



Reparación del ADN
Entre la estabilidad del genoma y la plasticidad del epigenoma

Majestad

Señor Presidente de la Junta de Andalucía,

Señor Rector Magnífico de la Universidad de Córdoba,

Señor Ministro de Universidades,

Excelentísimas e ilustrísimas autoridades, compañeras y compañeros de la comunidad universitaria, queridas alumnas, queridos alumnos, señoras y señores.

Quiero expresar, en primer lugar, mi más profundo y sincero agradecimiento a la Universidad de Córdoba por la confianza depositada en mi persona, y poner de manifiesto el gran honor que para mí supone impartir la lección magistral del curso 2021-2022. La inesperada noticia me llenó de orgullo, pero sobre todo la recibí con una gran responsabilidad habida cuenta de la relevancia de este acto y la especial trascendencia que el presente curso académico tiene para nuestra universidad en el que se cumplen 50 de su creación y de mi muy querida Facultad de Ciencias, que durante este medio siglo ha venido desarrollando una intensa actividad docente e investigadora y cuyos logros científicos y de transferencia del conocimiento han contribuido de forma muy significativa a situar a la Universidad de Córdoba en posiciones de liderazgo en materia de investigación.

En esta lección les presentaré los procesos de reparación de ADN como elemento vertebrador que concilia la necesidad de mantener la estabilidad del genoma, con la plasticidad inherente a las funciones propias del epigenoma. Utilizaré la molécula de ADN como hilo conductor para resumir, de forma sencilla, algunos de los logros alcanzados en una disciplina tan joven, pero al mismo tiempo tan nuclear para la biología como es la Genética.

Podemos definir la Genética como la rama de la Biología que estudia la naturaleza molecular de los genes, cómo funcionan en los distintos procesos celulares y cómo se transmiten de una generación a la siguiente. Aunque el fenómeno de la herencia biológica ha intrigado desde siempre al ser humano, los mecanismos responsables no se comprenderían hasta que a principios del siglo XX se redescubrieron los trabajos publicados por Gregor Mendel en 1866. Él definió la presencia de unos "factores" que influenciaban la expresión de los caracteres hereditarios y descifró las reglas que rigen su transmisión a las siguientes generaciones. Nació en estos momentos una nueva disciplina, la Genética. Los "factores" mendelianos se denominaron más adelante genes y a la colección completa de genes de un organismo, el genoma.

El establecimiento del ADN como el material genético de la inmensa mayoría de los organismos supuso un impulso considerable a la expansión de la Genética Molecular y constituyó la base de su desarrollo durante la segunda mitad del pasado siglo. Pero fueron los datos de cristalografía de rayos X obtenidos por Rosalind Franklin (su famosa fotografía 51) lo que posibilitó que Watson y Crick pudieran proponer en 1953 un modelo de doble hélice para la estructura del ADN. Este es probablemente el descubrimiento científico más importante del siglo XX en el ámbito de la Biología. La doble hélice dextrógira, con dos cadenas antiparalelas y un apareamiento complementario adenina-timina y guanina-citosina, sugería un modelo semiconservativo de replicación donde cada cadena sencilla serviría como molde para sintetizar una nueva, permitiendo así la transmisión de la información genética a la siguiente generación.

Desde el principio se asumió que el ADN habría de ser una molécula muy estable, pues tenía que cumplir la misión de transmitir de forma fiel y sin errores la información genética de una generación a la siguiente. Esto, que parecía tan sencillo, resulta ser, de hecho, una tarea titánica para nuestras células. Cada uno de nosotros somos el resultado de la combinación de los 23 cromosomas de un espermatozoide con los 23 de un óvulo. Si hubiéramos extraído las moléculas de ADN de esta primera célula (el cigoto) y las hubiéramos colocado en línea una tras otra, habríamos obtenido una cadena de casi dos metros de longitud con un total de 6400 millones de "letras". Si nos propusiéramos leer cada una de esas letras a una velocidad de una por segundo, tardaríamos más de dos siglos

