



Centro  
Universitario  
Rivera



SEDE TACUAREMBÓ

CENUR  
NORESTE



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

5ta Clase

# EPIGENÉTICA

Yasser V. Vega Requena

[yassve2@gmail.com](mailto:yassve2@gmail.com)

[Yasser.vega@cut.edu.uy](mailto:Yasser.vega@cut.edu.uy)

Prof. Adjunto

CENUR Noreste

UdelaR



CENUR  
NORESTE



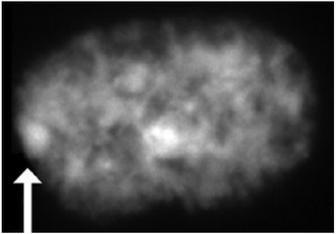
UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

## CONTENIDO

### Mecanismos de compensación de dosis

- Inactivación del cromosoma X
  - Resumen y aspectos históricos
  - Etapas
  - Mantenimiento
- Impronta genética

# INACTIVACIÓN DEL CROMOSOMA X RESEÑA HISTÓRICA



1949



1923 – 2022  
**Edwar George Bertrand**

1908 – 1995  
**Murray L Barr**

1959



*Susumu Ohno*

1928 – 2000  
**Susumu Ohno**

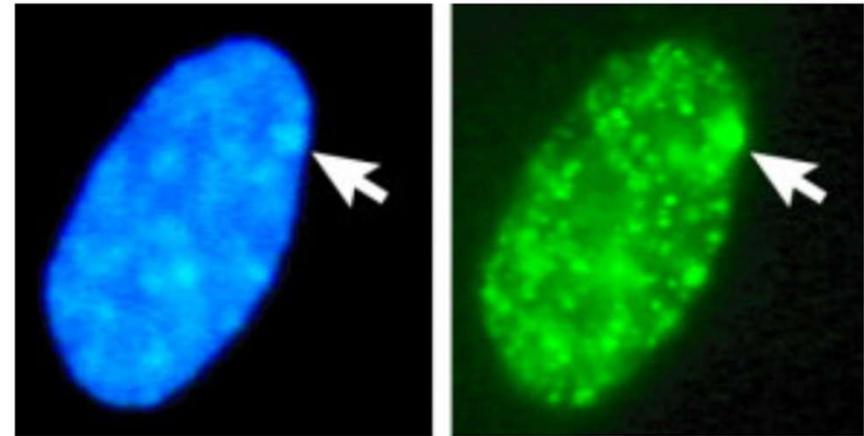
1961



1908 – 1995  
**Mary Lyon**

## INACTIVACIÓN DEL X EN CARIOTIPOS ANORMALES

- XX, 44 AUTOSOMAS = FEMENINA NORMAL → 1 Xi
- XY, 44 AUTOSOMAS = MASCULINO NORMAL → 0 Xi
- XXX, 44 AUTOSOMAS = TRISOMÍA DEL X → 2 Xi
- XXY, 44 AUTOSOMAS = SÍNDROME DE KLINEFELTER → 1 Xi
- XO, 44 AUTOSOMAS = SÍNDROME DE TURNER → 0 Xi
- XXXX, 88 AUTOSOMAS = TETRAPLOIDIA FEMENINA → 2 Xi

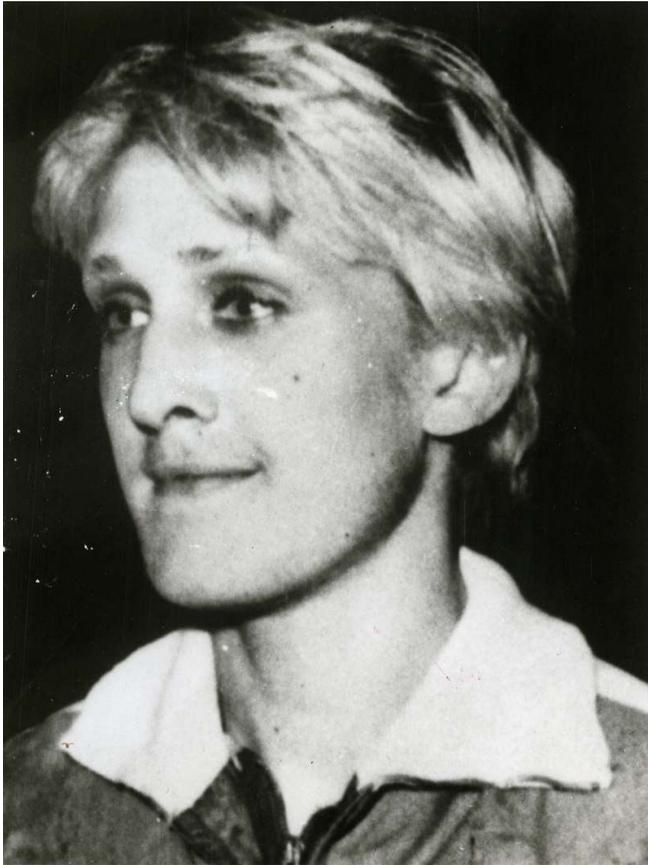


DNA

macroH2A

### Hipótesis de Lyon:

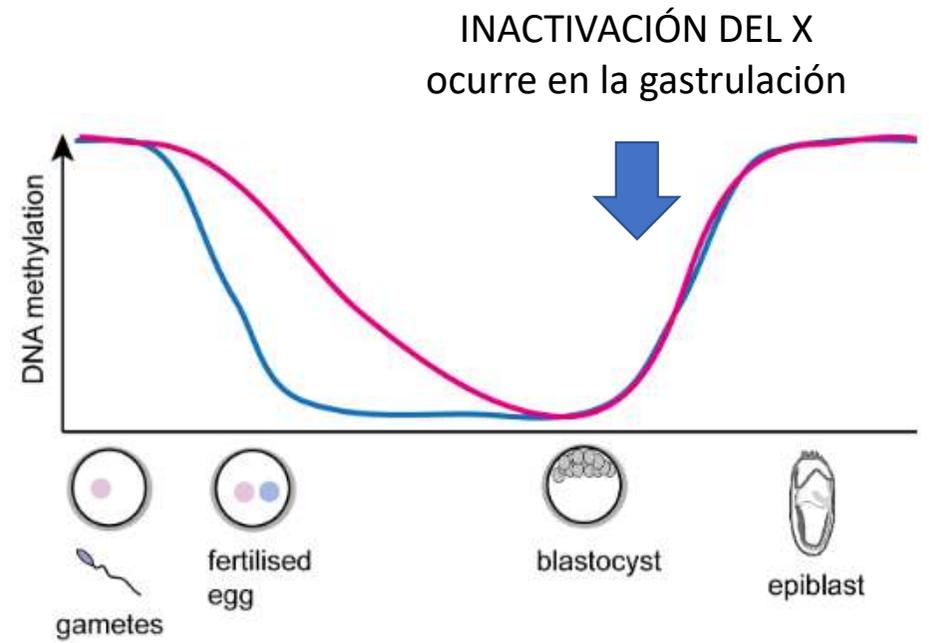
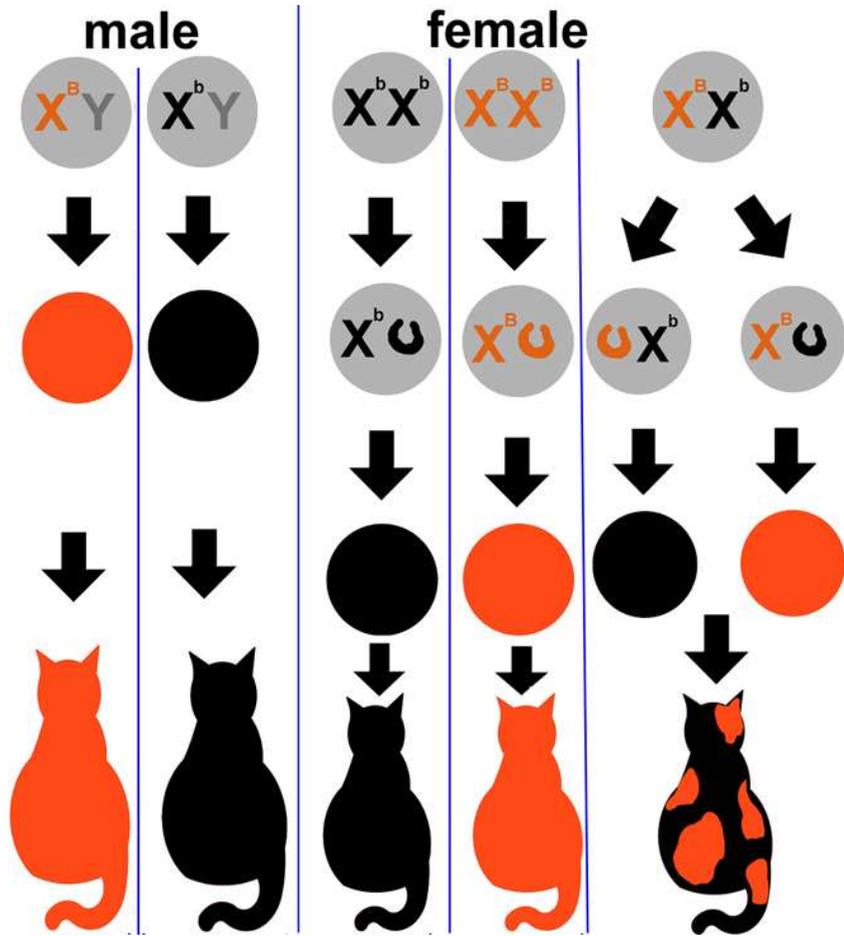
- 1 cromosoma X activo por grupo diploide de autosomas. Independientemente del cromosoma Y.
- Proceso que ocurre al azar.



