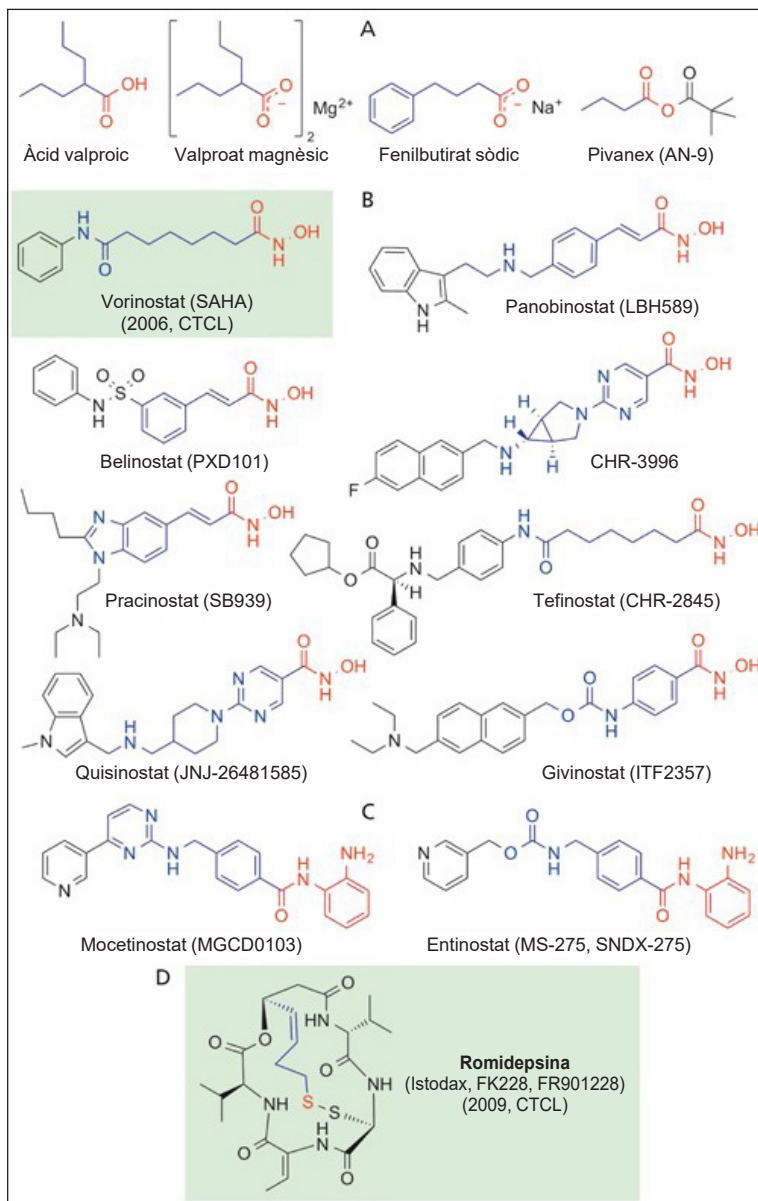


FIGURA 5. Inhibidors d'HDAC I, II i IV que es troben en ús clínic (emmarcats en verd, amb la data d'aprovació i l'ús) o en assaigs clínics. Els grups de tancament, els grups quelants (A: carboxil o carboxilat; B: hidroxamat o àcid hidroxàmic; C: benzamida, i D: tiol o sulfur) i els braços separadors entre ambdós estan marcats en negre, vermell i blau, respectivament [34].

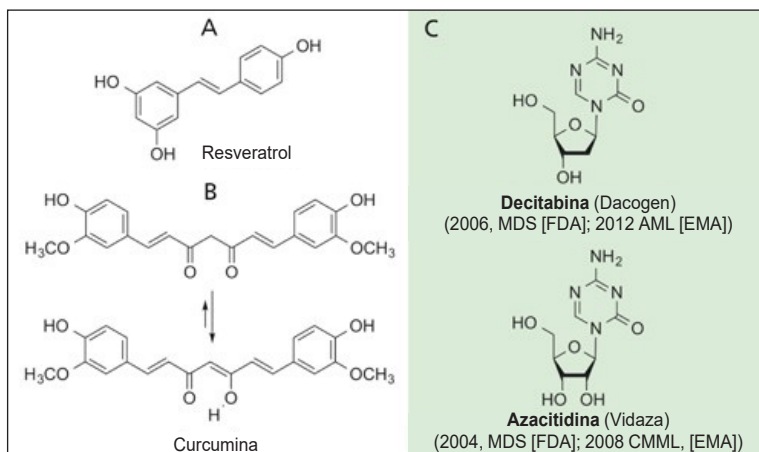


FIGURA 6. A: activadors de la SIRT1, B: inhibidors de l'HAT, C: inhibidors de la DNMT, que es troben en ús clínic (emmarcats en verd amb la data d'aprovació i l'ús) o en assaigs clínics [34].

