

## Genes del cromosoma 21

**Jesús Flórez**

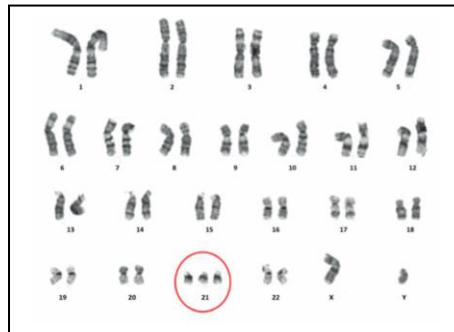
Fundación Síndrome de Down de Cantabria  
Fundación Iberoamericana Down21

### Sumario

1. Más allá de la hipótesis de la dosis génica
  2. La transcripción del ADN y sus productos. Los factores de transcripción
  3. A nivel de cromosoma
  4. Volvamos ahora al síndrome de Down
  5. Factores epigenéticos
- Bibliografía

### 1. Más allá de la hipótesis de la dosis génica

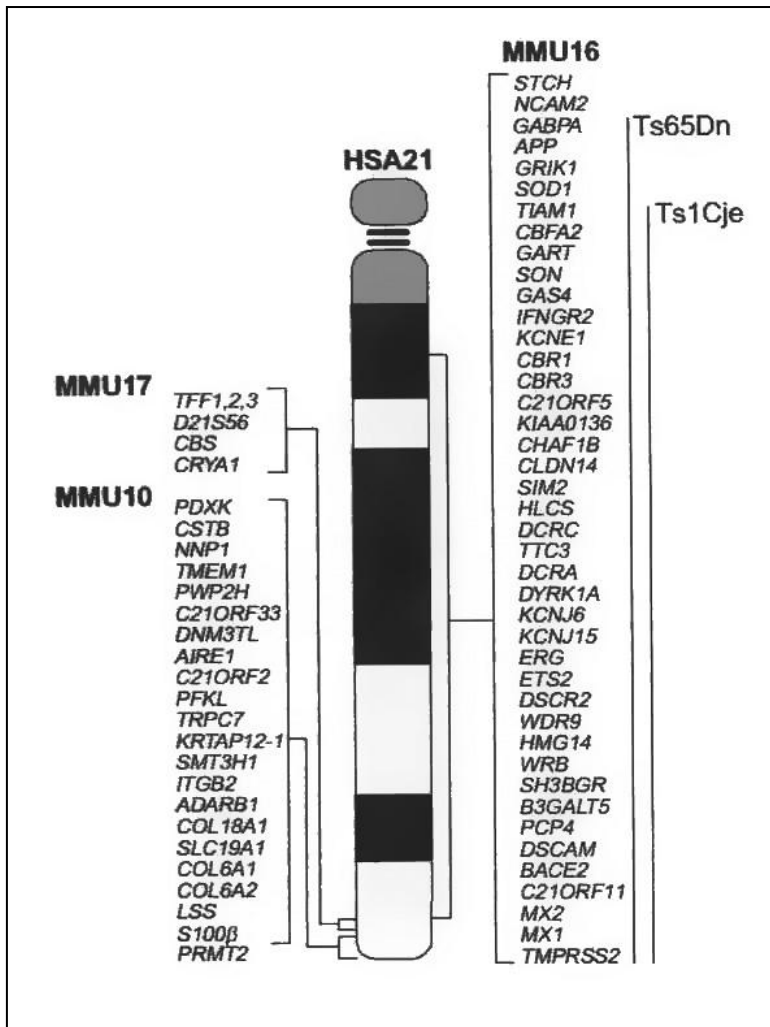
Que el síndrome de Down con toda su rica expresión fenotípica es consecuencia de la presencia de un tercer cromosoma 21, el cromosoma extra, en las células del organismo humano, es un hecho plenamente aceptado; por eso recibe el nombre de **trisomía 21**.



Parece que hay segmentos del cromosoma que contribuyen en mayor o menor grado a la presencia de determinados rasgos. Pero una realidad contrastada es que el 95% de los individuos con síndrome de Down poseen los tres cromosomas completos (trisomía simple), por lo que cabría pensar que la base constitutiva o generadora del síndrome es idéntica para la mayoría de estas personas.

En los últimos años, nuestra visión de los mecanismos biológicos que forman el sustrato del síndrome de Down ha evolucionado de forma radical. Sin duda, el primer elemento a considerar sigue siendo la existencia de un cromosoma extra 21, lo que significa que hay 1,5 veces más de material cromosómico. Pero el material cromosómico no es homogéneo: contiene: a) piezas de ADN, los genes, parte de los cuales codifican proteínas pero otros no lo hacen; b) piezas de ARN, capaces de influir positiva o negativamente sobre la codificación de proteínas; y c) cromatina de naturaleza proteica que también va a influir poderosamente sobre la actividad de los genes. Por eso hemos superado la idea simplista de que todo se debía a un exceso de producción de proteínas como consecuencia del exceso de genes (ADN) codificadores de proteínas: los llamados genes dosis-sensibles. Sabemos ahora que el desarrollo y función de los diversos órganos (incluido el cerebro y la cognición) en este trastorno se encuentran alterados no sólo por la sobreexpresión de algunos genes específicos sensibles a la dosis sino también por la desregulación de elementos genéticos no codificadores, por la expresión anormal de genes que, incluso, no pertenecen al cromosoma 21, y por un conjunto de influencias epigenéticas (Vilardell et al., 2011).

El cromosoma 21 humano (HSA21) tiene ~48 Mb, lo que lo convierte en el cromosoma humano más pequeño: supone el ~1,5% del genoma humano.



#### Algunos de los genes presentes en el cromosoma 21 humano y sus correspondencias en los cromosomas 16, 17 y 10 del ratón

El brazo largo de este cromosoma (21q) fue secuenciado completamente hace más de una década (Hattori et al., 2000), y los estudios más recientes muestran que contiene 696 genes, incluyendo no menos de 235 genes codificadores de proteínas y 142 pseudogenes (Sturgeon et al., 2012).