**Ewa Janina Kłobukowska**

**1966** fue usado el análisis del corpúsculo de Barr para la determinación del sexo de los atletas.

## Inactivación del X. Gatos Calicó



## TIPOS DE INACTIVACIÓN DEL X EN MAMIFEROS



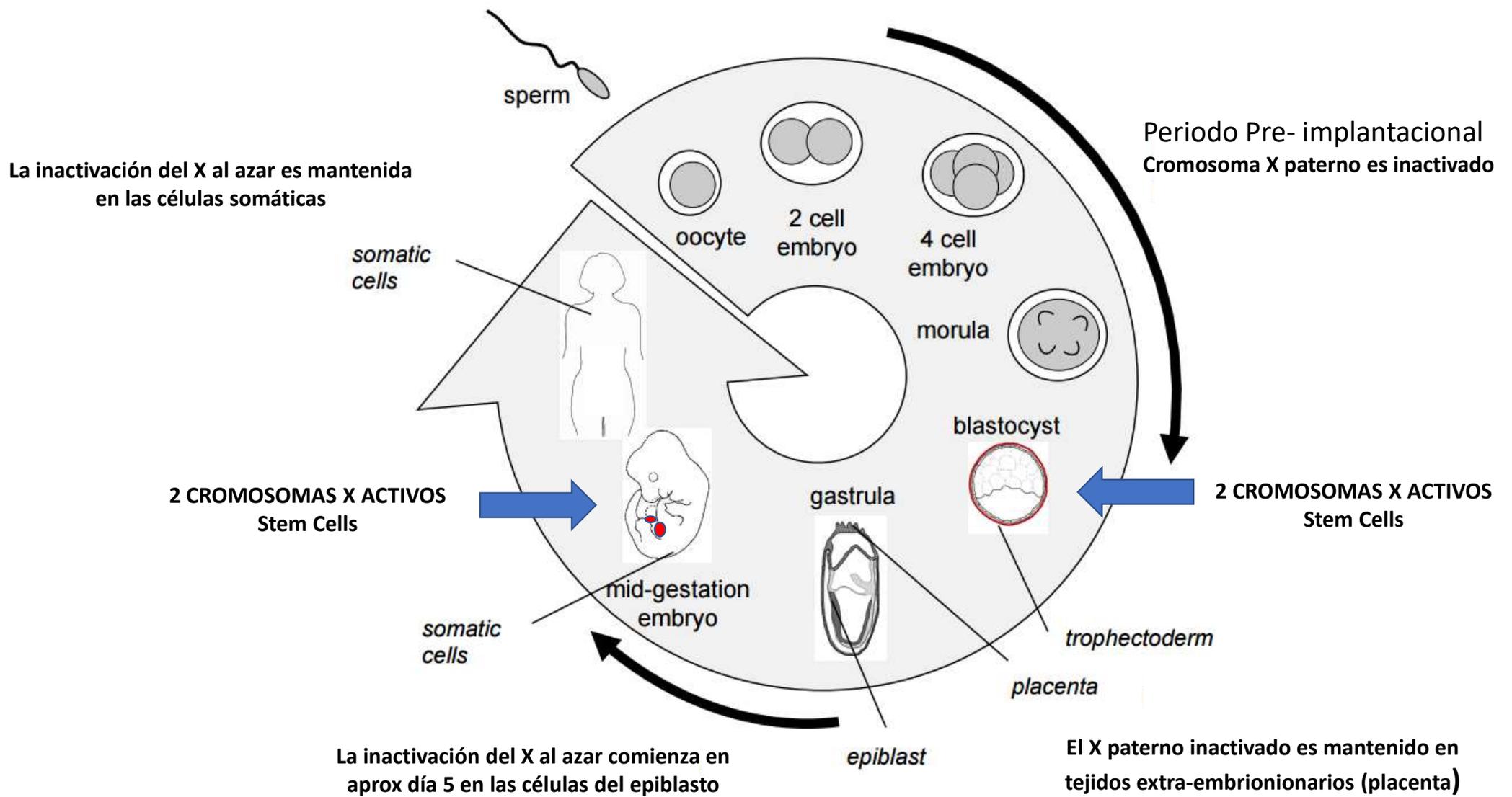
### INACTIVACIÓN AL AZAR

- Ocurre en la gastrulación (epiblasto).
- Ocurre en un cromosoma X paterno o materno, una vez inactivado es mantenido en las células hijas.



### INACTIVACIÓN SELECTIVA (POR IMPRONTA)

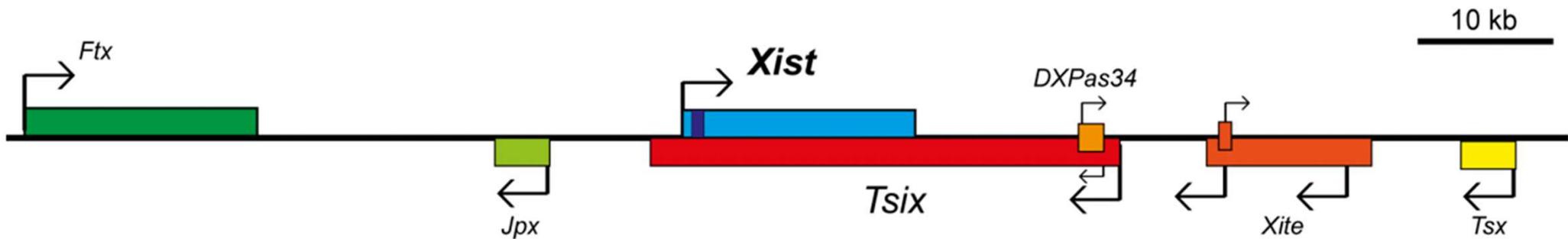
- El cromosoma X paterno es silenciado selectivamente.
- Ocurre en el tejido embrionario preimplantado y en la placenta.
- Ocurre en todos los marsupiales.



## ETAPAS DE LA INACTIVACIÓN DEL X

- ✓ Conteo de cromosomas X. X:A ratio ¿se requiere para determinar la inactivación?
- ✓ Selección del cromosoma X que se inactiva.
- ✓ Inicio de la inactivación, expresión de Xist desde el centro de inactivación (XIC)
- ✓ Propagación de la inactivación en *cis* a lo largo del cromosoma
- ✓ Establecimiento de la inactivación.
- ✓ Mantenimiento del X inactivo, estable durante la vida de las células.

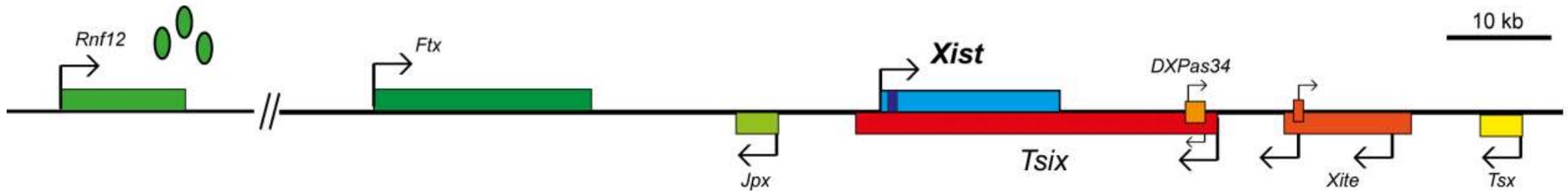
## CENTRO DE INACTIVACIÓN DEL X (XIC)



- ✓ XIC es necesario y suficiente para que ocurra la inactivación del X
- ✓ Los elementos regulatorios de XIC son ARNs no codificantes que regulan a XIST
- ✓ TSIX, DXPas34, Xite y Tsx reprimen a XIST
- ✓ Ftx Y Jpx activan a XIST

## CONTEO DE LOS CROMOSOMAS

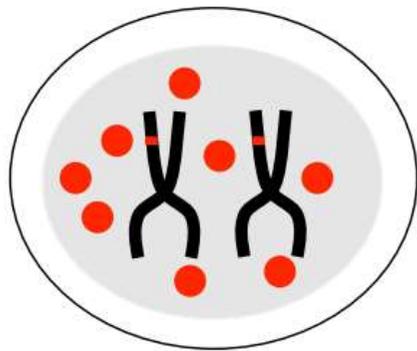
**Rnf12**: E3 ubiquitin-protein ligase, RLIM



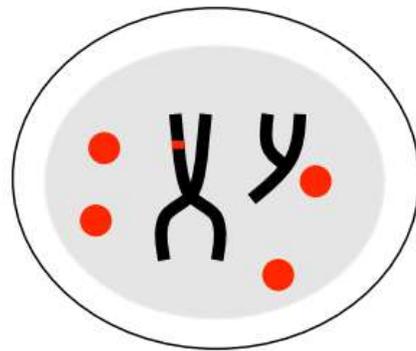
- ✓ Se transcribe a pocas Kb en dirección 5' de XIC.
- ✓ Fue descubierto en 2009 y el umbral de cantidad de la proteína parece estar involucrado en la inactivación del X.
- ✓ Una sola copia de Rnf12 no es suficiente para activar a XIST.

