

DE CE ESTE EPIGENETICA IMPORTANTĂ PENTRU PEDIATRIE?

Prof. Dr. Sorin Buzinschi

Facultatea de Medicină, Universitatea Transilvania, Brașov

REZUMAT

Înțelegerea schimbărilor de patologie din ultimele decade a devenit posibilă datorită achizițiilor epigenetice. Această ramură a geneticii explică cum influențează mediul funcționarea dinamică a genelor. Variațiile epigenetice sunt determinate de nutriție, infecții, noxe chimice, stres. Programarea metabolică inițiată din viața fetală este determinantă pentru patologia cronică a vârstei adulte. Infecțiile, bolile alergice, afecțiunile maligne, prezintă o semnificativă dimensiune epigenetică. Medicul pediatru, acționând în începutul ciclului de viață, poate interveni în derularea acestor procese prin abordarea profilactică și prin terapia epigenetică, ultima fiind în curs de cristalizare.

Cuvinte cheie: pediatrie, epigenetică, programare, terapie

În ultimele decade, o observație elementară ne arată creșterea explozivă a frecvenței unor afecțiuni altă dată rare. Explicațiile asupra originii genetice a acestora se lovesc de constatarea că fondul genetic al populațiilor este stabil, în timp ce populațiile prezintă modificări majore de patologie din cauza schimbărilor mediului de viață. O privire de ansamblu asupra patologiei așează pediatria la începutul unui lanț de modificări care se amplifică de-a lungul vieții. Înțelegerea globală a patologiei vârstelor este îngreunată de diviziunea profesiei medicale între ramurile sale, decurgând din cantitatea uriașă de informație a fiecărei specialități, fiecare cu un teritoriu bine delimitat și fără interferențe (deseori) cu alte discipline. Abordarea epigenetică estompează hotarele formale trasate de segmentarea pe specialități și pe vârste, pornind de la realitatea unei continuități biologice din etapa embrionară și până la moarte. Pentru percepția adecvată a dinamicii funcționării genelor, considerăm necesară includerea unui glosar de termeni epigenetici (1).

Epigenetica

Parte a geneticii care studiază modificările trăsăturilor fenotipice induse de mediu prin modificarea reversibilă a funcțiilor genelor, fără modificarea secvențelor ADN. Reglarea epigenetică este mediata de metilarea ADN, modificări fizice ale structu-

rii cromatinei și de acțiunea moleculelor de ARN necodante.

Cromatina

Complex format de ADN și histone care compun cromozomii. Cromatina condensată (heterocromatina), în care ADN și histonele sunt strâns împachetate, blochează accesul factorilor transcripționali la expresia genelor. Forma de cromatină deschisă permite factorilor transcripționali să acceseze ADN și să inițieze transcripția.

Metilarea ADN

Fixarea grupului metil în poziția 5 a inelului citozin-pirimidinei (C) din structura citozin-guanină dinucleotidică (CpG), reacție catalizată de ADN metiltransferaze (DNMTs). Metilarea ADN este un proces epigenetic determinant pentru represia transcripției prin sistarea atașării factorilor transcripționali.

Modificările histonelor

Au loc în zone specifice prin acetilare, metilare și alte procese. Ele modulează expresia genelor prin schimbarea structurii cromatinei. Ca și metilarea ADN, modificările histonelor sunt dinamice și reglate activ de enzimele catalitice ale gazdei.

Adresa de corespondență:

Prof. Dr. Sorin Buzinschi, Facultatea de Medicină, Universitatea Transilvania, Bulevardul Eroilor nr. 29, Brașov

E-mail: buzinschis@gmail.com

Imprinting genomic

Proces epigenetic prin care este exprimată doar o singură alelă provenind de la unul din părinți. Este un proces fundamental pentru creștere și dezvoltare.

Moștenirea epigenetică

În majoritate, informația genetică se transmite de la părinți la copii prin codul genetic, însă unele trăsături epigenetice se mențin și trec de la o generație la alta.