Se barajan generalmente dos hipótesis para explicar cómo la trisomía 21 provoca el síndrome de Down. Ambas se basan en la aceptación de que si un gen está presente en tres copias en lugar de dos, habrá un incremento de la expresión (sobreexpresión) de ese gen de alrededor del 50%.

a) La hipótesis **efecto por dosis génica** postula que la sobreexpresión de ciertos genes trisómicos específicos y sensibles a la dosis de gen (genes dosis-sensibles) en el cromosoma 21 humano (HSA21), y de sus correspondientes proteínas, es lo que origina de forma directa los rasgos específicos del síndrome de Down (Pritchard y Kola, 1999). Pero debe tenerse en cuenta que el efecto de la sobreexpresión de un gen y, por supuesto, el nivel de dicha sobreexpresión, puede variar en función del fondo genético. Y así, el efecto potencialmente perjudicial derivado del aumento de dosis de un gen puede verse mitigado mediante la regulación específica de un gen a nivel de transcripción o post-transcripción, o mediante

interacciones con el resto de los genes de la región trisómica, o mediante mecanismos de retroalimentación o neutralización en las redes de expresión, en las que intervienen genes que se encuentran en cromosomas distintos del HSA21. Es importante considerar que los cambios provocados por la trisomía en los niveles de proteínas codificadas por HSA21 que poseen funciones reguladoras principales (master), como son las de transcripción y corte/empalme de mRNA (v. Dierssen, 2012), pueden ejercer efectos muy extensos mediante la promoción o inhibición de la transcripción y corte/empalme de genes que pueden ser ajenos al HSA21 (no-HSA21).

La realidad es que cuando se estudia la expresión de genes del HSA21, los resultados pueden ser sorprendentes. Por ejemplo, en un estudio realizado en células linfoblastoides de una persona con síndrome de Down se observó que sólo el 22% de los genes analizados tenían niveles de expresión próximos al esperado 1,5 veces superior a la expresión de células control; el 7% de los genes mostró expresión muy aumentada (>1,5), el 56% tenían una expresión inferior a 1,5; y el 15% mostró una expresión muy variable (Ait Yahya-Graison et al., 2007). Así, pues, ciertos genes son más dosis-sensibles que otros.

Pero, además, en el síndrome de Down se encuentran alterados los niveles de expresión de genes que no se encuentran en el HSA21. Era de esperar, porque entre los genes codificadores de proteínas en el HSA21 se encuentran 20 factores de transcripción/moduladores, 10 proteínas implicadas en el procesamiento y/o modificación de RNA mensajeros, tRNA y RNA ribosomal; 9 proteínas que funcionan directa e indirectamente en la fosforilación, metilación y sumoilación; y 16 proteasas, inhibidores de proteasas y proteínas que regulan la degradación por la vía de la ubiquitina. La sobreexpresión de genes en cada una de estas clases lógicamente han de afectar a los niveles de expresión y/o a la actividad de muchos genes que no están en el HSA21. Y, además, puesto que los niveles de proteínas HSA21 varían con el tiempo y el sitio u órgano, las perturbaciones en la expresión y en la actividad de sus dianas no-HSA21 también variarán según el tejido y etapa del desarrollo.

b) En contraste con la hipótesis dosis-génica, la hipótesis de la **amplificación de la inestabilidad en el desarrollo** (Shapiro, 1975) propone que el desequilibrio de dosis del HSA21 provoca una perturbación inespecífica de la homeostasis celular. De este modo, el tamaño de la región cromosómica triplicada guardaría correlación con el grado de disfunción cognitiva (Shapiro, 2001). Sin embargo, algunos pacientes con trisomía completa muestran rasgos fenotípicos muy ligeros, lo que contradice esta hipótesis (Korbel et al., 2009). En cambio, resultados recientes obtenidos en ratones ofrecen argumentos iniciales que apoyan la hipótesis de que no son genes específicos sino dominios completos de cromosomas 'sensibles a la dosis' (Yu et al., 2010), incluidos genes y elementos no génicos (Korbel et al., 2009; Lyle et al., 2009), los que determinan el fenotipo inicial.

En resumen, aunque poderosos argumentos indican que el desequilibrio de dosis referido a genes individuales específicos del HSA21 contribuye directamente a conformar algunos fenotipos vinculados al síndrome de Down, se necesitan mecanismos adicionales, más globales, para explicar plenamente la complejidad de manifestaciones de este síndrome. Entre estos mecanismos globales se pueden encontrar alteraciones en el número de copias de elementos genómicos funcionales, no-tradicionales. Por ejemplo, hay sobreexpresión de microARNs (mRNAs) derivados del HSA21 en muestras de cerebro y corazón del síndrome de Down (Khun et al., 2008), lo que provoca una represión inadecuada de específicas proteínas diana que van asociadas a fenotipos específicos. Por último, aunque no menos importante, los mecanismos epigenéticos pueden también provocar cambios estables en la función cerebral del síndrome de Down. Concretamente, la metilación del ADN, de la que sabemos que ejerce un papel en el control de la expresión de los genes, se encuentra alterada en muestras sanguíneas del síndrome de Down (Loudin et al., 2011). Además, algunos datos sugieren que fenotipos específicos vinculados con el síndrome de Down podrían ser explicados por una modificación de la arquitectura de la cromatina dentro del núcleo.

Vislumbramos, pues, una nueva hipótesis acerca de la inestabilidad del genoma en la que el efecto adicional de múltiples genes HSA21 y no-HSA21, que se ven afectados por el desequilibrio de dosis, se combina con: a) cambios en la regulación funcional ejercida por los mARNs u otros elementos reguladores no codificantes, y b) la modulación de los factores epigenéticos.