**Rnf12 E3 ubiquitin-protein ligase o RLIM**

**CÉLULA CON 2 X ACTIVOS**

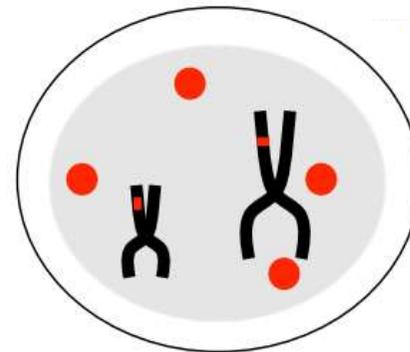


Female XX

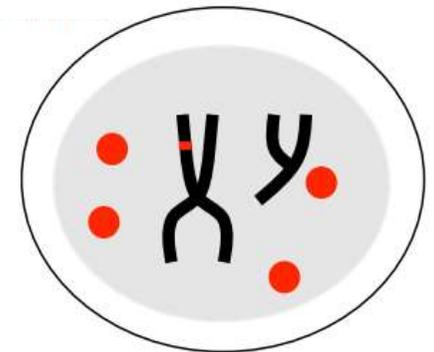


Male XY

**CÉLULAS SOMÁTICAS**

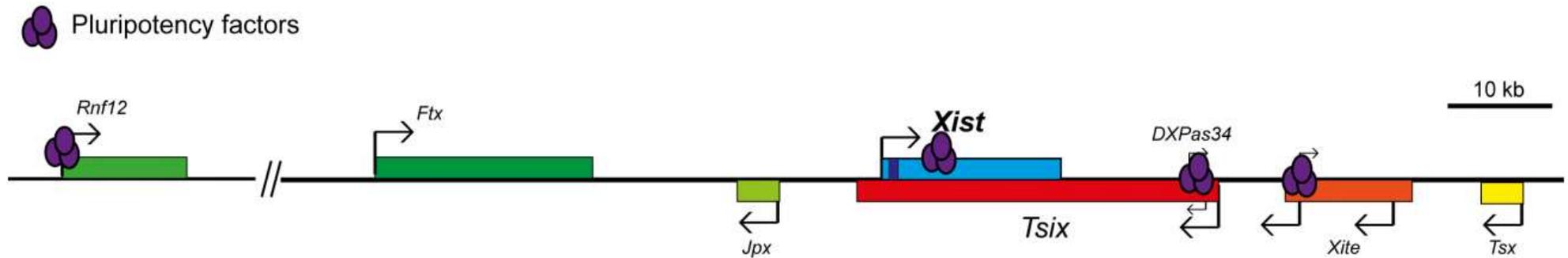


Female XX



Male XY

## REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE XIST



### Factores de transcripción pluripotentes que inactivan a XIST:

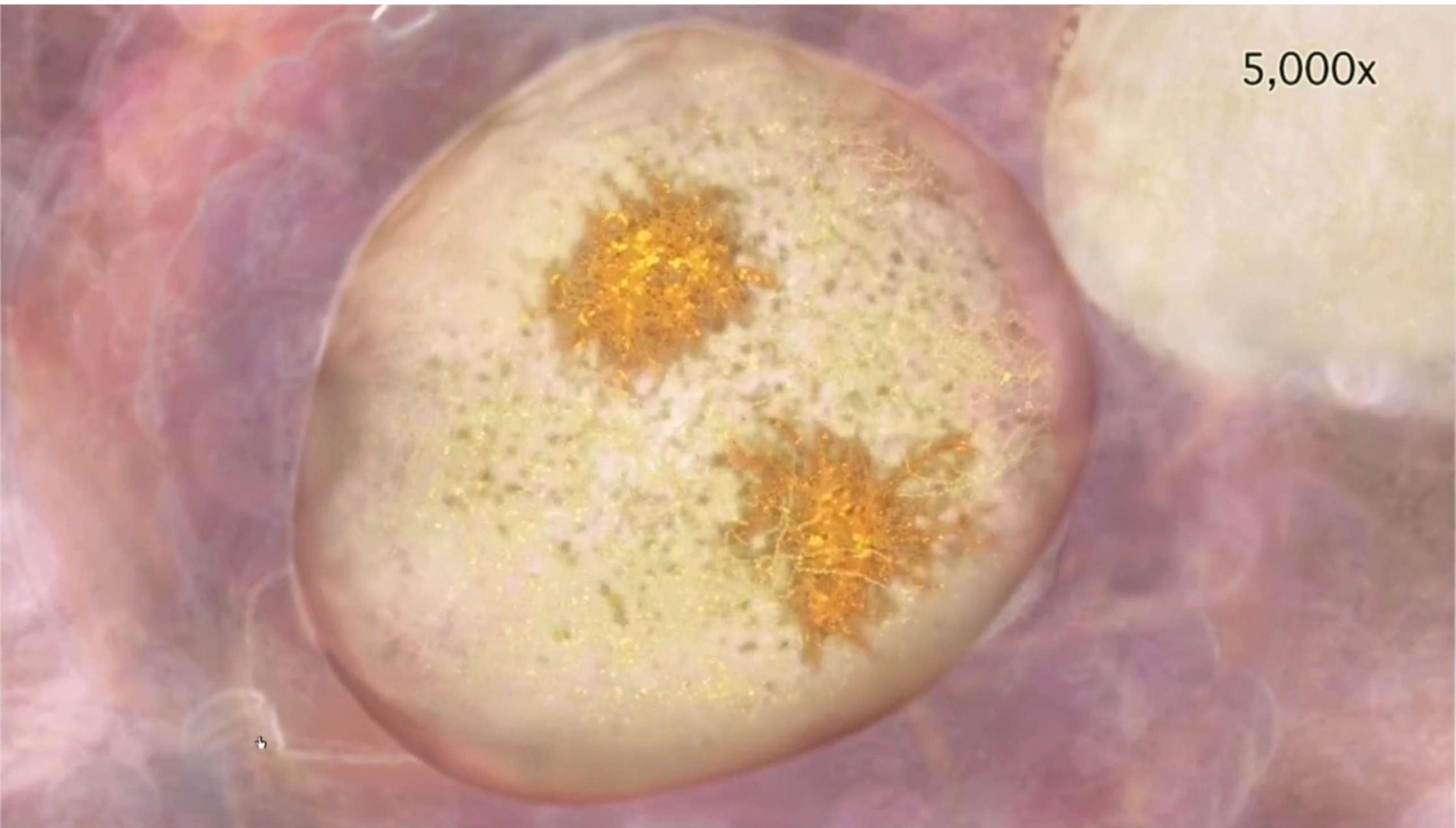
- 1- Reprimen a XIST directamente uniéndose al intrón 1
- 2- Activan: Tsix vía DXPas34 y Xite.
- 3- Reprimiendo a *Rnf12*

Tras la diferenciación, los factores de pluripotencia se reducen, permitiendo la inactivación del X

## SELECCIÓN DEL CROMOSOMA X QUE SE INACTIVA

- ✓ XIC y sus regiones cercanas promueve el apareamiento de los 2 cromosomas X.
- ✓ En ese apareamiento, ocurren probablemente intercambio de factores que permitan determinar cuál cromosoma X se inactivará.
- ✓ Una región cercana a XIC llamada XCE en (ratones) que dependiendo de los alelos pueden tender a hacer que se inactive uno cromosoma X u otro.

5,000x

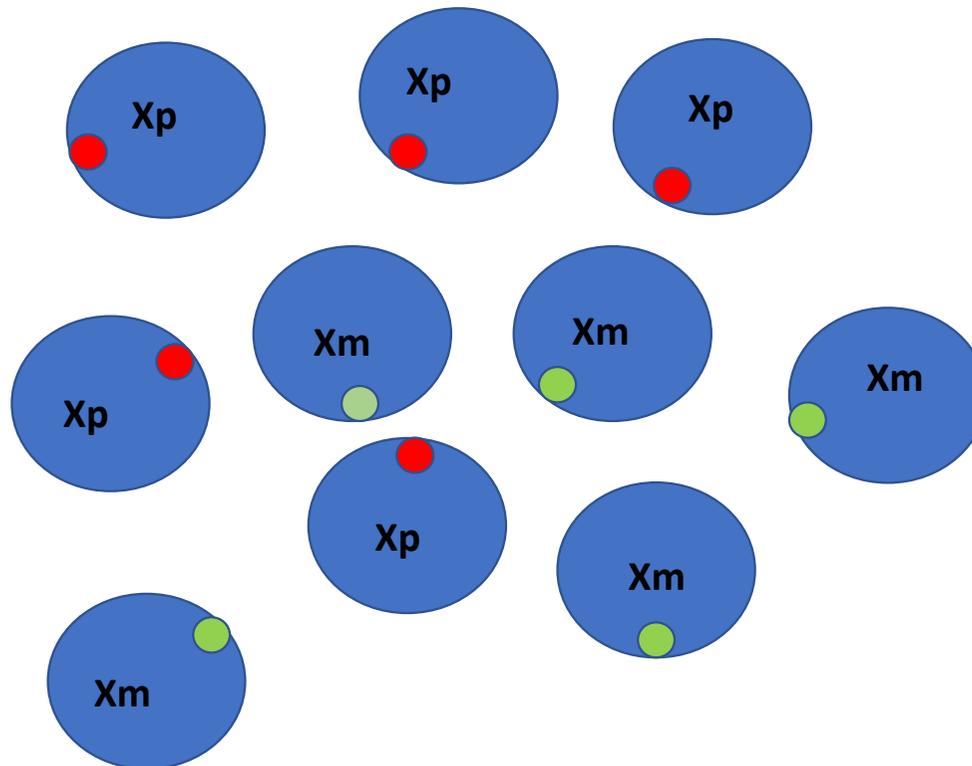


# INACTIVACIÓN SESGADA DEL CROMOSOMA X

50% Xm : 50% Xp

● Xm (materno)

● Xp (paterno)

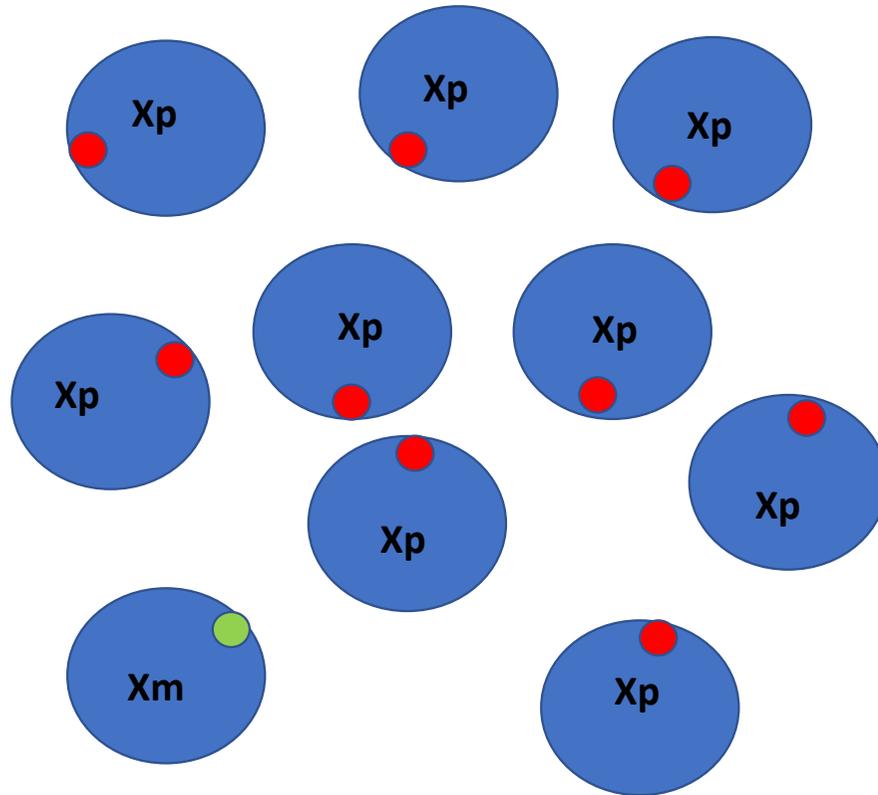


# INACTIVACIÓN SESGADA DEL CROMOSOMA X

90% Xm : 10% Xp

● Xm (materno)

● Xp (paterno)



## INACTIVACIÓN SESGADA DEL CROMOSOMA X

✓ Puede ocurrir que el 95% de los cromosomas X paternos estén inactivados y el 5% maternos activos y viceversa.