Alele

Genele sunt localizate pe cromozomi, fiecare genă ocupând un locus. În loci situați în aceeași po-

ziție pe perechea de cromozomi omologi pot fi versiuni identice ale genei (organism homozigot) sau secvențe de ADN diferite-alele (organism heterozigot) (Fig. 1).

Modul în care genele se exprimă în mod diferit, fără modificarea secvențelor ADN, este determinat de schimbările funcționale ale acestora prin metilarea ADN, modificările histonelor și ale microARN, fondul genetic fiind considerat partea de „hard“, iar epigenetica „softul“. Factorii epigenetici sunt o formă de memorie celulară dobândită că răspuns la variațiile mediului și pot influența modul și timpul de exprimare al genelor printr-un mecanism aparent simplu de tip „închis“, „deschis“. La întrebarea enunțată în titlu pot fi formulate 3 răspunsuri principale:

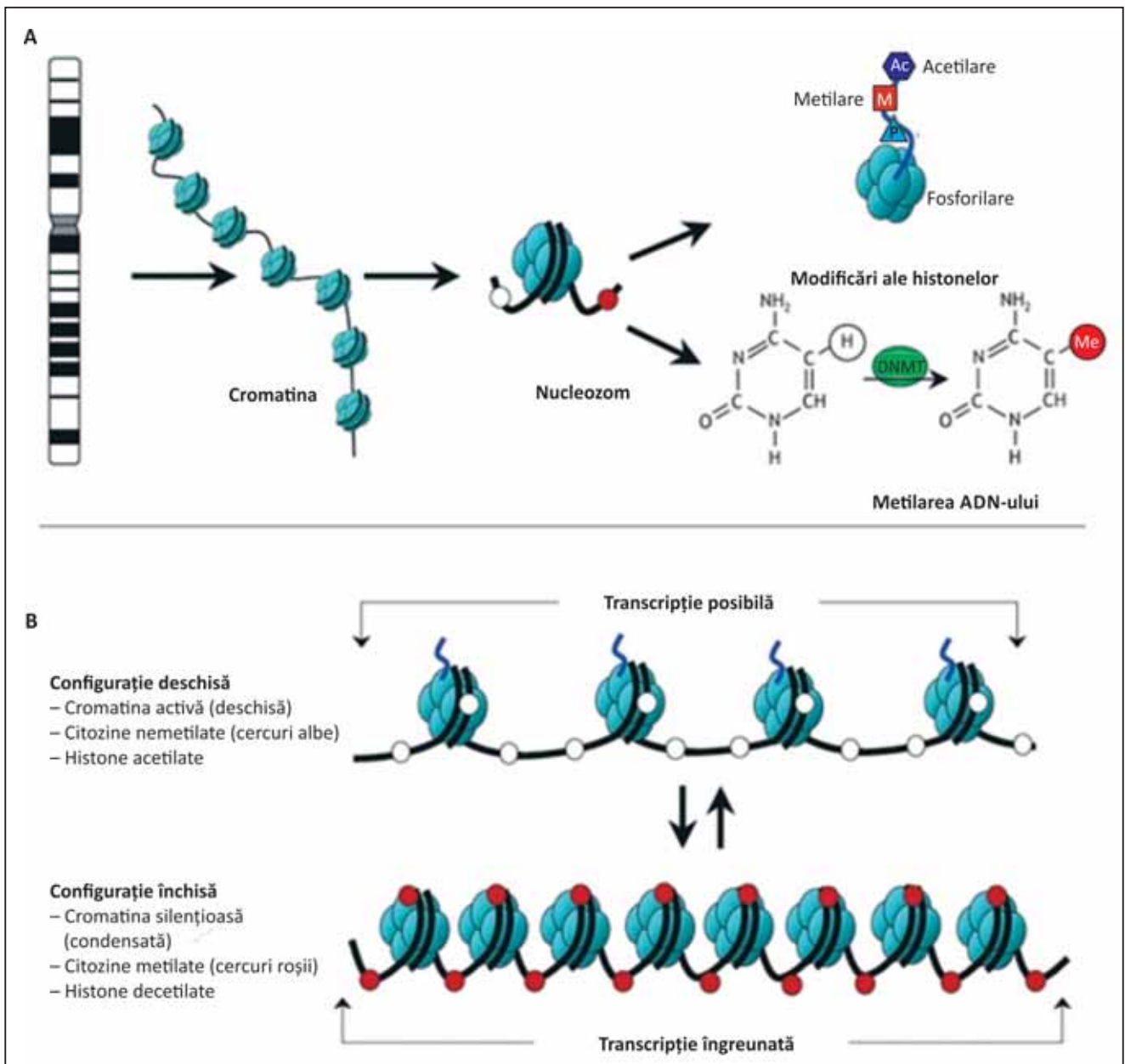


FIGURA 1. Modificările epigenetice ale ADN. Modificat după Rodenhiser și Mann 2006 (2)

1. Pentru că pune în prim plan importanța dezvoltării fetale și a copilăriei la originea unor afecțiuni care se manifestă la maturitate și bătrânețe;

2. Pentru că argumentează că unele din trăsăturile părinților se transmit la descendenți prin memoria gameților, fără modificări ale secvențelor ADN;

3. Pentru că pune în evidență restructurarea permanentă a funcționării celulare și modul în care influențele din mediu (nutriționale, toxice, stil de viață) își pun amprenta asupra patologiei.

În ultimii ani, cercetarea genetică (vezi GWAS – genome-wide association studies) a identificat gene sau variante genetice care stau la baza unor boli cu transmisie complexă. Evoluția studiilor GWAS privind rolul factorilor genetici în dezvoltarea unor boli s-a bazat pe asocierea dintre variațiile genomice și corespondentul lor fenotipic din populație. Ipoteza „boli comune, variante