Hay que reconocer que determinados fenotipos son específicos del síndrome de Down y no de cualquier otra aneuploidía. Cualquier persona suficientemente experimentada es capaz de diagnosticar el síndrome de Down en el mismo momento del nacimiento o poco después. De hecho, son muy pocos los fallos diagnósticos que han de ser corregidos por el examen del cariotipo. Esto significa que hay un conjunto de rasgos, derivados de una serie de elementos estructurales y funcionales, que han sido modificados durante el desarrollo fetal de una manera específica y constante por la existencia de la tercera copia del cromosoma 21 y que aparecen en todas las personas con síndrome de Down. Ciertamente, esos rasgos generales, junto con la discapacidad intelectual y un cierto fenotipo conductual son unas constantes del síndrome de Down; pero no menos cierto es que su intensidad varía ampliamente de un individuo a otro. Y más aún, existen ciertos rasgos clínicos, algunos graves, que si bien se encuentran claramente asociados al síndrome de Down, sólo se aprecian en un porcentaje mayor o menor de casos (por ejemplo, la cardiopatía congénita, el colon agangliónico, el hipotiroidismo, la leucemia). Además, la intensidad con que se muestran estos defectos es variable, como es el caso de la discapacidad intelectual cuyo grado de alteración varía ampliamente entre los distintos individuos con síndrome de Down. Es evidente, por tanto, que la homogeneidad del cariotipo (tres cromosomas 21 completos) se contrapone a, y se expresa en, una marcada heterogeneidad del fenotipo y de la gravedad o intensidad de las alteraciones.

Las funciones de los genes son variadísimas. Si la función de un gen es codificar una proteína, es decir, promover la síntesis o producción de una proteína, el exceso de gen provocará un exceso de proteína; y ello puede ser desequilibrante para la función que debía cumplir esa proteína. Si, por el contrario, la función de un gen es bloquear la síntesis de una proteína, su excesiva acción provocará también desequilibrio, en este caso por defecto. Por consiguiente, en el caso de la trisomía del cromosoma 21 veremos un abanico de resultados: exceso de unos productos celulares y carencia de otros; unos y otros dependen, en definitiva, del nivel de expresión de los genes en el cromosoma 21.

Para tratar de entender la realidad de la variabilidad fenotípica, es preciso explicar cómo se expresa un gen y la compleja regulación a la que dicha expresión está sometida. Ello nos servirá para vislumbrar las causas de la variabilidad fenotípica en el síndrome de Down, y para comprender un poco mejor la realidad individual y constitutiva de ese ser humano que es la persona con síndrome de Down.

## 2. La transcripción del ADN y sus productos. Los factores de transcripción

Los genes con capacidad codificadora producen proteínas mediante la acción intermedia de los ARN mensajeros (ARNm). Las proteínas son productos que llevan a cabo la mayoría de las funciones de la célula y de los organismos. Ahora bien, ¿cómo explicar la complejidad de la biología humana con un número de genes no mucho mayor al de, por ejemplo, la mosca de la fruta?

En términos simples, un gen codificador está conformado por una cadena de ADN que promueve la formación de sus ARNm en un proceso llamado **transcripción** que tiene lugar en el núcleo de la célula; el ARNm sale al citoplasma celular y promueve la incorporación secuencial de aminoácidos específicos, como eslabones que se ensartan para conformar la cadena que denominamos **proteína**. Eso es lo que simplificadaamente se manifiesta con la expresión: "un gen, una proteína", según el flujo <ADN → ARNm → proteína>; demasiado simplificadaamente como enseguida.

La primera objeción que se nos puede ocurrir es que si una especie está caracterizada por sus genes, todos los miembros de una especie deberían ser idénticos. Y no lo son. Lo son en lo sustancial que sirve para identificar la especie, pero no en sus características individuales que difieren notablemente. No hay dos seres humanos idénticos. Y más todavía: si todas las células del organismo poseen los mismos genes, sus resultantes deberían ser idénticos, todas las células iguales. Pero tampoco lo son: cada célula se especializa en función del órgano en que se ubica y de acuerdo con el cometido que ha de realizar. Por lo cual hemos de deducir que, a partir de un acervo común que es la dotación génica de cada célula, idéntico en todas ellas, esta dotación dispone de mecanismos diversos que hacen que se pueda expresar de forma diferenciada en cada célula y en cada individuo. Es decir, si bien el código genético y los sistemas para su descodificación son básicamente universales, existen complejos fenómenos de regulación diferencial que constituyen la base por la que cada individuo responde diferenciadamente al entorno, y por la que cada célula viva se identifica.

Se calcula que cada célula utiliza sólo el 10% de sus genes; o sea, se puede tener un gen y no utilizarlo, permanece en silencio. Del mismo modo, cada individuo expresa parte de sus genes de forma distinta, desde el silencio más absoluto hasta la formación de productos diferenciados. Con lo cual, lo que estamos afirmando es que ese proceso anteriormente propuesto como base de la biología <ADN → ARNm → proteína> es un proceso influenciado, maleable, polifacético. No es un proceso rígido e impenetrable sino ampliamente variable sobre el que diversas fuerzas o estímulos van a incidir y regular la dirección en que se mueva. Eso explica la diversidad.

Esta regulación de la expresión de una proteína, que da origen a la variabilidad individual, puede tener lugar en diferentes fases: antes de la transcripción, durante la transcripción y después de la transcripción. Los niveles de expresión finales de una proteína dependen de la eficiencia con que la regulación funcione en cada una de esas fases.