És un fet reconegut que les vies biològiques implicades en les malalties associades a la vellesa tenen algun component de desregulació epigenètica. De tota manera, encara romanen sense resoldre moltes preguntes: els mecanismes precisos que governen aquests processos, l'efecte de l'envelliment i les interaccions entre el medi ambient individual, l'epigenoma i el genoma.

QÜESTIONS PENDENTS I DIRECCIONS FUTURES

Aparentment, l'estructura de la cromatina canvia amb l'edat en organismes tan diversos com el llevat i els mamífers. Tanmateix, amb l'excepció de SIR2 en llevats, la intensitat a la qual això té impacte en el procés d'envelliment no ha estat encara definida. Per bé que ens trobem a l'inici de les investigacions en aquest camp, es pot proposar que algunes alteracions epigenètiques associades a l'edat en mamífers, com la formació de SAHF, poden influir sobre la longevitat pel fet de suprimir les malalties associades a l'envelliment. S'ha suggerit que un component estocàstic no regulat, derivat dels canvis en l'estructura de la cromatina, pot conduir al deteriorament gradual en la funció de cèl·lules i teixits. Per analogia amb les alteracions genètiques (dany al DNA), l'acumulació dels canvis epigenètics pot considerar-se com «dany a la cromatina». En resum, és probable que els efectes de la cromatina sobre l'envelliment siguin complexos i bidireccionals. Un requisit per conèixer la contribució de l'epigenètica a l'envelliment és comprendre millor els fenotips senescents específics, com l'osteoporosi, la sarcopè-

nia, la disminució de la funció immunitària, l'alopecia, el càncer i molts d'altres. Aleshores serà possible analitzar la contribució a cada fenotip dels candidats epigenètics determinants, com la hipometilació global, la hipermetilació dels illots CpG i l'aparició de SAHF. Fins que això no arribi, es pot començar a aplicar ja el coneixement adquirit. Per exemple, es poden utilitzar les alteracions epigenètiques com a mitjà de detecció primerenca i estratificació del risc de malalties associades a l'envelliment. Existeix ja un interès considerable en el desenvolupament de mètodes per a la detecció precoç del càncer, basats en la hipermetilació de les illes CpG del promotor de gens supressors de tumors, en un nombre molt petit de cèl·lules canceroses trobades en sang o altres fluids accessibles de l'organisme. De tota manera, la hipermetilació de CpG és un esdeveniment freqüent preneoplàstic associat a l'edat; ha de ser possible ampliar aquesta tecnologia al risc de càncer, amb base a la hipermetilació en teixits preneoplàstics. Igualment, també pot ser possible utilitzar els canvis epigenètics de l'edat en cèl·lules cardíques o immunitàries per a la valoració del risc o la detecció precoç de malaltia cardiovascular o pèrdua de funció immunitària. La fita última de la investigació sobre l'envelliment és retardar o paliar les malalties o xacres de l'edat, allargant la vida de manera saludable. Per als aspectes epigenètics de l'envelliment, això pot ser un assoliment accessible perquè en principi les alteracions epigenètiques són més reversibles que les alteracions genètiques. No només poden utilitzar-se en la valoració del risc i en la detecció precoç del càncer, sinó que també poden ser una estratègia quimiopreventiva del mateix càncer. És un fet demostrat que l'addició d'un activador de la SIRT1, el *resveratrol*, a la dieta de ratolins alimentats amb dieta rica en greixos, allarga la vida saludable d'aquests ratolins, simulant la contribució ben establerta de la restricció calòrica de la dieta a la longevitat. Encara que hi ha molts aspectes per resoldre, aquests estudis demostren que existeix en l'actualitat un gran interès a aprofundir en aquests temes i en un potencial d'estratègies quimiopreventives per combatre les xacres de l'envelliment i el desenvolupament del càncer. La modificació epigenòmica per mitjà d'estímuls ambientals afecta la transcripció i l'estabilitat genòmica amb conseqüències importants en la longevitat i estableix a grans trets diferències epigenètiques entre el soma mortal i la línia germinal immortal.