comune“ postulează că bolile comune ale adultului pot fi atribuite unor variante alelice comune de risc, identificabile la cel puțin 1-5% din populație. Cu toate acestea, caracterul înăscut al bolilor complexe ale adultului nu a putut fi demonstrat decât în proporție relativ redusă (25%). Rolul determinant al unor variante genetice în obezitatea comună, ateroscleroza, diabetul zaharat de tip 2 nu este susținut convingător de date statistice, de aceea schimbarea paradigmei asupra patogeniei acestor boli a impus o componentă nouă, cea epigenetică. Poate epigenetica, un domeniu nou al geneticii să ofere explicații asupra unor afecțiuni care încep din viață intrauterină și se manifestă în viață adultă? Poate fi pediatria un domeniu cheie în găsirea soluțiilor la dezvoltarea epidemică a unor afecțiuni în epoca modernă?

Epigenetica explică modul în care zigotul care se dezvoltă în peste 220 de tipuri de celule cu același ADN se diferențiază în celule și organe cu structură și funcții diferite. Pentru majoritatea autorilor, termenul de epigenetică se referă la moștenirea epigenetică, adică la transmiterea de la o generație la alta de modificări în expresia genelor, declanșate de stimuli diferiți. Variațiile epigenetice sunt manifeste în toate perioadele de viață, fiind modulatori permanenți de răspuns la toxice din mediu, infecții, modificări ale aportului nutrițional, noxe cancerigene, interacțiuni socio-emoționale (3). Vom prezenta câteva din zonele de patologie în care modificările epigenetice sunt pe primul plan. Infecțiile acute și cronice, bolile alergice, afecțiunile maligne și bolile metabolice ale adultului prezintă o semnificativă dimensiune epigenetică. Afecțiunile din grupele citate în care epigenetica contribuie la descifrarea mecanismelor patogenetice pot beneficia de noi terapii, unele deja în curs de aplicare.