✓  $X_{mut}: X$  : Si el 80% de los cromosomas con la mutación está inactivado



menos severa la  
enfermedad

✓  $X_{mut}: X$  : Si el 80% de los cromosomas sin la mutación está inactivado



+ severa la  
enfermedad

## Hemofilia A y B

Hemartrosis

Hemorragias musculares

Hemorragias cerebrales



Hemostasia  
secundaria



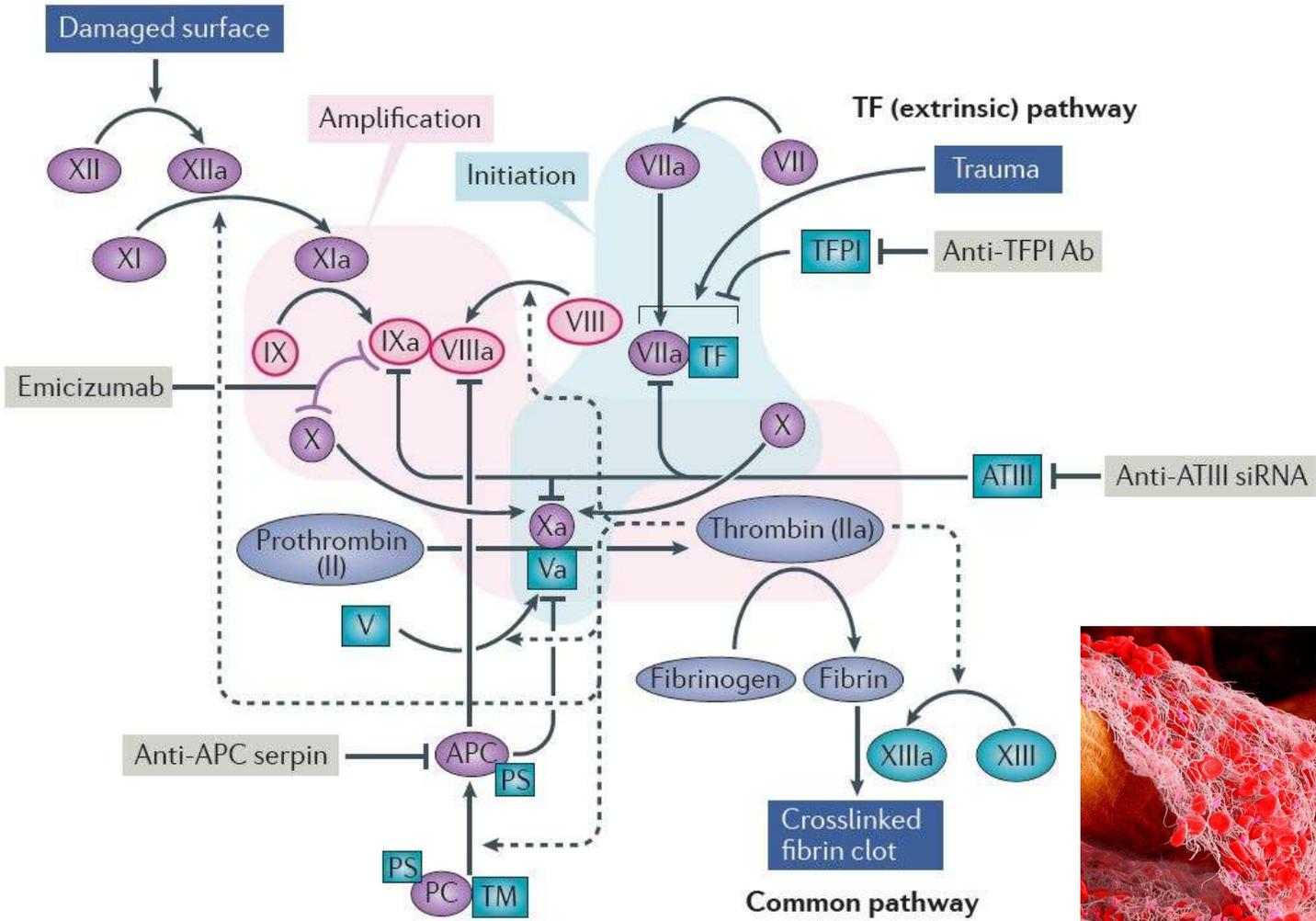
## Tipos

**Severa:** FVIII:C < 1 IU/dL

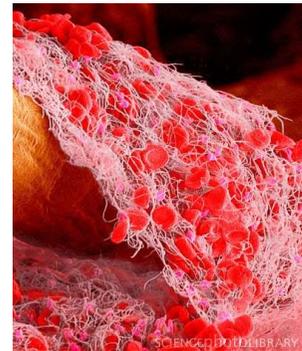
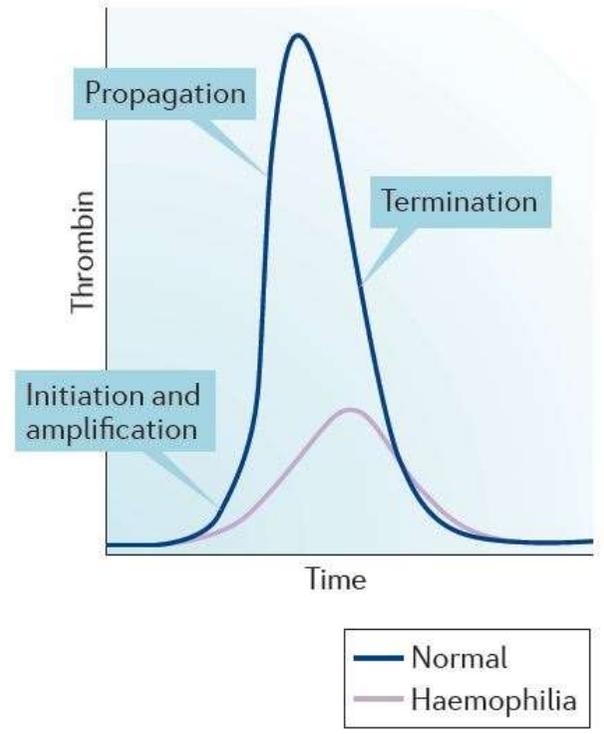
**Moderada:** FVIII:C: 2- 5 IU/dL

**Leve:** FVIII:C: 6 – 40 IU/dL

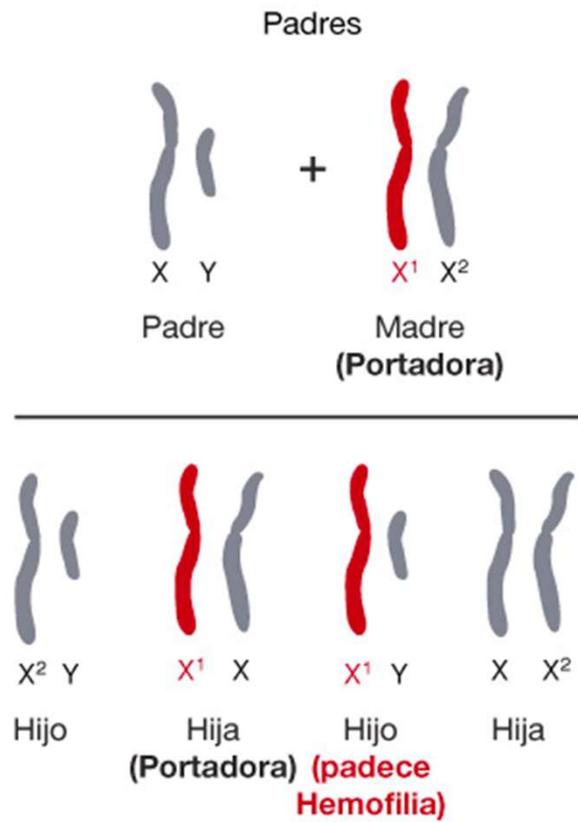
**a Contact activation (intrinsic) pathway**