En definitiva, pues, tenemos un gen cuya constitución conocemos; pero hemos de averiguar cuáles son su o sus ARNm, porque una pieza de ADN —el gen— puede originar distintos ARNm cuyo conjunto es denominado **transcriptoma**. Como ya se ha dicho, el ARNm es una molécula producida por la enzima ARN polimerasa II a partir del ADN, en el proceso de transcripción. La larga molécula de ADN de cada gen contiene segmentos que codifican proteína, llamados exones, intercalados por segmentos sin información, llamados intrones. Para la generación de proteínas, las regiones sin información o intrones son eliminadas del ARNm en un proceso de *corte y empalme* o *splicing*, que tiene lugar en el núcleo de las células. Muchas veces, también exones enteros son "excluidos" del ARNm. Cuando sucede este fenómeno, llamado *splicing alternativo*, la información codificada para la generación de la proteína cambia, dando lugar a una nueva proteína. Ahora bien, el *splicing* alternativo puede suceder en varias partes de una molécula de ARNm, multiplicando así el repertorio de proteínas fabricadas por la célula a partir de un único gen. Esto significa que un gen puede, en último término, generar no una sola proteína sino varias proteínas. Por tanto, el *splicing* alternativo es el principal mecanismo que genera diversidad proteica en los mamíferos, lo cual explica su complejidad en comparación con los invertebrados, a pesar de que su número de genes no es muy diferente.

Por otra parte, el inicio del proceso de expresión génica o transcripción, que hace que un gen comience a actuar, es un proceso complejo en el que participan muchas unidades proteicas que, adecuadamente ensambladas entre sí y de ellas con el gen, le dan la señal para que inicie su actividad. Esto significa que un gen aislado no es nada si a su lado no se encuentran unas proteínas o factores que, bien ensamblados, son los que le empujan a actuar. Lo que, a su vez, significa que, si falta alguno de estos factores, o están en una proporción inadecuada, o ha sido modificado por alguna razón, la acción del gen puede verse entorpecida. En definitiva, el proceso por el que el gen genera un ARNm es el primer paso de importancia trascendental que se encuentra delicadamente regulado o modulado por fuerzas que operan sobre él, unas veces positivamente (estimulan o hacen que el gen se exprese) y otras negativamente (inhiben o dificultan que el gen se exprese). Entre estas fuerzas, que en definitiva son proteínas, se encuentran los denominados **factores de transcripción**.

Un factor de transcripción es una proteína que participa en la iniciación de la transcripción del ADN, pero que no forma parte de la ARN polimerasa. Los factores de transcripción actúan

reconociendo sitios en el ADN o en otro factor, o en la ARN polimerasa, y pueden ser activados o desactivados selectivamente por otras proteínas, promotoras o represoras, a menudo como paso final de la cadena de transmisión de señales intracelulares. El ADN de los promotores ha de ser un lugar de unión principal de varios factores de transcripción, cerca del sitio de iniciación de la transcripción.

Los factores de transcripción son necesarios para iniciar la síntesis de ARN en todos los promotores. Algunos reconocen promotores de genes expresados constitutivamente, mientras otros reconocen promotores de genes que son específicos del tejido en que se encuentra la célula. La transcripción constituye, pues, un proceso clave que está sometido a la influencia de un considerable número de factores que actúan sobre él: la acción armoniosa de todos estos factores permite que el gen funcione en el modo que debe hacerlo, o que, por el contrario, falle en su acción y origine una consecuencia anómala: una falta de función, un exceso de función, una distorsión de la función.

Los ARNm formados en la transcripción originan las proteínas: es el proceso de **traducción**. De nuevo, es un proceso altamente influenciado por diversos factores que lo regulan. Y también ahí pueden actuar factores positivos y negativos. La proteína recién formada es después transferida o trasladada al sitio en donde ha de actuar. Pero las proteínas formadas como concatenación de aminoácidos suelen ser después transformadas merced a la adquisición o adosamiento de diversos grupos químicos: hidratos de carbono (glicosilación), grupos fosfato (fosforilación) ubiquitina (ubiquitinación), otras pequeñas proteínas (salmoilación), etc. Estas modificaciones sufridas por las proteínas en su estructura no son neutras: hacen que la función de la proteína pueda cambiar sustancialmente. Pero, de nuevo, el hecho de que sufra o no estas modificaciones depende de fuerzas o elementos que son los que consiguen modificarlas. Es decir, que una proteína sea fosforilada o no va a depender de que a su lado se encuentre y actúe en el momento oportuno la enzima cuya función es fosforilar (agregar el radical fosfato a la proteína); esta enzima se llama cinasa.

Recapitemos por un momento. Para que el ADN de un gen actúe debe recibir la influencia positiva de un conjunto o complejo de proteínas entre las que se encuentran los factores de transcripción. El gen va a originar un espectro de varios ARNm y, finalmente, de proteínas, y éstas van a sufrir modificaciones definitivas. Veamos qué puede ocurrir en dirección contraria al flujo de procesos recién enumerados. Un factor de transcripción, capaz como hemos visto de contribuir a la regulación de la transcripción de un gen, es una proteína. Esta proteína puede ser modificada (fosforilada, glicosilada, etc.) en su estructura, determinando así su función definitiva. O sea, que si algún elemento —por la causa que sea— cambia la estructura de esta proteína, puede cambiar su capacidad de actuar como factor de transcripción, y cambiará su capacidad para regular la transcripción que, como hemos visto, es el primer paso decisivo en la acción de un determinado gen.

La acción de un gen, pues, está sometida a múltiples influencias externas a él, capaces de modificar su capacidad expresiva desde el primer paso, la transcripción, hasta el último, la transformación post-traducciona de la proteína.