1. Modificări epigenetice produse de infecțiile bacteriene și virale

Germeii patogeni se adaptează gazdelor lor și au capacitatea de a interfera în procesele celulare și tisulare, într-un război de la celulă la celulă, după depășirea sistemelor immune de apărare. Manipularea microbiană a mecanismelor epigenetice, din partea paraziților intracelulari, le-a permis acestora să dezvolte numeroase căi de a sustrage substraturi pentru completarea ciclului lor de viață și pentru a evita răspunsurile immune ale gazdei (4-6). Infecția cu *Helicobacter pylori* (Hp) declanșează un proces inflamator care poate duce la gastrită cronică, ulcer gastric sau duodenal. Inflamația cronică este urmată de modificări ale mucoasei și uneori malignizare. Factorii de virulență ai Hp sunt citotoxina VacA și CagA. Oncoproteina CagA acționează în celulele epitelului gastric și induce proliferare celulară necontrolată și instabilitate cromozomială. Modificările epigenetice legate de carcinogeneză cuprind atât hipometilare genomică globală, cât și arii hipermetilate care includ genele supresoare tumorale (4). *Mycobacterium tuberculosis* și alți patogeni intracelulari au dezvoltat numeroase mecanisme epigenetice care inhibă secreția de IFN- γ și transcripția genelor legate de imunitate. Unele specii bacteriene, între care cităm *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Chlamidia pneumoniae* sunt capabile să producă modificări epigenetice în celulele umane. Virusurile hepatitice, prin moleculele lor efectoare, dereglează progresia ciclului de multiplicare celulară, iar prin oncoproteinele lor produc hipometilare globală a ADN, fenomen larg răspândit în celulele neoplazice. Carcinoamele hepatocelulare de diferite etiologii virale se caracterizează printr-o „semnătură“ epigenetică unică, specific virală (4).

2. Modificări epigenetice în bolile alergice

Creșterea alarmantă a incidenței unor boli alergice ca astmul, rinita alergică și eczema a fost legată de modificările mediului și stilului de viață, sugerând că funcționarea sistemului imun este influențată semnificativ de acestea. Deși componenta genetică a astmului apare evidentă în studiile epidemiologice, până acum nu au fost puse în evidență gene specifice sau cele propuse au fost variabile în masa populațiilor. Recent, prin GWAS (Genome-Wide Association Studies), a fost posibilă identificarea unor gene implicate în răspunsul imun înăscut și adaptativ (7). Aportul mecanismelor epigenetice în bolile alergice a fost demonstrat în studii experimentale și clinice. Ele vizează perioada de viață fetală, semnificativă pentru dezvoltarea imună, diferențele de expresie ale unor gene în bolile

alergice, reglarea epigenetică a dezvoltării imune și factorii care modulează riscul alergic pe cale epigenetică.

Studii asupra unor bolnavi astmatici și pe gemeni monoziigoți discordanți pentru astm pun în lumină metilarea aberantă a ADN și modificările histonelor, cu programarea răspunsurilor celulelor T și a altor parametri imuni încă din viață intrauterină (8-10). Aceste modificări vor determina riscul pentru astm și severitatea acestei afecțiuni în perioadele ulterioare de viață. Deși există o legătură puternică între fondul genetic și astm un studiu asupra gemenilor monoziigoți discordanți pentru astm a arătat diferențe semnificative ale modificărilor epigenetice (metilarea ADN) ale celulelor T pentru cei afectați față de gemenii nonastmatici (11) (Fig. 2).

3. Programarea metabolică la copil

Primele indicii că mediul intrauterin în care se dezvoltă fătul are o influență importantă asupra stării de sănătate și supraviețuire datează din anii 90.

S-au stabilit corelații între greutatea mică la naștere și evoluția ulterioară către obezitate, HTA, diabet zaharat de tip 2, boli cardiovasculare (12).