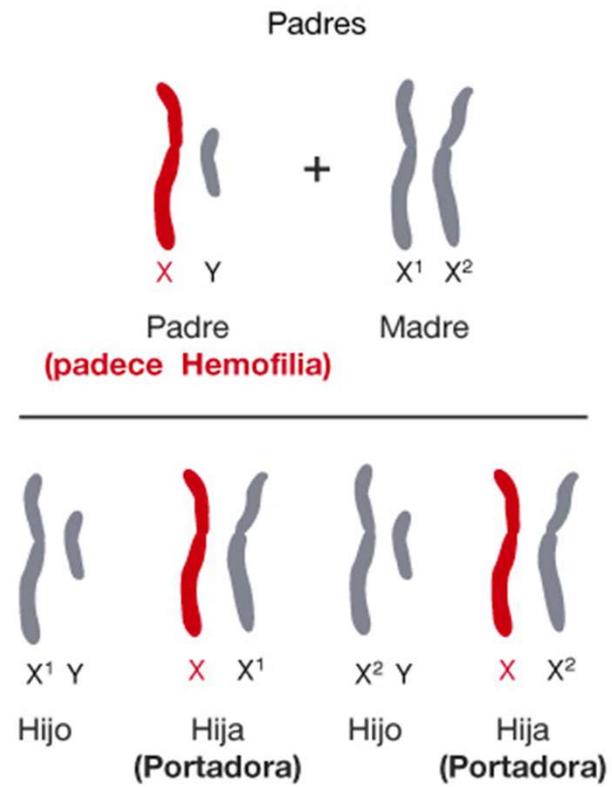
**b**



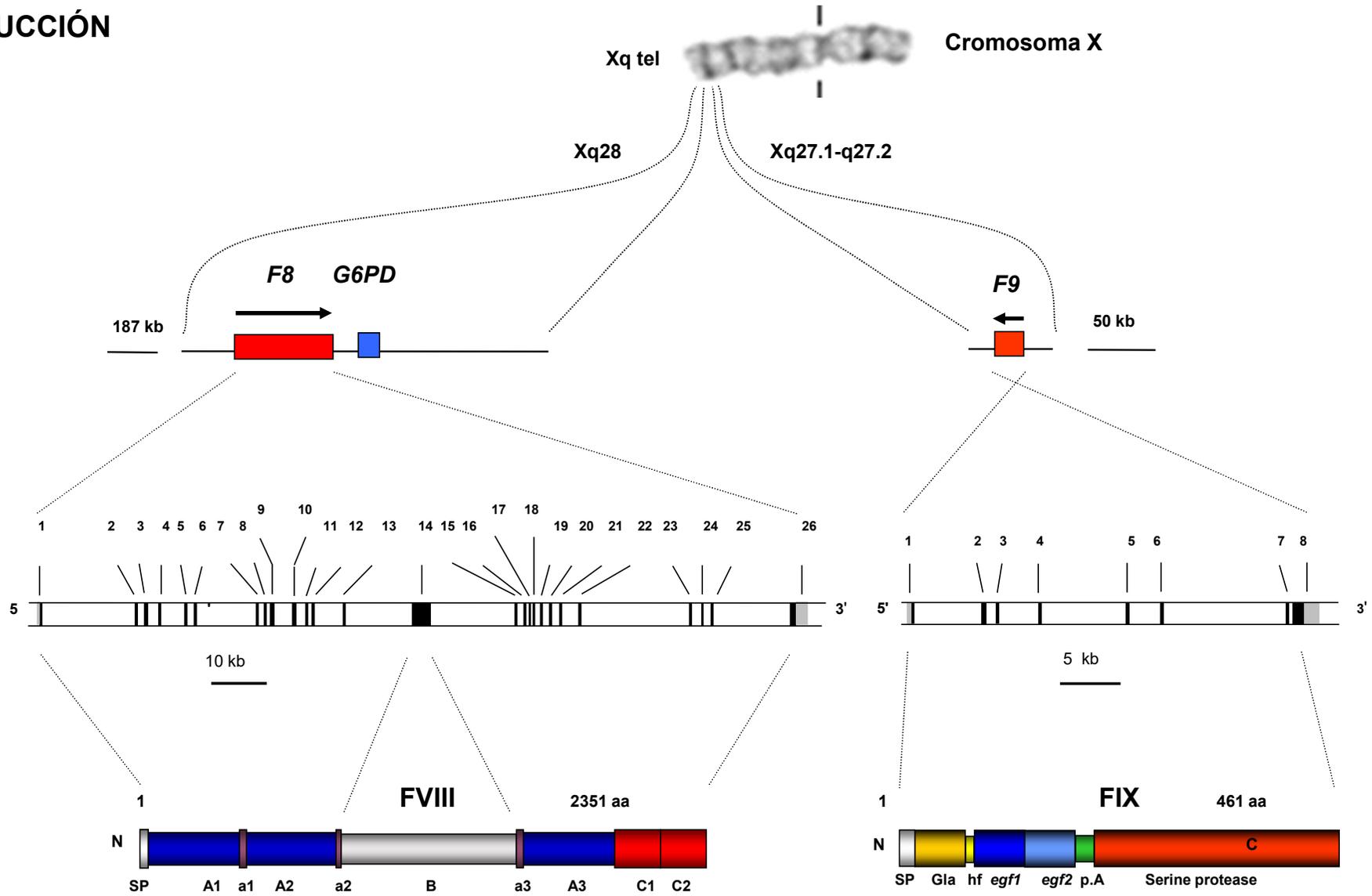
## Hemofilia A F8



## Hemofilia B F9

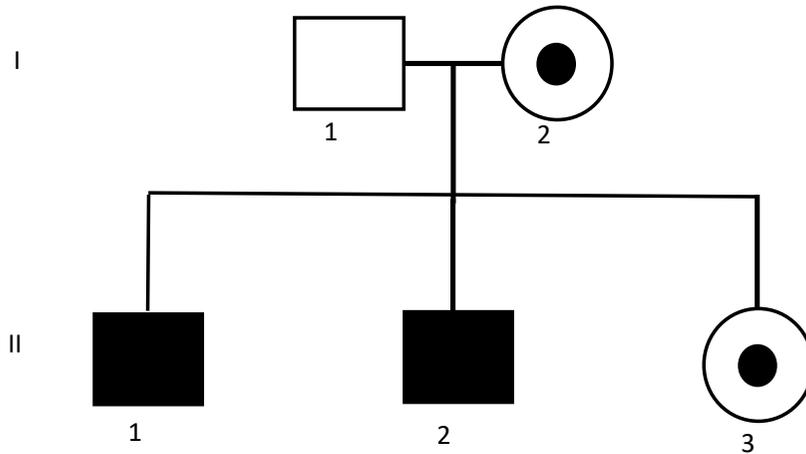


# INTRODUCCIÓN



Familias estudiadas	N Pacientes	INV22-1	INV22-2	INV1
5	8	1	0	2

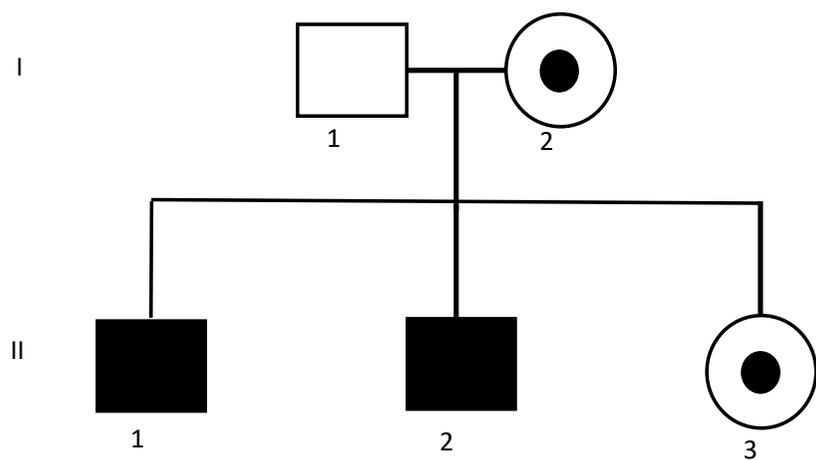
- 1 Familia de Tacuarembó con la INV1.
- 1 portadora de la INV1 con 97 % de la actividad del FVIII.



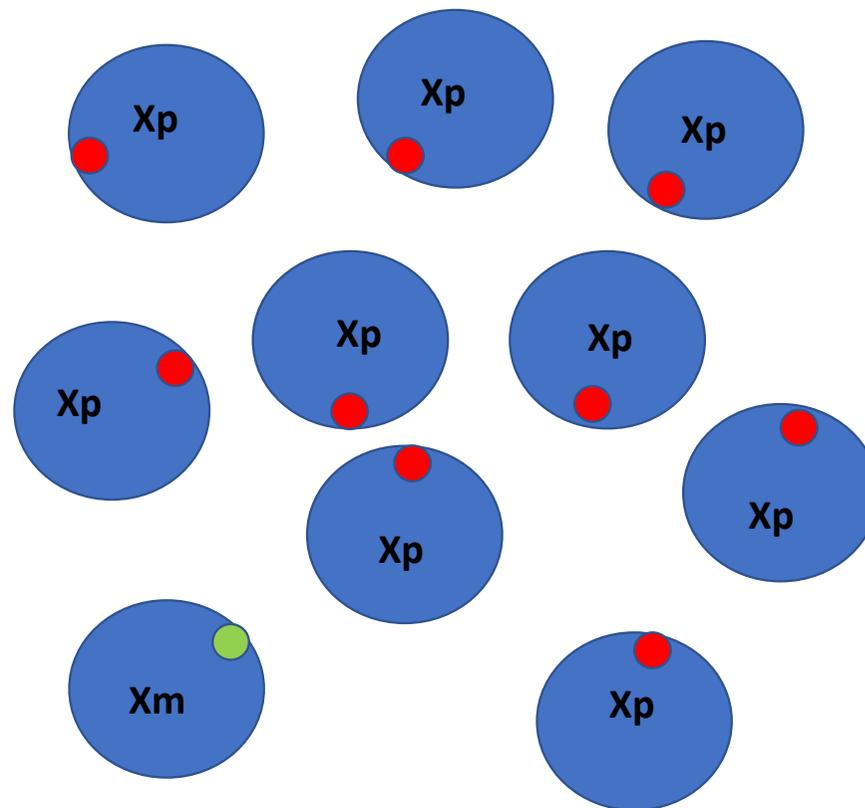
Genealogía. Familia tacuareboense con INV1



- 1 Familia de Tacuarembó con la INV1.
- 1 portadora de la INV1 con 97 % de la actividad del FVIII.



Genealogía. Familia tacuaremoense con INV1

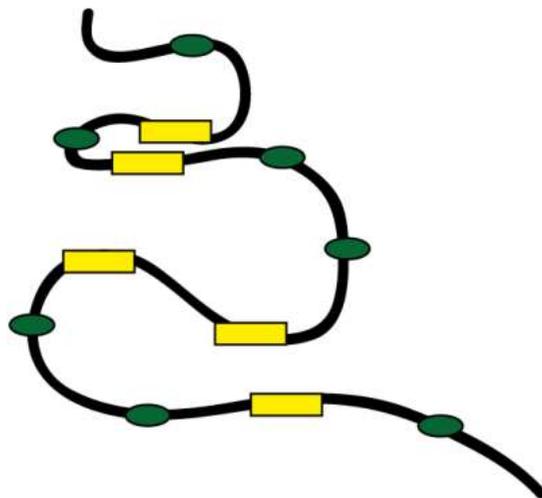


## INICIO Y PROPAGACIÓN DE LA INACTIVACIÓN DEL X

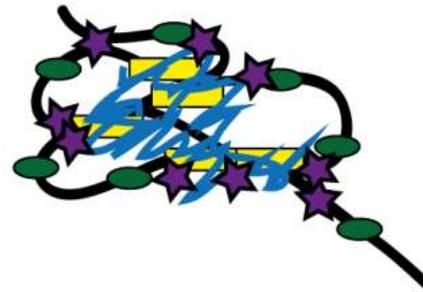
- ✓ El inicio se da con la expresión de XIST.
- ✓ Su expresión se mantiene a lo largo de la vida.
- ✓ Ocurren otros eventos importantes previos a la activación de XIST: Establecimiento de una región silente (exclusión de la RNA pol II).
- ✓ SATB1 y SATB2, factores expresados que pueden iniciar la inactivación y contribuir con el desplazamiento del cromosoma a la región silente.