### 3. A nivel de cromosoma

Ahora bien, los cromosomas no actúan de manera autóctona e independiente; el cromosoma 21 tampoco. El material genético que se encuentra en un cromosoma interactúa con el de los demás, influye positiva o negativamente sobre ellos, unas veces promoviendo o facilitando su acción, otras veces entorpecidiéndola. Es una interacción mutua de fuerzas de la que deriva el mejor o peor funcionamiento de una célula. Sabemos que no menos de 18 productos generados por genes del cromosoma 21 tienen como función regular la transcripción de otros genes de otros cromosomas: se trata de factores de transcripción, antes definidos. Por consiguiente, el exceso de producción de factores de transcripción, debido a la trisomía 21, habrá de repercutir sobre la actividad de otros genes que no están en ese cromosoma sino en otros. Pero no son sólo los factores de transcripción; hay otras muchas maneras por las que genes de un cromosoma actúan sobre los genes de otros. En definitiva, el desequilibrio que se

originó inicialmente en el cromosoma 21 se transmite a otros cromosomas del individuo. O lo que es lo mismo, *los problemas que encontramos en el síndrome de Down, si bien en su origen derivan de la presencia del cromosoma 21 extra, se deben al desequilibrio en el funcionamiento de todo un conjunto de cromosomas.*

Por el mismo motivo, la variabilidad que encontramos en la presencia y en el grado de las alteraciones propias del síndrome de Down (penetrancia) no son achacables exclusivamente a variaciones individuales en el cromosoma 21 sino a variaciones en otros muchos más cromosomas. Eso amplía lógicamente la horquilla del paisaje genético de un individuo con síndrome de Down. ¿Podríamos profundizar en el conocimiento de esas variaciones? A primera vista, bastaría con comparar las variaciones que observamos en sujetos trisómicos con los no trisómicos; pero la variación natural de la expresión de los distintos genes, tal como ocurre en ambos grupos de individuos, es tan extensa que hace muy difícil identificar la que se debe exclusivamente a la provocada por la trisomía 21. Por ese motivo, para evitar ese factor de la variación genética natural, resultaría una magnífica ocasión el poder evaluar y comparar la perturbación ocurrida en todos los cromosomas, provocada por el síndrome de Down, en dos gemelos homocigotos, uno con síndrome de Down y otro sin él; es decir, dos individuos idénticos en todo el genoma excepto por el número de cromosomas 21. De este modo se elimina el factor de "variabilidad natural del genoma" ya que ambos contienen un fondo génico similar, de manera que la mayor parte de las diferencias que se aprecien podrán ser atribuidas exclusivamente a la presencia de un cromosoma 21 extra. Los gemelos homocigóticos surgen del mismo suceso de fertilización, y son producidos por la división del embrión mientras las células son todavía totipotentes o pluripotentes, en una etapa que puede ser incluso anterior a la fase de mórula.

El problema es que la aparición de gemelos homocigotos, uno con síndrome de Down y otro sin él, es extraordinariamente rara (uno de cada 385.000 casos), a pesar de que las técnicas de reproducción asistida, tan utilizada en la actualidad, incrementan en general la frecuencia de embarazos gemelares. En la fecundación de solo un embrión, la trisomía aparece ya en el cigoto (la célula resultante de la fusión del óvulo y el espermatozoide); en este caso de embarazo gemelar, el embrión ya había empezado a dividirse, y la trisomía aparece con la gemelación (la partición del embrión en dos mitades, cada una de las cuales da lugar a un individuo completo) pero sólo en uno de los gemelos. Recientemente, Letourneau et al. (2014) pudieron estudiar un caso de gemelos homocigotos, uno con síndrome de Down y otro sin él; el estudio fue realizado sobre células aisladas (fibroblastos obtenidos de la piel), centrándose el análisis en la identificación, cuantificación y comparación de los productos inmediatamente producidos por el ADN nuclear, es decir, los ARNm, en las células normales (disómicas) y trisómicas. Dada la rareza con que aparece esta oportunidad, vale la pena detallar sus hallazgos.

a) Fueron 182 los genes que se expresaron de manera diferente entre los gemelos. Muchos de los productos derivados de la acción de esos genes pertenecían a proteínas implicadas en los procesos de señalización, interacción proteína-proteína y respuestas inflamatorias. No todos los genes cuya acción fue modificada eran codificadores (productores) de proteínas.

b) Al analizar la distribución de estas diferencias en la expresión de los genes entre las células gemelas en todo su genoma, comprobaron que se extendía no sólo a los genes del cromosoma 21 *sino a la mayoría de los cromosomas.* Las diferencias consistían en la formación de grandes grupos de genes próximos en los cromosomas (extensiones, dominios) que mostraban actividad anómala en las células trisómicas. En efecto, en la mayoría de los cromosomas de las células trisómicas se alternaban regiones que sobreactuaban (sobreexpresión) con otras que infra-actuaban (infraexpresión). Esta observación sugiere que la diferencia en la expresión de los genes entre las células trisómicas y las normales no se organiza al azar sino que sigue un patrón a lo largo de los cromosomas, formándose regiones o dominios bien definidos en buena parte de los cromosomas que van a actuar en exceso o en defecto. Estos dominios son denominados "dominios con desregulación en la expresión de los genes" (GEDD). En definitiva, el desequilibrio de expresión génica ocasionado por el cromosoma 21 extra no se limita a la actuación de ese cromosoma sino que se extiende de manera organizada al resto de los cromosomas. No hay, por tanto, una relación simple y directa entre un gen del 21 y un determinado fenotipo, sino que ese particular fenotipo puede ser el resultado de una acción combinada e integrada de genes de diferentes cromosomas.

c) La realidad de la existencia de estos GEDD en la trisomía 21 se vio confirmada por el hecho de que, cuando los fibroblastos trisómicos y no trisómicos fueron convertidos (por ingeniería genética) en células madre pluripotentes, siguieron apreciándose los mismos dominios GEDD en las trisómicas. No era, pues, un fenómeno circunscrito a un particular tipo de célula.

d) Los dominios sobreexpresados en el gemelo con trisomía correspondían con las regiones del ADN que son las primeras en interactuar con la periferia del núcleo. El estudio mostró por primera vez que la posición del ADN en el núcleo, o las características bioquímicas de las interacciones entre ADN y proteínas en las células con trisomía, se modifica ocasionando cambios en los patrones de expresión génica.

e) La presencia de GEED estaba relacionada con específicos dominios de los cromosomas, pero las alteraciones observadas en su expresión, por exceso o por defecto, pareció guardar relación con modificaciones epigénéticas de la cromatina nuclear, es decir, de un material nuclear que influye decisivamente en, y regula, el comportamiento final de los genes. En definitiva, la sobreexpresión de los genes del cromosoma 21, debida a la trisomía, modificaría el ambiente de la cromatina en los compartimentos nucleares de las células trisómicas. Estas modificaciones llevarían a una perturbación global en la actividad de numerosos y concretos dominios de otros muchos cromosomas.