Numeroase studii care au implicat zeci de mii de subiecți au ajuns la concluzia că lipsurile nutriționale din perioada sarcinii sau noxe acționând asupra fătului în perioade critice de dezvoltare au ca rezultat formarea unui fenotip economic (adică programat să consume puțin). Născuți prematur, mici pentru vârsta gestațională, sau numai afectați de restricțiile alimentare maternelle din cursul sarcinii, acești copii vor dezvolta ulterior (uneori din perioada de adolescență) bolile metabolice ce definesc patologia adultului sau a perioadei de bătrânețe. Sub nume ca teoria originii fetale (13), răspunsul adaptativ predictiv (14,15) sau originea stării de sănătate și de boală în perioada de dezvoltare (16,17), sunt cumulate date experimentale, epidemiologice și clinice, care urmăresc etapele de instalare a patologiei metabolice a adultului și substratul molecular al acestor modificări. Un exemplu su-

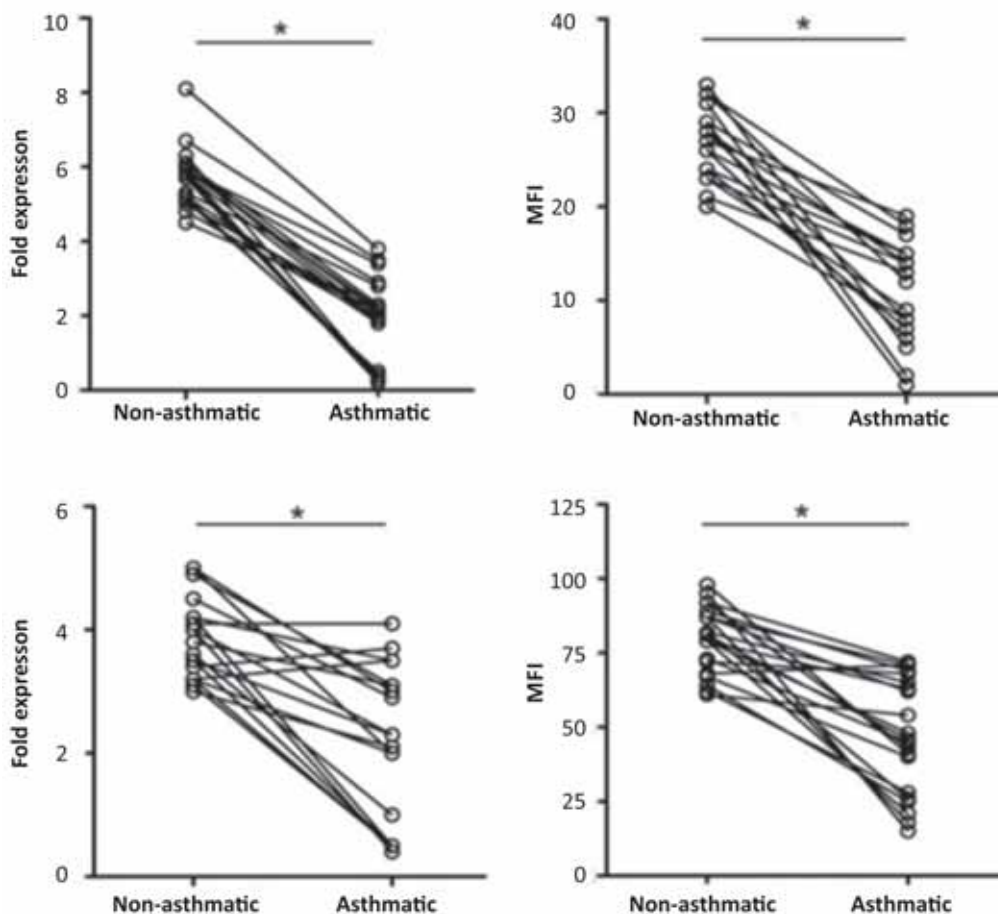


FIGURA 2. Scăderea expresiei proteinelor implicate în funcția celulelor T efectoare (Teff) și T reglatoare (Treg) la gemeni monoziigoți discordanți pentru astm. A) Expresia FOXP3 (proteină implicată în răspunsul imun, reglează dezvoltarea/funcția celulelor Treg); B) Nivelul proteinei FOXP3 extrasă din celulele Treg; C) Expresia genei IFN- γ ; D) Nivelul proteinei IFN- γ extrasă din celulele Teff. După Runyon et al, 2012 (9)

gestiv al efectelor tardive ale malnutriției de sarcină l-a constituit perioada de foamete din Olanda din cursul celui de-al 2-lea Război Mondial, când efectele carențelor de nutriție fetală au fost evidente în patologia adulților, 50 de ani mai târziu (18) (Fig. 3).