# INICIO Y PROPAGACIÓN DE LA INACTIVACIÓN DEL X

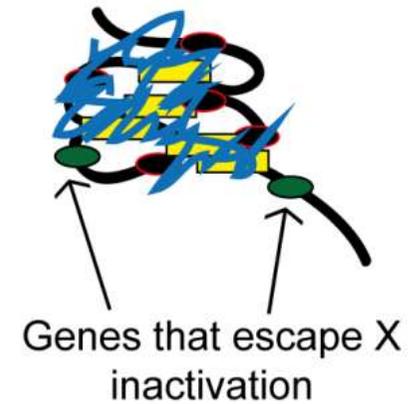
Cromosoma X activo



Inicio de la Inactivación

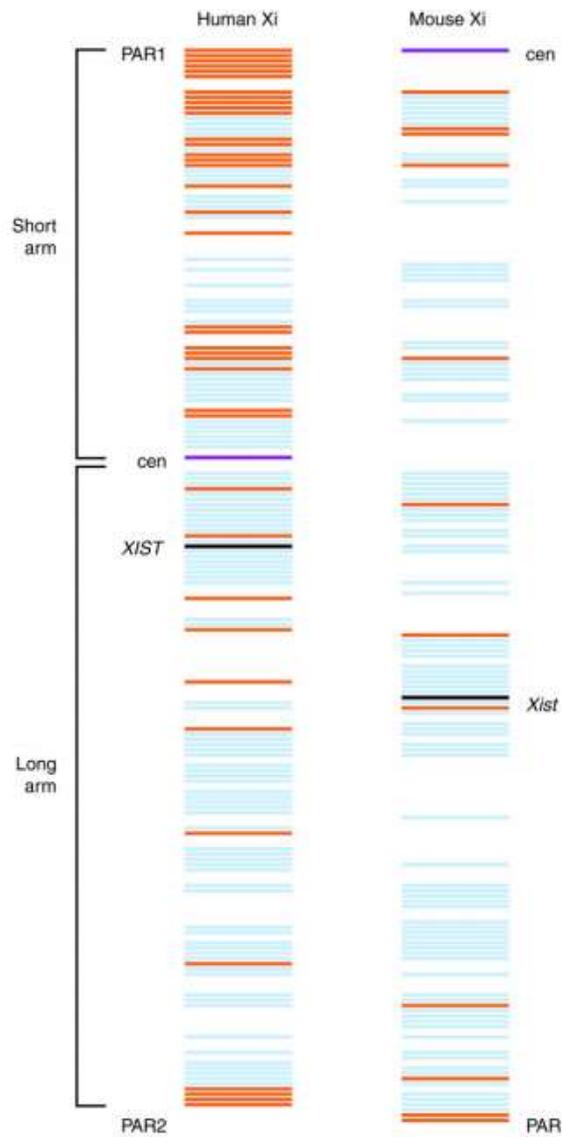


Células somáticas



- Expressed gene
- Inactive gene
- Repetitive element

- ☁ Xist
- ★ Satb1 and Satb2



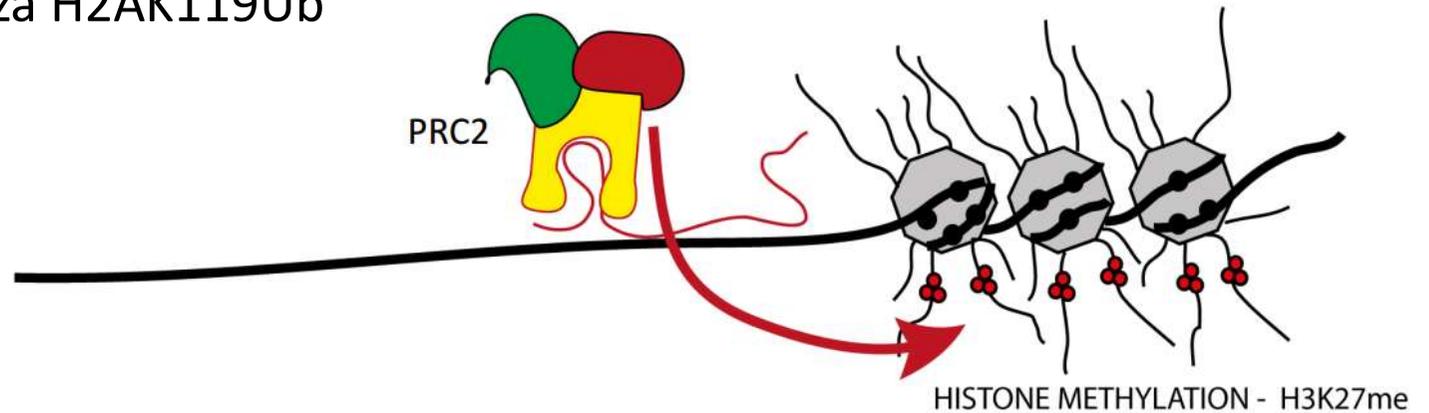
## GENES QUE ESCAPAN DEL SILENCIAMIENTO DEL X

Genes de la región pseudoautosómica que son compartidos con el cromosoma Y.

¿Estos genes que escapan del silenciamiento en las mujeres tendrían doble dosis, lo que podría relacionarse con las diferencias entre hombres y mujeres?

## ESTABLECIMIENTO DE LA INACTIVACIÓN DEL X

- ✓ Pérdida de las marcas epigenéticas: H3ac, H4ac, H3K4me
- ✓ Acumulación de histonas represivas: H3K27me3, H3K9me2 y H2AK119Ub
- ✓ Xist recluta a PRC2 y cataliza H3K27me
- ✓ Xist recluta PRC1, cataliza H2AK119Ub



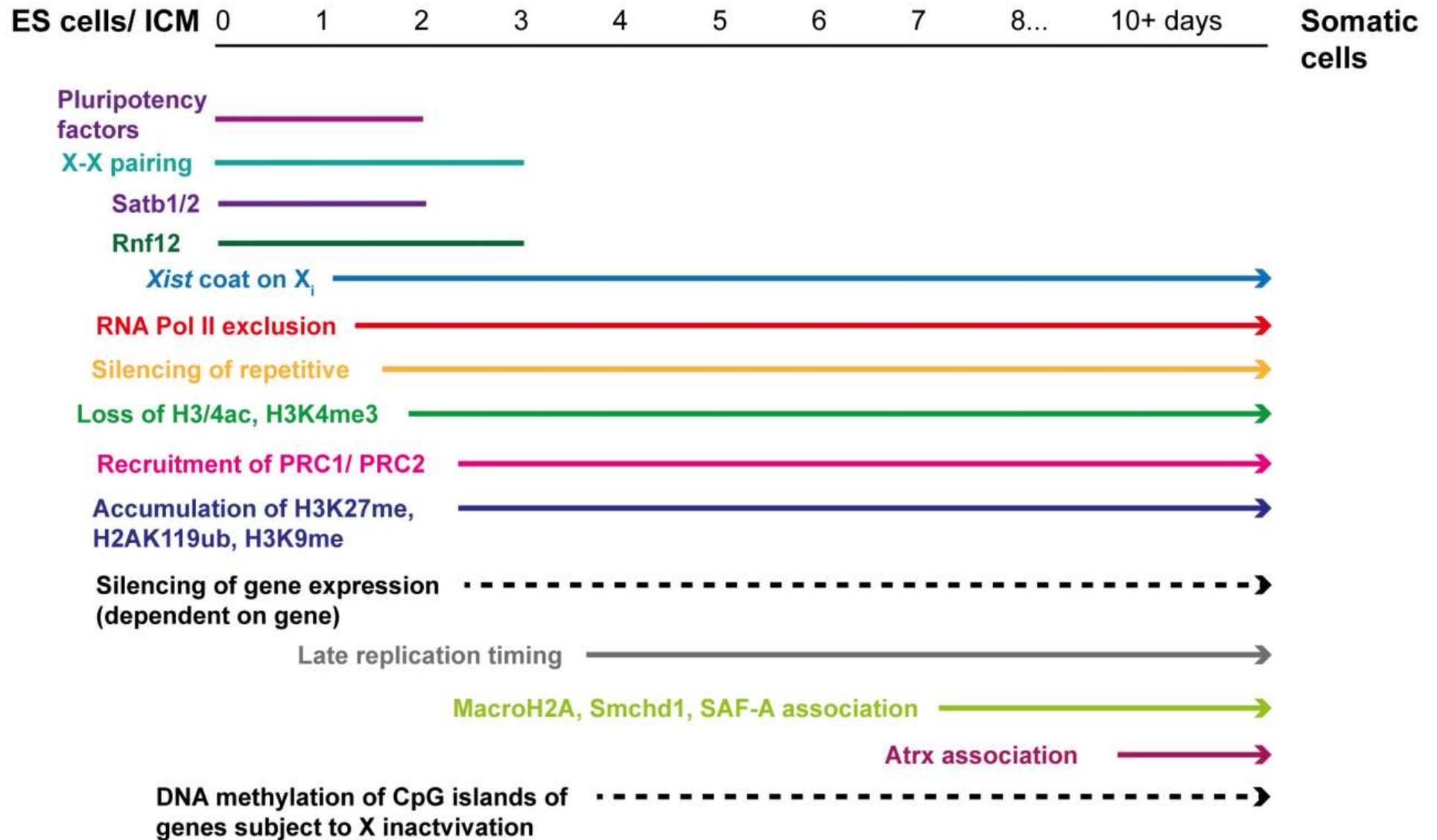
## MANTENIMIENTO DE LA INACTIVACIÓN DEL X

- ✓ **Dnmt1** es uno de los principales mecanismos de mantenimiento de la metilación del ADN.
- ✓ **Smchd1** se une al cromosoma X inactivo el día E13.5, permitiendo el mantenimiento de la inactivación.

Ratones *Smchd1*<sup>-/-</sup> mueren approx 4-5 días después del inicio de la inactivación del X.

- Xist y el reclutamiento de PRC2 son normales.
- Poca methylation del ADN sobre "X inactivo"