En conclusión, este estudio nos muestra la diferencia que existe entre dos tipos de células cuyo fondo genético es idéntico pero, en uno de ellos, existe una variante: el cromosoma 21 extra; ello permite deducir lo que este cromosoma extra es capaz de desencadenar en las células que lo alojan. El cromosoma extra perturba la actividad de la cromatina nuclear y eso repercute en la actividad de regiones o dominios concretos, distribuidos *en la mayoría de los demás cromosomas*. Esa actividad puede manifestarse en un exceso o en un defecto de la elaboración de productos derivados de genes, lo que, en último término, supone un desequilibrio capaz de desencadenar la modificación de la actividad celular en un variado número de órganos.

#### 4. Volvamos ahora al síndrome de Down

Como ya se ha comentado, la primera consecuencia, y más fácilmente predecible, de la trisomía 21 sería el incremento proporcional de la expresión del gen del HSA21 —el producto del gen— en forma de ARN en un 50%; es lo que hemos llamado **el efecto de dosis génica**. Ahí parece iniciarse la causa del fenotipo. El efecto de dosis génica ha sido comprobado en numerosos experimentos en los que se ha podido calcular el contenido total de ARNm derivado de los genes del cromosoma 21 humano o **transcriptoma**, término que, como hemos explicado, define el conjunto de transcritos o unidades funcionales de ARNm; y esto se ha visto tanto en células humanas como en sistemas derivados de modelos de ratón del síndrome de Down ya que tienen trisomía de su cromosoma 16 (p. ej., Ts65Dn, Ts1Cje), cromosoma que posee más de un centenar de genes homólogos a los del cromosoma 21 humano.

Sin duda, los efectos de dosis génica primarios de diversas categorías de productos génicos pueden producir directamente consecuencias fenotípicas. Pero se ha comprobado en estudios del transcriptoma de células trisómicas que en ocasiones el nivel de producto de un grupito de genes trisómicos es similar o inferior al de células disómicas; es decir, no aparece el efecto de dosis génica y esto se llama compensación de dosis.

Otras veces, como ya se ha señalado anteriormente, se aprecia que el transcriptoma derivado de genes disómicos (es decir, genes que no están en el cromosoma 21) puede estar también cuantitativamente alterado. ¿Por qué, si esos genes no están en trisomía? Esto significa, en última instancia, que la trisomía del cromosoma 21 no sólo influye sobre los productos derivados directamente de sus propios genes sino que modifica el comportamiento de genes de otros cromosomas. Lo cual hace más difícil establecer y predecir la relación entre el genotipo y el rasgo fenotípico, porque un fenotipo ya no es sólo el resultado directo de modificaciones en el transcriptoma de un gen determinado del cromosoma 21 sino, además, de las modificaciones que secundariamente ocurran en los transcriptomas de otros genes de



ese cromosoma y de genes de otros cromosomas. Así, el efecto de dosis génica puede tener un impacto directo o indirecto sobre el fenotipo, de forma que se puede producir por interacción de genes o productos génicos en aneuploidia con otros genes o productos génicos aneuploides o no aneuploides. Más aún, esta interacción puede ser específica de alelo, de forma que quizá solamente determinadas combinaciones de alelos contribuirían a la aparición o susceptibilidad a fenotipos específicos. Por ello la dotación genética individual determina en cierta medida la definición del fenotipo

De las unidades transcripcionales anotadas en la porción 21q del cromosoma 21, unas dos docenas están identificadas como factores de transcripción y co-reguladores / moduladores de la transcripción a la que anteriormente nos hemos referido. Predecir las consecuencias del aumento de la expresión de estos factores de transcripción no es una tarea fácil y directa. No olvidemos que el producto final —base de la estructura y función— es la proteína, cuyo conjunto forma el tercer escalón: el **proteoma**. Pues bien, también a este nivel se ha demostrado que puede haber sobreexpresión de un gen y de su ARNm, y no de la proteína (Spellman et al., 2013).

En primer lugar, y es lo más básico, dependerá de que el efecto de dosis génica se exprese en el nivel de proteína: es decir, que su nivel aumente correlativamente con la dosis génica; y no siempre ocurre así dependiendo del gen y del tejido estudiado, como ya hemos señalado. En segundo lugar, los factores de transcripción no operan de manera independiente sino formando complejos de proteínas heteroméricas. El aumento de 1,5 veces en un factor de transcripción derivado de un gen del cromosoma 21 originará un desequilibrio en la estequiometría o composición proporcional del complejo proteico, cambiando así las propiedades funcionales del complejo; y esto puede llevar incluso a una disminución en la actividad del conjunto, si se forman complejos irregulares alrededor de la proteína. En definitiva, el resultado puede ser la disregulación (por exceso o por defecto) de la función de ciertos genes diana o de ciertas vías de regulación. Incluso puede aparecer disregulación (por exceso o por defecto) en la acción de genes disómicos (genes que están en cromosomas distintos del 21). En tercer lugar, las proteínas derivadas de genes del 21 pueden verse alteradas en niveles en donde sufren modificaciones postraduccionales, como son las reacciones de fosforilación, glicosilación, ubiquitinación; reacciones que se necesitan para la activación, localización y otras facetas de la regulación de la actividad proteica. Esto puede deberse a que dichas proteínas se encuentran en exceso en relación con sus enzimas modificadoras, y ello puede originar que la actividad funcional de la proteína esté aumentada, inhibida o no cambiada en relación con ese 50% de incremento predecible a partir del efecto de dosis génica.