Implicațiile malnutriției intrauterine au o semnificație majoră asupra patologiei din largi zone geografice. Yajnick și col (19), având în vedere că nou-născuții din India sunt în medie mai mici decât cei europeni, au arătat că adipozitatea și hiperinsulinemia lor este prezentă la naștere. Comparativ, un grup de 157 de nou-născuți din India cu greutatea medie de 2.800 g, față de 3.475 g în Anglia, aveau concentrații ale insulinei în cordonul ombilical mai ridicate decât grupul martor (34,7 pmol/l VS 20,8 pmol/l). Wang et al. (20) au urmărit o cohortă de copii, unii născuți la termen și alții cu diferite grade de prematuritate. Nivelurile insulinei plasmatice au fost de 2 ori mai mari la născuții cu prematuritate avansată față de cei născuți la termen și s-au menținut ridicate și ulterior.

Paradoxal, copiii macrosomi, sau născuții din mame diabetice au o traiectorie de patologie convergentă cu cea a copiilor născuți prematuri sau „mici pentru dată“, prin creșterea insulinei plasmatice, obezitate și boală metabolică ca adolescenți și adulți. Marceau și col (21) au comparat greutatea copiilor născuți înainte de chirurgia bariatrică maternă la 783 de femei obeze cu alți copii născuți de femei care au traversat același tip de operație. Dintre cei 166 de copii născuți postchirurgie, numai 7,7% au avut macrosomie fetală comparativ cu 34,8% în grupul matern care nu au trecut prin această manevră chirurgicală.

Aceste date arată cât de importantă este oferta metabolică maternă pentru metabolismul fetal și efectele ei asupra următoarei generații, fără inter-

venția unor factori genetici. Modificările metabolismului matern și fetal contribuie la programarea dezvoltării intrauterine; acest program structurează funcționarea organismului și în perioadele ulterioare de viață. Ținând cont de ritmul de creștere al obezității la copiii din țară noastră, ne putem aștepta la efecte negative asupra generațiilor viitoare.

4. Modificări epigenetice în tulburările comportamentale și afecțiunile psihiatrice

Intervenția proceselor epigenetice în procesele psihice este condiționată de factori familiali, sociali și de mediu. Cercetări experimentale au arătat că animalele nou-născute atent îngrijite de mamele lor în prima săptămână de viață prezintă modificări ale expresiei genelor la nivel cortical și răspunsuri scăzute la stres. Aceste răspunsuri durabile sunt diferite de cele ale puilor neglijați, care vor reacționa disproporționat la factorii agresivi din mediu. Modificări similare fost evidențiate la copiii supuși neglijenței și abuzurilor, datorate modificărilor epigenetice ale receptorului pentru glucocorticoizi din hipocamp (22).

Semnalele din mediul social contribuie la remodelarea continuă a funcțiilor neuronale prin intermediul aparatului epigenetic, proceselor de metilare ale ADN și configurației cromatinei, fiind active și dinamice în cursul vieții (23). Spre deosebire de mutațiile genetice, memoria celulară indusă epigenetic este reversibilă, așa cum arată evoluția modificărilor de tip obsesiv/compulsiv, a depresiei sau a atacurilor de panică (24). Pentru aceștia din urmă, modificarea contextului afectiv, terapia comportamentală cognitivă și exercițiile fizice contribuie la modificarea stării de metilare a unor gene [ex. monoaminoxidaza A (MAOA) și la expresia diferită a acestora] (25).