- ✓ **MacroH2A**



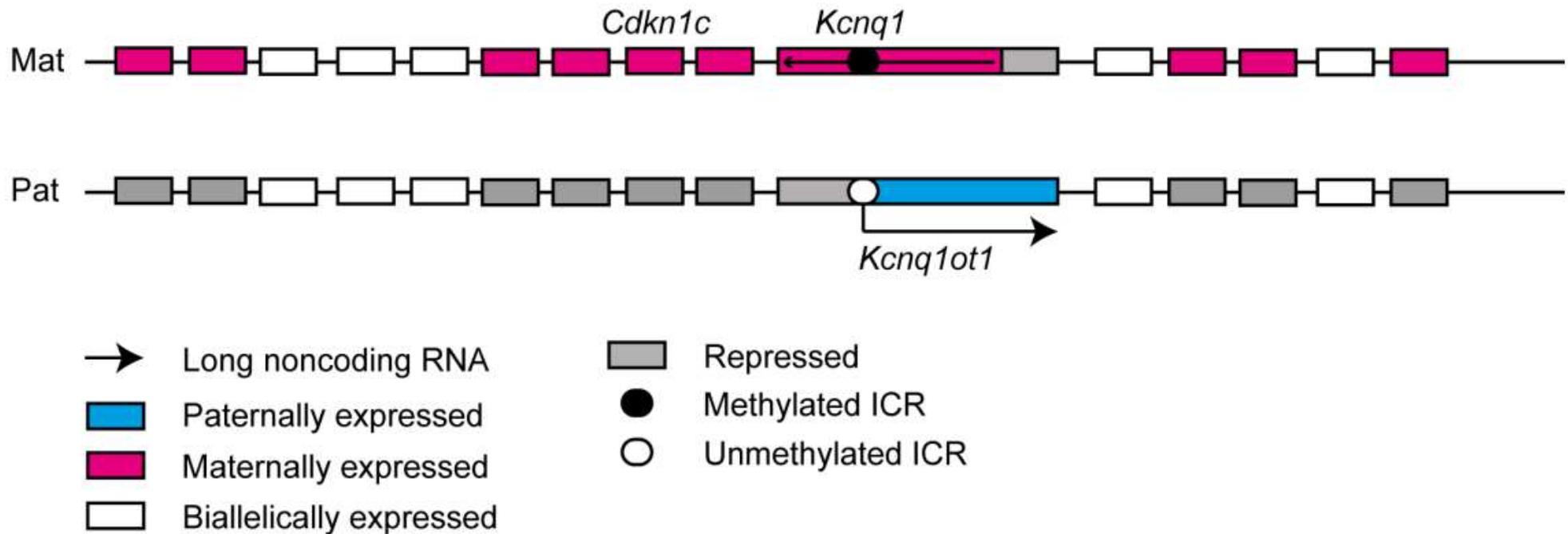
## RESUMEN INACTIVACIÓN DEL X

- ✓ La inactivación del cromosoma X se inicia con la expresión de Xist (long non-coding RNA) el cual cubre el cromosoma X en *Cis*.
- ✓ XIC se aparea entre los 2 cromosomas X.
- ✓ Xist genera un compartimiento nuclear de silenciamiento.
- ✓ La dosis de **Rnf12** genera un umbral de cantidad de la proteína parece estar involucrado en el conteo de los cromosomas X inactivados.
- ✓ SATB1 y SATB2, pueden contribuir con el desplazamiento del cromosoma a la región silente.
- ✓ En el establecimiento de la inactivación, existen marcas epigenéticas y complejos proteicos PRC1 Y PRC2
- ✓ En el mantenimiento de la inactivación del X: Dnmt1, Smchd1 y MacroH2A.

## IMPRONTA GENÉTICA

- ✓ Puede definirse como la expresión selectiva de un gen según el origen parental del alelo (paterno o materno).
- ✓ En los humanos existen unos 150 genes que poseen este mecanismo.
- ✓ Los genes con impronta se encuentran normalmente formando grupos y poseen una región de control (**ICR**)
- ✓ Su expresión es tejido específico, encontrándose principalmente en la placenta y en el cerebro.
- ✓ Los mecanismos de acción varían en cada clúster:
  - **Kcnq1** cluster, cromosoma 11: long noncoding RNA
  - **H19/Igf2** cluster, cromosoma 11: bloqueo de enhancer
  - **Snrpn** cluster, cromosoma 15: long noncoding RNA

## IMPRONTA GENÉTICA

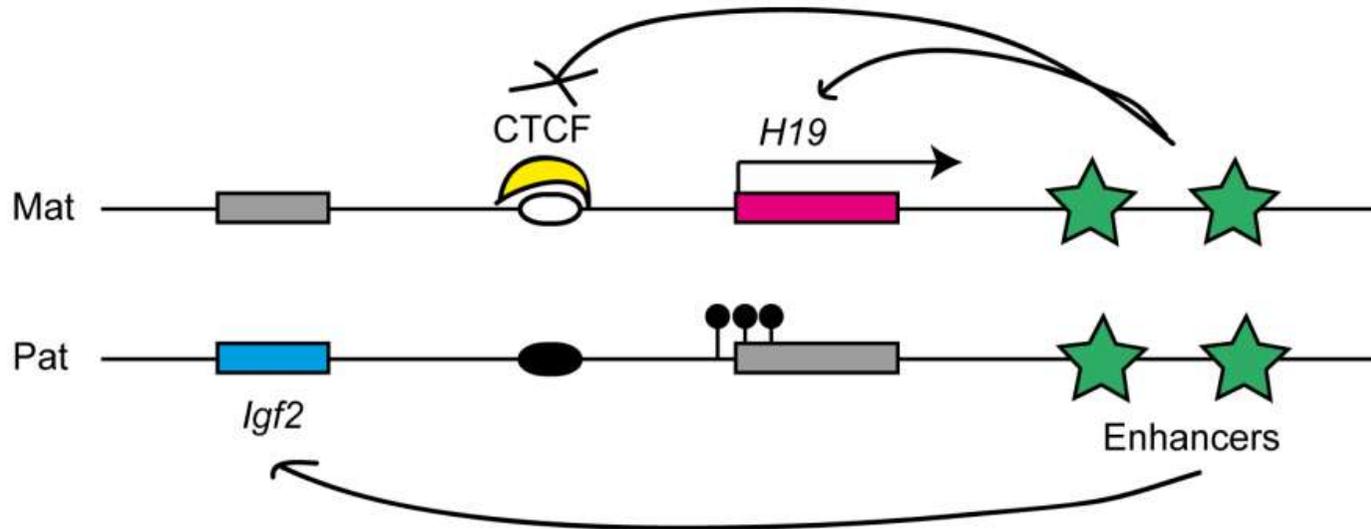


***Cdkn1* (Cyclin-dependent kinase inhibitor 1)** es expresado por el alelo materno, es un regulador del Ciclo Celular, involucrado en la restricción del crecimiento celular.

***Kcnq1ot1*** (long noncoding RNA) recluta a PRC2, generando H3K9me y H3K27me, silenciando en *Cis*.

Mecanismo de acción similar a XIST

## IMPRONTA GENÉTICA



**CTCF** es una proteína aislante, separa a ***Igf2*** (Factor de crecimiento insulínico tipo 2) de la acción de los enhancers.

La metilación de ICR bloquea la unión de **CTCF** y esto permite que se expanda la metilación hasta el promotor de H19.

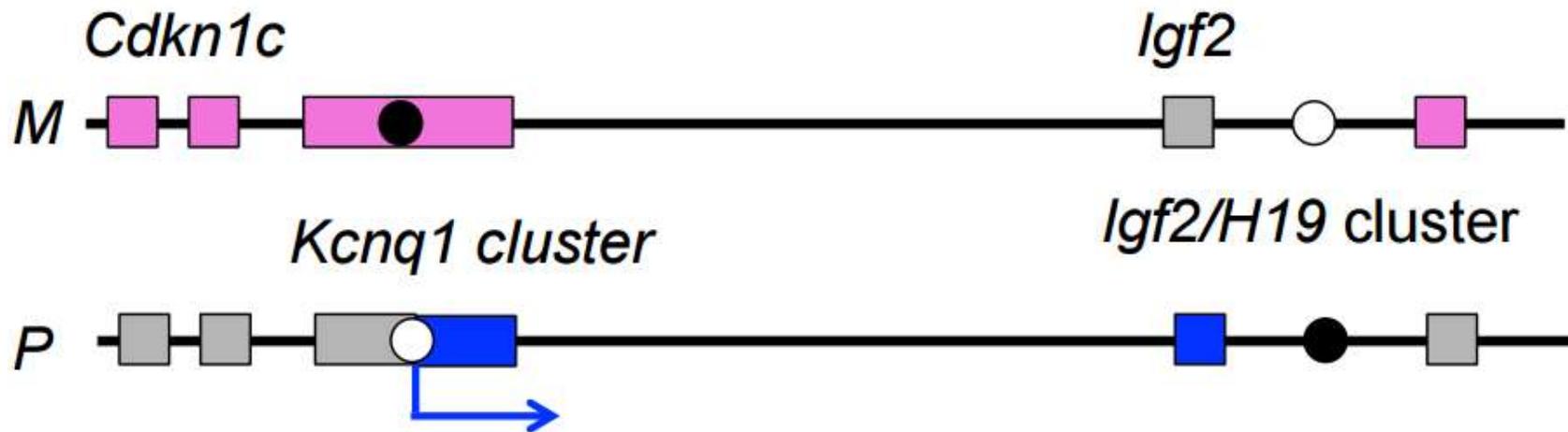
Así los enhancers pueden acceder a *Igf2*.

# Síndrome de Beckwith Wiedemann

Alteración de la impronta que genera diferentes anomalías ligadas a *Kcnq1* y *H19/Igf2* clústeres en 11q15.5 (**1Mb**).

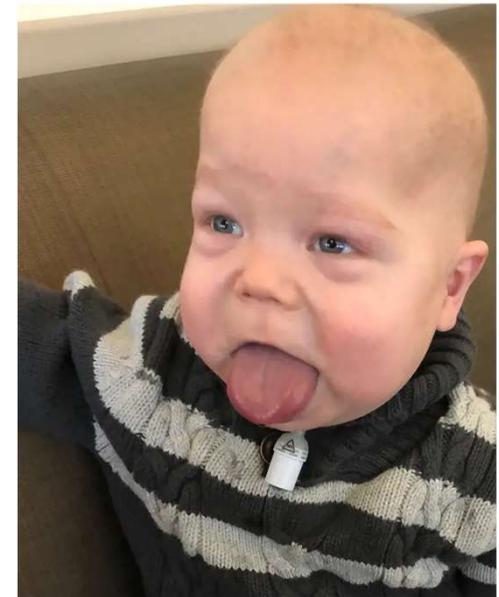
Pérdida de *Cdkn1c* (Cyclin-dependent kinase inhibitor 1) (supresor de tumor).

Sobreexpresión de *Igf2* (Factor de crecimiento insulínico tipo 2) (oncogén).