CONCLUSIONS

L'epigenètica exerceix un paper important en la determinació de les diferències fenotípiques en la vellesa. Una vegada es coneixen els canvis en la metilació del DNA i les modificacions de les histones al llarg de l'edat, és raonable esperar que aquests descobriments tinguin repercussió clínica i es dissenyin fàrmacs que evitin o disminueixin les xacres pròpies de l'edat, com la malaltia mental, la diabe-

tis i el desenvolupament d'alguns tipus de càncer. El coneixement de la naturalesa de les modificacions epigenètiques en la vellesa ens proporcionarà noves estratègies per contrarestar-ne l'impacte en les malalties associades a l'edat. De tota manera, això no serà tan fàcil perquè alguns canvis epigenètics que tenen lloc en la vellesa no poden explicar-se només pels factors ambientals. Existeix també un component estocàstic en la variabilitat fenotípica. Cal establir, d'una banda, els mecanismes moleculars mitjançant els quals exposicions ambientals particulars indueixen canvis epigenètics específics, i, de l'altra, la proporció en què la variabilitat fenotípica hereditària associada amb la vellesa pot ser adscrita als factors epigenètics. El coneixement que tenim de la variació epigenètica i l'herència està encara en una etapa primerenca, però estudis posteriors han de proporcionar sens dubte informació important en un futur proper.

BIBLIOGRAFIA

- [1] WADDINGTON, C. H. (1942). «Canalization of development and the inheritance of acquired characters». *Nature*, 150, p. 563-564.
- [2] GOLDBERG, A. D.; ALLIS, A. D.; BERNSTEIN, E. (2007). «Epigenetics: a landscape takes shape». *Cell*, 128, p. 635-638.
- [3] SLACK, J. M. W. (2002). «Conrad Hal Waddington: the last Renaissance biologist?». *Nature Reviews Genetics*, 3, p. 889-895.
- [4] NOBLE, D. (2015). «Conrad Waddington and the origin of epigenetics». *Journal of Experimental Biology*, 218, p. 816-818.
- [5] LÓPEZ-OTÍN, C.; BLASCO, M. A.; PARTRIDGE, L.; SERRANO, M.; KROEMER, G. (2013). «The hallmarks of aging». *Cell*, 153, p. 1194-1217.
- [6] KOUZARIDES, T. (2007). «Chromatin modifications and their function». *Cell*, 128, p. 693-705.
- [7] SEDIVY, J. M.; BANUMATHY, G.; ADAMS, P. D. (2008). «Aging by epigenetics—a consequence of cromatin damage?». *Experimental Cell Research*, 314, p. 1909-1917.
- [8] COLLADO, M.; BLASCO, M. A.; SERRANO, M. (2007). «Cellular senescence in cancer and aging». *Cell*, 130, p. 223-233.
- [9] BLASCO, M. A. (2005). «Mice with bad ends: mouse models for the study of telomeres and telomerase in cancer and aging». *The EMBO Journal*, 24, p. 1095-1103.
- [10] ESTELLER, M. (2002). «CpG island hypermethylation and tumor suppressor genes: a booming present, a brighter future». *Oncogene*, 21, p. 5427-5440.
- [11] LARA, E.; CALVANESE, V.; FRAGA, M. F. (2010). «Epigenetic drift and aging». A: TOLLEFSBOL, T. O. (ed.). *Epigenetics of aging*. Nova York: Springer Sciences, p. 258-273.
- [12] FRAGA, M. F.; ESTELLER, M. (2007). «Epigenetics and aging: the targets and the marks». *Trends in Genetics*, 38, p. 413-418.
- [13] WILSON, R. S. (1978). «Synchronies in mental development: an epigenetic perspective». *Science*, 202, p. 939-948.
- [14] MACHIN, G. A. (1996). «Some causes of genotypic and phenotypic discordance in monozygotic twin pairs». *American Journal of Medical Genetics*, 61, p. 216-228.