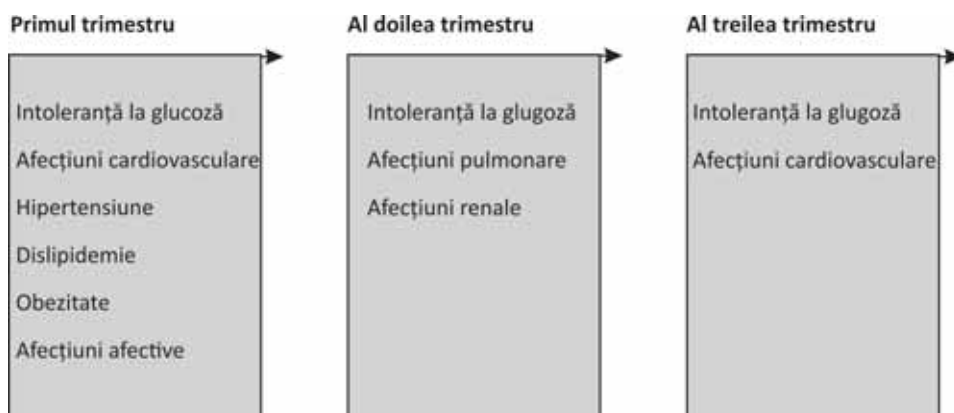


FIGURA 3. Structura patologiei adulților de peste 50 de ani în funcție de perioada de malnutriție intrauterină din cursul sarcinii, Olanda 1944-1945. După Boekelheide et al. 2012 (18).

Transmiterea epigenetică transgenerațională

Instalarea de elemente ale sindromului metabolic, ca obezitatea și DZ 2 pot fi efecte aditive în interval de mai multe generații (26). Studii asupra unor familii din Suedia pentru mai mult de 100 de ani au pus în evidență că bărbații care au avut acces larg la produse alimentare în perioada prepubertară au avut nepoți cu risc ridicat de deces prin DZ 2. Alte studii au arătat că mortalitatea prin diabet și boli cardiovasculare a fost influențată de starea nutrițională a părinților și bunicilor. Aceste studii sprijină ideea că există o memorie a mediului de viață transmisă prin gameți și reflectată în tulburările metabolice ale urmașilor (27,28). S-a considerat mult timp că modificările epigenetice din cursul vieții sunt șterse în cursul gametogenezei, adică spermatozoidul și ovulul nu vor purta experiența epigenetică dobândită de genitori. Cu toate acestea, datele actuale evidențiază că markerii epigenetici nu sunt în întregime înlăturați la pasajul dintre generații și că elemente din existența predecesorilor pot trece la copii, nepoți și urmașii lor. Moștenirea epigenetică transgenerațională are ca rezultat formarea unor fenotipuri în generații succesive, ca rezultat al modificărilor epigenetice transmise prin gameți (28). Conservarea datelor oferite de mediu poate fi un mecanism de adaptare funcțional, dar și sursă de tulburări metabolice. Unele din numeroasele exemple de transmisie epigenetică vin din cercetarea experimentală în care dezechilibre nutriționale din prima generație sunt sursă de obezitate, rezistență la insulină, DZ 2 și ateroscleroză pentru generațiile următoare (29-31). Moștenirea epigenetică transgenerațională șterge demarcația dintre transmiterea bazată pe secvențele ADN și cea epigenetică și, deși încă o noțiune controversată, schimbă concepția că bolile cronice complexe sunt în întregime de origine genetică (31-33). Destinația finală a acestor cercetări o reprezintă politicile de sănătate publică, care trebuie să facă față unui val de schimbări rapide în starea de nutriție și de patologie în diferite colțuri ale lumii (34).