Existen otros mecanismos por los que el desequilibrio de proteínas generadas por genes trisómicos del cromosoma 21 puede perturbar la regulación de la transcripción. Entre ellos destacan los mecanismos epigenéticos que analizamos a continuación.

## 5. Factores epigenéticos

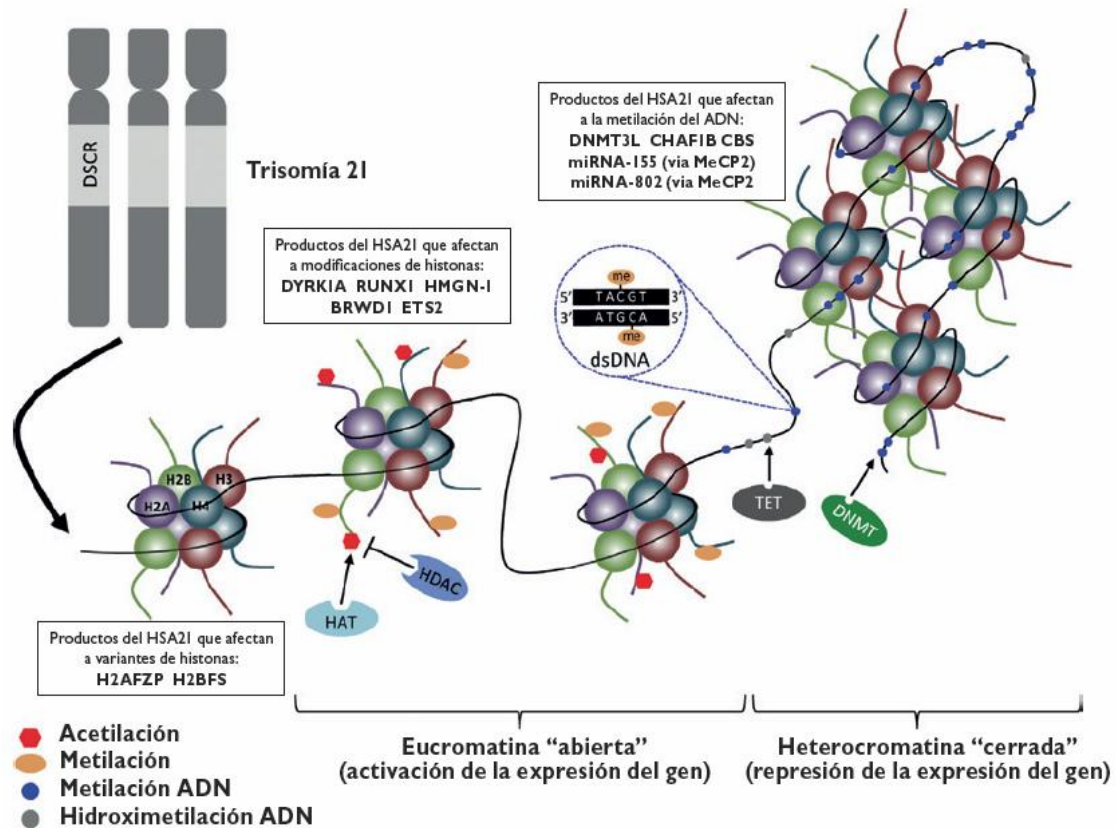
Los mecanismos epigenéticos juegan también un papel importante en la regulación de la expresión de los genes y, como tales, pueden actuar también en los procesos génicos propios de las células trisómicas, influyendo por tanto también sobre el desarrollo de determinados rasgos fenotípicos. Son otro factor a considerar. Porque en la vida, no todo depende de las cartas que tenemos, los genes, sino de cómo las juguemos. Miles de fragmentos de nuestro genoma, que fueron considerados "basura", están en realidad dedicados a regular cómo y cuándo los genes deben llevar a cabo su función, cómo los genes se activan y desactivan en el organismo; conforman el epigenoma.

Todas las células del cuerpo humano tienen el mismo genoma pero diferentes epigenomas: cuando las células madre se diferencian hacia un determinado tejido, se encuentran con un epigenoma distinto que lo va a hacer funcionar de manera diferente al de las células de otros tejidos. A partir de un mensaje escrito en un lenguaje de cuatro letras (ADN), el epigenoma permite construir distintos órganos y tejidos mediante su propia información que, incluso, puede también fallar y originar enfermedad. En definitiva, la forma en que la célula interpreta la información genética está muy ligada a la organización de estos elementos reguladores, es decir, a los interruptores que permitan encender y apagar la actividad de los genes y que hacen

que la célula sea una neurona y no una célula hepática. Igual que el ambiente determina en parte en qué nos convertiremos, también lo hace para nuestras células. Hábitos, agentes químicos, en definitiva, influencias externas dejan marcas que quedan literalmente asociadas al material genético como después veremos, enmascarando o activando genes que pueden ser esenciales o perjudiciales.

Un rasgo epigenético se define como un fenotipo establemente heredable que se debe a los cambios producidos en un cromosoma sin que existan alteraciones en la secuencia del ADN. Es decir, los mecanismos epigenéticos regulan la expresión de un gen sin afectar al propio ADN. De hecho, se ha comprobado que los mecanismos epigenéticos participan en la plasticidad sináptica, el aprendizaje y la memoria, lo que hace resaltar su importancia en el síndrome de Down (Dekker et al., 2014).

Para entender la importancia que estos mecanismos tienen en el funcionamiento de los genes, conviene recordar el modo en que está organizada la estructura del ADN en el cromosoma.