en leer toda esa información. Tras la fecundación y millones de divisiones celulares más tarde, todo nuestro ADN tiene la longitud suficiente para llegar hasta el sol y volver alrededor de 250 veces. No deja de sorprender que, aunque nuestro material genético haya sido copiado millones de veces, la copia más reciente sea extraordinariamente similar a la de ese cigoto original. Desde una perspectiva puramente química, esto debería ser imposible, ya que este proceso tendría que ser necesariamente propenso a errores aleatorios. Además, la estabilidad molecular de nuestro ADN está constantemente comprometida debido a la aparición continua de lesiones por acción de agentes exógenos y endógenos capaces de reaccionar con él. El ADN se oxida en contacto con el oxígeno (tan esencial para todos los organismos aeróbicos que poblamos este planeta), reacciona con el agua sufriendo hidrólisis, puede acumular toda clase de daños como consecuencia de su interacción con sustancias tóxicas procedentes del propio metabolismo celular o del medioambiente externo y, además, es altamente sensible a las radiaciones ultravioleta e ionizantes que continuamente nos impactan.

Se estima que el ADN de una sola célula acumula decenas de miles de daños cada día. Si multiplicamos ese dato por los más de 70 billones de células que tiene nuestro cuerpo, obtenemos un cuatrillón de daños diarios. Cada uno de nosotros deberíamos de haber sido un caos químico antes de convertirnos en un feto.

Esto no es así gracias a que contamos con un ejército de proteínas especializadas dedicadas en exclusiva a combatir y evitar la aparición y acumulación de daños en nuestro genoma. Son los denominados mecanismos de reparación del ADN.

Cuando el daño afecta solo a las bases nitrogenadas del ADN, las células lo reparan mediante Reparación por Escisión de Bases (BER). Una enzima denominada ADN glicosilasa reconoce y elimina la base dañada y a continuación otra batería de enzimas limpian los extremos e insertan un nucleótido nuevo.

A veces los daños son más complejos y producen grandes distorsiones en el

ADN. Es lo que ocurre tras la exposición a luz ultravioleta o a multitud de agentes químicos. Estas lesiones se eliminan mediante la Reparación por Escisión de Nucleótidos (NER), donde un equipo de proteínas retira el trozo de ADN que contiene la lesión y reemplaza esos nucleótidos por nucleótidos nuevos no dañados.

A veces las bases no están dañadas, sino simplemente mal emparejadas debido a errores cometidos durante la replicación. Para solucionarlo, un conjunto de proteínas reparadoras va detrás de las enzimas que copian el ADN, comprobando que todo el proceso se haya realizado adecuadamente. Si encuentran un apareamiento inadecuado, eliminan el nucleótido insertado erróneamente y lo reemplazan por uno correcto. Este proceso se denomina Reparación de Apareamientos Erróneos (MMR).

No sólo las bases, también el esqueleto azúcar-fosfato puede acumular daños que se traducen en roturas de una o de ambas cadenas del ADN. Estas son lesiones extremadamente peligrosas que se reparan bien mediante Recombinación Homóloga (HR) o por la vía de la Unión de Extremos No Homólogos (NHEJ).

Tomas Lindahl, Paul Modrich y Aziz Sancar recibieron en el año 2015 el premio Nobel por el descubrimiento y caracterización molecular de tres de los mecanismos principales de reparación del ADN.

Estos procesos se revelaron de gran trascendencia para nuestra supervivencia, ya que su funcionamiento anómalo está asociado a situaciones patológicas tales como trastornos neurológicos, metabólicos, procesos degenerativos, envejecimiento y, sobre todo, a la iniciación y progresión del cáncer. Se puede concluir, pues, que mantener intacto nuestro ADN es fundamental para mantener la vida y es comprensible que nuestras células dediquen una enorme cantidad de recursos y energía a preservar la integridad de su genoma.