- [15] FRAGA, M. F.; BALLESTAR, E.; PAZ, M. F.; ROPERO, S.; SETIEN, F.; BALLESTAR, M. L.; HEINE-SUÑER, D.; CIGUDOSA, J. C.; URIOSTE, M.; BENÍTEZ, J.; BOIX-CHORNET, M.; SÁNCHEZ-AGUILERA, A.; LING, C.; CARLSSON, E.; POULSEN, P.; VAAG, A.; STEPHAN, Z.; SPECTOR, T. D.; WU, Y.-Z.; PLASS, C.; ESTELLER, M. (2005). «Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, p. 10604-10609.
- [16] PETRONIS, A. (2006). «Epigenetics and twins: three variations on the theme». *Trends in Genetics*, 22, p. 347-350.
- [17] POULSEN, P.; ESTELLER, M.; VAAG, A.; FRAGA, M. F. (2007). «The epigenetic basis of twin discordance in age related diseases». *Pediatric Research*, 61, p. 38R-42R.
- [18] GÄRTNER, K. (1990). «A third component causing random variability beside environment and genotype. A reason for the limited success of a 30 year long effort to standardize laboratory animals?». *Laboratory Animals*, 24, p. 71.
- [19] DOLL, R. (1962). «Susceptibility to carcinogenesis at different ages». *Gerontologia Clinica*, 4, p. 211-221.
- [20] CAMPISI, J. (2003). «Cancer and ageing: rival demons?». *Nature Reviews Cancer*, 3, p. 339-349.
- [21] WILSON, V. L.; JONES, P. A. (1983). «DNA methylation decreases in aging but not in immortal cells». *Science*, 220, p. 1055-1057.
- [22] AGRELO, R.; CHENG, W.-H.; SETIEN, F.; ROPERO, S.; ESPADA, J.; FRAGA, M. F.; HERRANZ, M.; PAZ, M. F.; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, M.; ARTIGA, M. J.; GUERRERO, D.; CASTELLS, A.; KOBBE, C. von; BOHR, V. A.; ESTELLER, M. (2006). «Epigenetic inactivation of the premature aging Werner syndrome gene in human cancer». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, p. 8822-8827.
- [23] MOSTOSLAVSKY, R.; ESTELLER, M.; VAQUERO, A. (2010). «At the crossroad of lifespan, calorie restriction, chromatin and disease: meeting of sirtuins». *Cell Cycle*, 9, p. 1907-1912.
- [24] PAL, S.; TYLER, J. K. (2016). «Epigenetics and aging». *Science Advances*, 2, p. e1600584.
- [25] LIZ, J.; ESTELLER, M. (2016). «lncRNAs and microRNAs with a role in cancer development». *Biochimica et Biophysica Acta*, 1859, p. 169-176.
- [26] HAMMOND, S. M. (2007). «MicroRNAs as tumor suppressors». *Nature Genetics*, 39, p. 582-584.
- [27] GRAMMATIKAKIS, I.; PANDA, A. C.; ABDELMOHSEN, K.; GOROSPE, M. (2014). «Long noncoding RNAs (lncRNAs) and the molecular hallmarks of aging». *Ageing*, 6, p. 992-1009.
- [28] DEGIRMENCI, U.; LEI, S. (2017). «Role of lncRNAs in cellular aging». *Frontiers in Endocrinology*, 7, p. 151.
- [29] FRAGA, M. F.; AGRELO, R.; ESTELLER, M. (2007). «Cross-talk between aging and cancer: the epigenetic language». *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1100, p. 60-74.
- [30] JONES, P. A.; BAYLIN, S. B. (2002). «The fundamental role of epigenetic events in cancer». *Nature Reviews Genetics*, 3, p. 415-428.
- [31] ESTELLER, M. (2007). «Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethylation». *Human Molecular Genetics*, 16, p. R50-R59.

- [32] BERNARDES DE JESÚS, B.; BLASCO, M. A. (2013). «Telomerase at the intersection of cancer and aging». *Trends in Genetics*, 29, p. 513-520.
- [33] FEIL, R. (2006). «Environmental and nutritional effects on the epigenetic regulation of genes». *Mutation Research*, 600, p. 46-57.
- [34] COSSIO, F. P. (2017). «Fármacos epigenéticos». *Revista Epigenética de la SEBBM*, 191.