Una visión general sobre los principales hitos epigenéticos y su asociación con productos del HSA21. El ADN se encuentra empaquetado en la cromatina, la cual consiste de nucleosomas: 147 pares de bases de ADN enrollados alrededor de un núcleo octamérico de histonas. La expresión de un gen depende del estado en que se encuentre la cromatina. La cromatina abierta, accesible (eucromatina) va asociada a la expresión del gen; la cromatina cerrada, inaccesible (heterocromatina) está asociada al silenciamiento del gen. DNMT: DNA metiltransferasa; DSCR: región crítica del síndrome de Down; dsDNA: DAN doble hélice; HAT: histona acetiltransferasa; HDAC: histona desacetilasa; me: metilación; TET: translocación diez-once. (Según Dekker et al., 2014).

El largo hilo de ADN se encuentra empaquetado unas 10.000 veces adoptando una forma compacta: la cromatina. El nivel elemental de esta cromatina es el nucleosoma que consiste aproximadamente en 147 pares de bases de ADN envueltas alrededor de un núcleo proteico constituido por histonas. Este núcleo es un octámero que contiene dos copias de cada

histona: H2A, H2B, H3 y H4. Esta hilera de nucleosomas (como granos en una fila) se dobla en varios pliegues para que la estructura se condense en un espacio muy pequeño.

La expresión de un gen depende del estado en que se encuentre la cromatina: *a)* cromatina abierta, accesible (eucromatina), el gen se puede expresar; *b)* cromatina cerrada, inaccesible (heterocromatina), el gen permanece en silencio. Los mecanismos epigenéticos afectan al modo en que se encuentran empaquetados los nucleosomas, y por tanto el grado de accesibilidad del ADN para mantener las interacciones necesarias para su transcripción y replicación. Son cuatro los principales mecanismos epigenéticos capaces de alterar los estados de cromatina: la metilación del ADN, las modificaciones post-traslacionales de las histonas, el ensamblaje del núcleo nucleosómico, y la remodelación de la cromatina mediante microARNs (miARNs) y RNAs largos no codificantes (lncARNs).

En general, la metilación del ADN se asocia con la formación de heterocromatina y, consiguientemente, con el estado de silenciamiento o represión de la expresión de un gen. Las modificaciones de las histonas (p. ej., por acetilación, metilación, fosforilación) ocasionan situaciones variadas, unas de estimulación y otras de represión de la expresión del gen. Y la remodelación de la cromatina por parte de miARNs y lncRNAs suele conducir a la formación de heterocromatina y consiguiente reducción de la expresión del gen.

## Bibliografía

- Aït Yahya-Graison E, Aubert J, Dauphinot L, Rivals I, Prieur M, Golfier G, Rossier J, Personnaz L, Creau N et al. Classification of human chromosome 21 gene-expression variations in Down syndrome: impact on disease phenotypes. *Am J Hum Genet.* 2007; 81: 475-91.
- Dierssen M. Down syndrome: the brain in trisomic mode. *Nature Rev Neurosci* 2012; 13: 845-858.
- Hattori M, Fujiyama A, Taylor TD, Watanabe H, Yada T, et al. The DNA sequence of human chromosome 21. *Nature* 2000; 405: 311-319.
- Korbel JO, Tirosh-Wagner T, Urban AE, Chen XN, Kasowski M, Dai L, Grubert F, Erdman C, et al. The genetic architecture of Down syndrome phenotypes revealed by high-resolution analysis of human segmental trisomies. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009, 106: 12031-12036.
- Kuhn DE, Nuovo GJ, Martin MM, Malana GE, Pleister AP, Jiang J et al. Human chromosome 21-derived miRNAs are overexpressed in Down syndrome brains and hearts. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2008; 370: 473-477.
- Letourneau A, Santonio FA, Bonilla X, Sailani MR, González D et al. Domains of genome-wide gene expression dysregulation in Down's syndrome. *Nature* 2014; 508: 345-352.
- Loudin MG, Wang J, Leung HC, Gurusiddappa S et al. Genomic profiling in Down syndrome acute lymphoblastic leukemia identifies histone gene deletions associated with altered methylation profiles. *Leukemia* 2011; 25: 1555-1563.
- Lyle R, Béna F, Gagos S, Gehrig C, Lopez G, Schinzel A, Lespinasse J, Bottani A, Dahoun S, Taine L et al. Genotype-phenotype correlations in Down syndrome identified by array CGH in 30 cases of partial trisomy and partial monosomy chromosome 21. *Eur J Hum Genet* 2009; 17: 454-466.
- Pritchard MA, Kola I. The 'gene dosage effect' hypothesis versus the 'amplified developmental instability' hypothesis in Down syndrome. *J Neural Transm, Suppl.* 57; 1999: 293-303.
- Shapiro BL. Amplified developmental instability in Down's syndrome. *Ann Hum Genet* 1975; 38: 429-437.
- Shapiro BL. Developmental instability of the cerebellum and its relevance to Down syndrome. *J Neural Transm* 2001; Supp 61:11-34.
- Spellman C, Ahmed MM, Dubach D, Gardiner KJ. Expression of trisomic proteins in Down syndrome models. *Gene* 2013; 512: 219-225.
- Sturgeon X, Le T, Ahmed MM, Gardiner KJ. Pathways to cognitive deficits in Down syndrome. *Prog Brain Res.* 2012;197:73-100.
- Vilardell M, Rasche A, Thorman A, Maschke-Dutz E, Pérez-Jurado LA, Lehrach H, Herwig R. Meta-analysis of heterogeneous Down Syndrome data reveals consistent genome-wide dosage effects related to neurological processes. *BMC Genomics* 2011; 12: 229. doi: 10.1186/1471-2164-12-229.
- Yu T, Effects of individual segmental trisomies of human

chromosome 21 syntenic regions on hippocampal long term potentiation and cognitive behaviors in mice. Brain Res 2010; 1366: 162-171.

**Actualizado para *DownCiclopedia* en 2016**