Surse de informare epigenetică pentru medicul practician

În absența unor investigații larg utilizabile asupra markerilor epigenetici, este utilă cunoașterea unor factori parentali posibil implicați în patologia epigenetică. Principalii factori materni legați de patologia epigenetică sunt: greutatea (BMI), creștere ponderală excesivă în sarcină, vârstă, fumat, restricții alimentare/exces, diabet, HTA, preeclampsie, astm, boli alergice, stres psihosocial, depresie,

traume, expunere profesională/de mediu la chimicale (35). O serie de factori cu efecte asupra patologiei din perioada adultă pot fi identificați cu ușurință din perioada neonatală. Dintre aceștia, menționăm ca elemente de alertă: greutatea pentru vârstă gestațională (mic pentru dată), prematuritate, macrosomie, toxice identificate în perioada prenatală (35). Abordarea profilactică, cea mai necostisitoare terapie, este larg accesibilă. Este oare posibil ca schimbarea dietei și eliminarea excesului ponderal al viitoarelor mame să influențeze pe termen lung fenotipul și sănătatea copiilor? Studiile clinice au arătat că după diminuarea drastică a obezității prin chirurgia bariatrică a avut loc reprogramarea metabolică maternă și scăderea obezității copiilor. În plan populațional, combaterea obezității s-a dovedit un eșec. Pentru realizarea unui echilibru nutrițional, s-au propus o serie de obiective, dintre care menționăm:

1. Abordarea nutrițională a femeilor din perioada periconcepțională prin educație sanitară pentru promovarea stării de sănătate fetală;
2. Încurajarea alimentației naturale;
3. Introducerea în programa școlară de noțiuni elementare despre nutriția corectă și importanța ei;
4. Încadrarea largă în sistemul educațional a sportului și exercițiilor fizice;
5. Dezvoltarea unor politici guvernamentale pentru protecția consumatorilor față de punerea în consum a unor produse cu conținut crescut de grăsimi, hidrați de carbon și sare prin avertizare, etichetare diferențiată și informare permanentă. Este important faptul că flexibilitatea epigenetică permite organismului să se adapteze rapid la fluctuațiile mediului și că acest proces dinamic poate fi influențat.

Terapia epigenetică

Unele nutrimente sau suplimente alimentare au impact biologic prin intervenția lor în refacerea echilibrului epigenetic. Au fost sugerate efectele polifenolilor din dietă, conținuți în ceaiul verde și vinul roșu, pentru activitatea lor antitumorală (Tabelul 1). Promisiunea cea mai semnificativă a terapiei epigenetice este legată de boala cancerosă. S-a considerat că instalarea cancerului este provocată de acumularea defectelor genetice prin mutații, deleții, procese de translocare, care permit dezvoltarea și proliferarea celulelor maligne. Alături de acestea, au fost evidențiate dereglări epigenetice prin metilarea ADN, modificările histonelor și ale microARN, cu exprimarea genelor care transformă celulele normale în celule maligne (3). Spre deosebire de mutațiile genetice, modificările epigenetice

TABELUL 1. Nutriente/suplimente nutriționale cu efecte epigenetice. Preluat parțial după Szyc et al, 2015 (36)

Cadru nutrițional	Efactori
Donori de grupări metil	Folat, colină, vitamina B12, metionină, betaină, serină, glicină
Acizi grași	DHA, EPA, ARA, butirat
Vitamine	Vitamina D, vitamina C, retinol, tocoferoli
Fitoderivați	Resveratrol, curcumin, polifenoli, genistein, izoflavone din soia

sunt reversibile și pot reactiva sistemele celulare antitumorale sau inhiba transcripția oncogenelor. În

baza acestui concept, se dezvoltă noi strategii terapeutice, unele în curs de cristalizare. Nutriția în toate etapele de viață, stresul, activitatea fizică, fumatul, alcoolul, infecțiile pot destabiliza markerii epigenetici, favorizând bolile metabolice și cancerul. Principiile epigenetice de sanogeneză trebuie aplicate în practică încă din sarcină și urmărite de-a lungul copilăriei, ca premiză pentru o bună stare de sănătate ulterior. Departate de a fi o descoperire în căutarea unor aplicații, epigenetica reprezintă o mare șansă de ameliorare a paradigmatelor medicale.