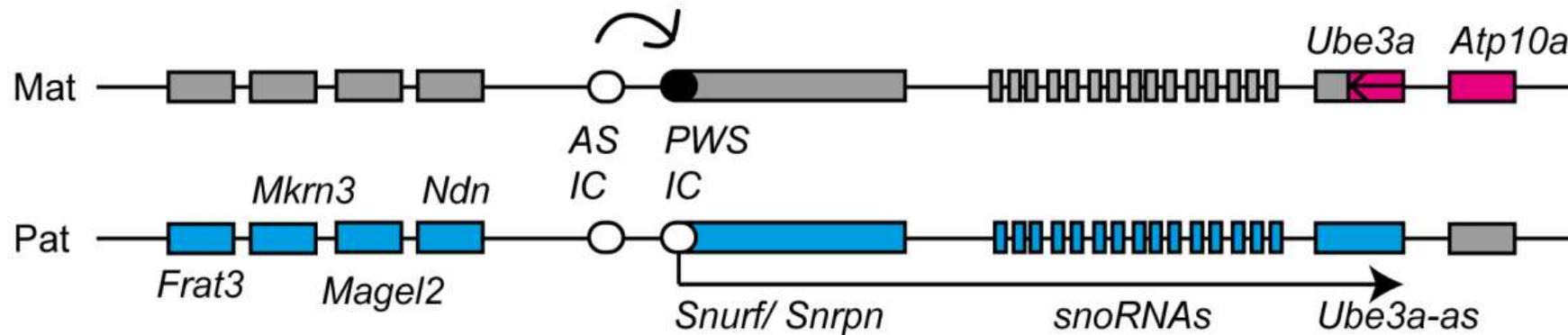


# Síndrome de Beckwith Wiedemann

- ✓ Causado por tener un alelo materno que se comporta como el paterno
- ✓ Se puede producir por mutaciones/ deleciones que causan pérdida de la impronta.
- ✓ Disomía Uniparental, se heredan dos copias del mismo progenitor.
- ✓ Disrupción epigenética (raro)
- ✓ Sobrecrecimiento fetal: Macroglosia.
- ✓ Predisposición a Tumores, ejm tumor de Wilms (Riñon).



# ***Snrpn* cluster** (Small nuclear ribonucleoprotein particles) : long noncoding RNA



Contiene 2 IC: AS-IC y PWS-IC

Alteraciones en este clúster generan el síndrome de Angelman o de Prader Willi.

La metilación de PWS-IC determina la expresión de *Snurf/ Snrpn* long noncoding RNA y produce *snoRNAs* y *Ube3a*-antisentido.

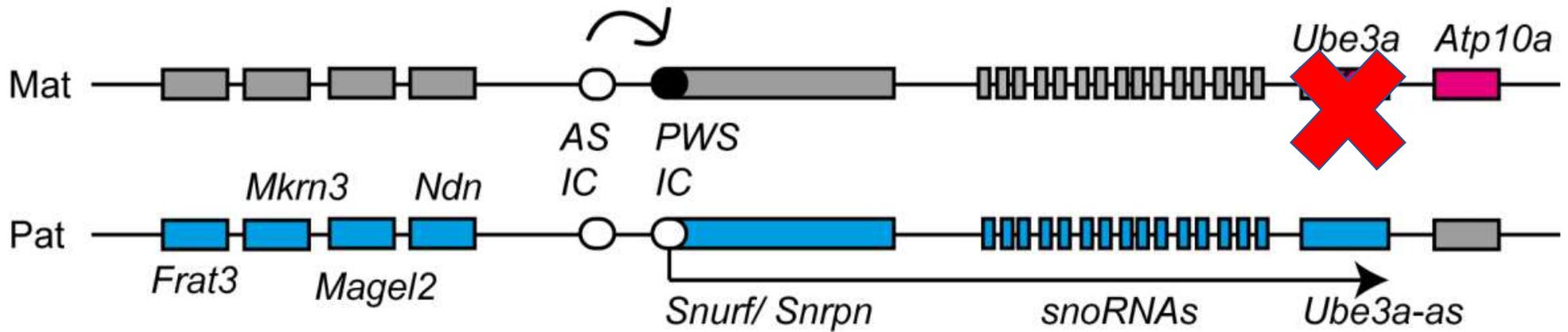
# SÍNDROME DE ANGELMAN

Producido por alteración en la expresión de *Ube3a*

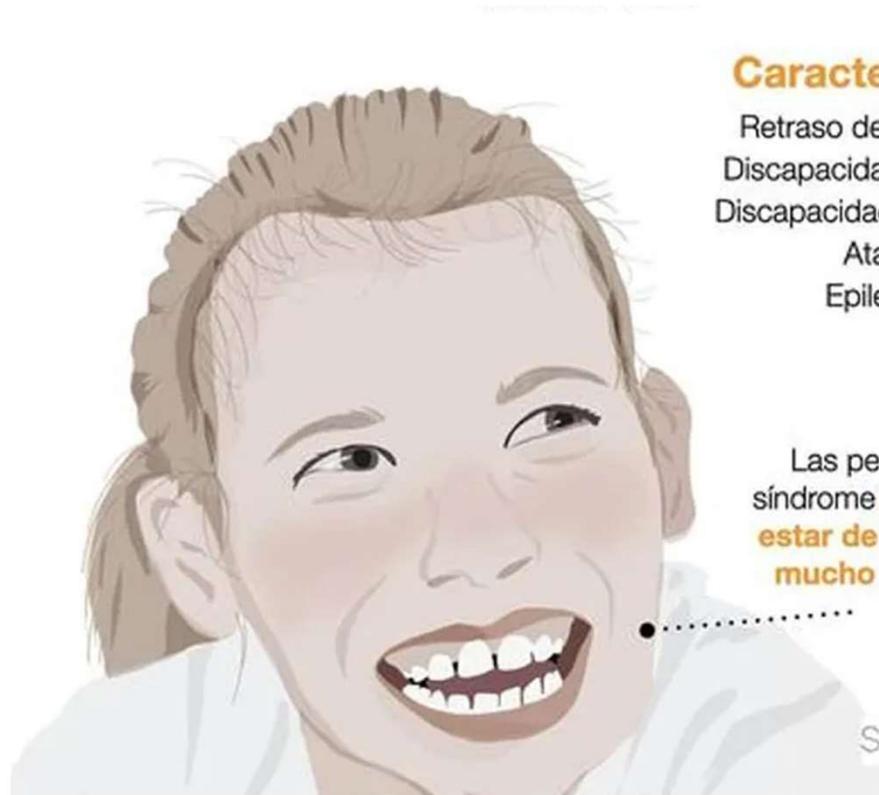
Comunmente causado por deleciones o alteración en el silenciamiento del alelo materno 15q11-13.

Deleciones en AS-IC, generan fallas en la metilación de PWS-IC y no expression de UBE3A en el cerebro

Disomía Uniparental: Disomía Uniparental Paterna.



# SÍNDROME DE ANGELMAN



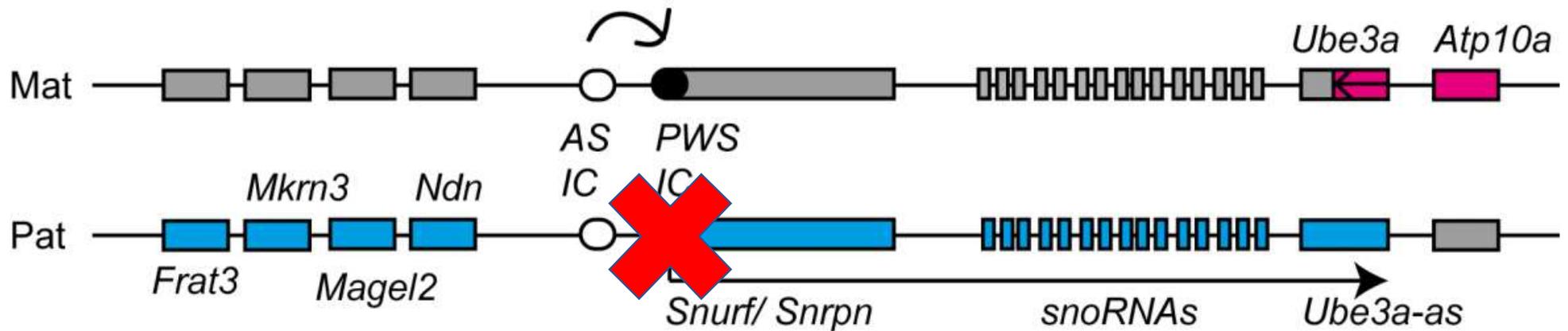
## Características

- Retraso del desarrollo
- Discapacidad intelectual
- Discapacidad para hablar
- Ataxia
- Epilepsia

Las personas con este síndrome **parecen siempre estar de humor y sonríen mucho (risa sardónica)**

## SÍNDROME DE PRADER-WILLI

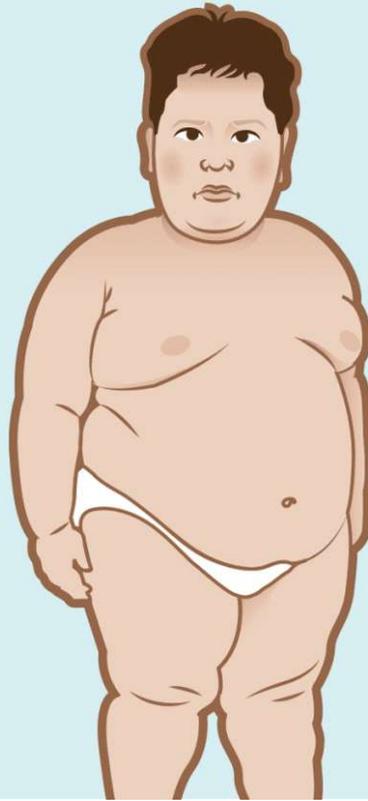
- ✓ Comúnmente causado por deleciones que eliminan la copia paterna de 15q11-13.
- ✓ Produce la no expresión de los snoRNAs quienes cumplen roles de regulación en el cerebro.
- ✓ Deleciones de PWS-IC generan alelo similar al materno (eliminación del sitio de inicio de Snrpn/Snrpn).



# SÍNDROME DE PRADER-WILLI

## EN NIÑOS Y ADULTOS

Algunas de las características más comunes son:



- Incapacidad intelectual leve o moderada
- Desarrollo físico deficiente
- Antojo constante de alimentos, que causa un aumento de peso rápido
- Órganos sexuales subdesarrollados
- Trastornos del sueño
- Retraso del desarrollo motor

## RESUMEN IMPRONTA GENÉTICA

- ✓ Se refiere a la expresión selectiva de un gen según el origen parental del alelo (paterno o materno).
- ✓ Los genes con impronta se encuentran normalmente formando grupos y poseen una región de control (**ICR**).
- ✓ Los mecanismos de acción varían en cada clúster:
  - **Kcnq1 / H19/Igf2** cluster: Su alteración produce el síndrome de Beckwith Wiedemann.
  - **Snrpn** cluster, cromosoma 15: long noncoding RNA: Su alteración produce los síndromes de Angelman/Prader- Willi.



Centro  
Universitario  
Rivera



SEDE TACUAREMBÓ

CENUR  
NORESTE



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

5ta Clase

# EPIGENÉTICA

Yasser V. Vega Requena

[yassve2@gmail.com](mailto:yassve2@gmail.com)

[Yasser.vega@cut.edu.uy](mailto:Yasser.vega@cut.edu.uy)

Prof. Adjunto

CENUR Noreste

Udelar