Dado todo lo expuesto, no es de extrañar que, durante décadas, el ADN se convirtiera en el principal foco de atención de la investigación en Genética. Sin embargo, si la información contenida en el ADN determina todas nuestras

características fenotípicas, algunos fenómenos biológicos resultaban completamente inexplicables. Llama la atención que, a pesar de las extraordinarias diferencias observables en cada uno de los estadios del paso de oruga a mariposa, su secuencia de ADN sea completamente idéntica o que el genoma de una abeja reina sea indistinguible del de una obrera; las diferencias entre ambas no las establece su ADN sino el tipo de alimentación que reciben durante su desarrollo. Sorprende también que la clonación de la gata Rainbow diera lugar a la gatita Carbon Copy, que, siendo una copia exacta de la primera, apenas guarda similitud con ella. De hecho, cada ser humano constituye uno de estos fenómenos inexplicables. Es asombroso que las células que conforman nuestros órganos y tejidos, a pesar de ser tan extraordinariamente diferentes, contengan exactamente la misma secuencia de ADN. Nuestra tendencia a clasificar como no relevante lo que no entendemos, llevó a que estos fenómenos, que se denominaron “fenómenos epigenéticos”, permanecieran inexplicados durante bastante tiempo.

Entre tanto, y con el afán por entender la clave de la vida, surgieron multitud de proyectos de secuenciación de genomas completos, desde bacterias a ratones pasando por plantas e insectos. A finales del siglo pasado se puso en marcha el Proyecto Genoma Humano (PGH) con el objetivo fundamental de determinar la secuencia completa e identificar y cartografiar todos los genes de nuestro genoma. La comunidad científica estaba convencida de que el número de genes contenidos en nuestro ADN sería significativamente mayor que el de cualquier otro organismo; 100.000 genes fue la estimación inicial. Tras 13 años de un esfuerzo colaborativo internacional sin precedentes, en 2001 se publicó el primer borrador del genoma humano y, en 2003, su secuencia prácticamente completa. Resultó que nuestro genoma contenía aproximadamente la misma cantidad de genes que el de un ratón, la mosca del vinagre o una planta como *Arabidopsis thaliana*. Pronto se hizo evidente que la secuencia del ADN por sí sola no explica la gran complejidad biológica de los seres vivos. La pregunta inmediata era: ¿Dónde está la información que falta? Fue entonces cuando volvimos la mirada hacia aquel “cajón de sastre” donde habíamos guardado todos aquellos “fenómenos epigenéticos” que no entendíamos.

Para comprender los hallazgos que se sucedieron a continuación, tenemos que hacer necesariamente un viaje al interior del núcleo celular. El ADN de los organismos eucariotas se encuentra organizado y compactado en el interior del núcleo en forma de cromatina. La unidad básica de la cromatina es el nucleosoma, en el que aproximadamente 150 pb de ADN envuelven un octámero central constituido por ocho moléculas de unas proteínas denominadas histonas. La sucesión de nucleosomas forma un primer nivel de empaquetamiento y la interacción con otras proteínas proporciona niveles de compactación adicional. En esta interacción, las colas amino terminales de las histonas, con una fuerte carga positiva, literalmente abrazan al ADN neutralizando la carga negativa que el esqueleto azúcar-fosfato le confiere.

Durante mucho tiempo se pensó que esta interacción tenía tan solo una función estructural destinada a conseguir que los aproximadamente 2 metros de ADN que contiene una sola célula pudieran ser empaquetados en un núcleo de apenas unas micras. Sin embargo, la interacción del ADN con las histonas es dinámica y flexible, y de hecho se utiliza para controlar procesos tales como la replicación, la transcripción, la recombinación y la reparación. Esta flexibilidad se consigue modificando químicamente las colas terminales de las histonas mediante metilación, acetilación, fosforilación, etc. Las distintas combinaciones de dichas modificaciones constituyen lo que se ha dado en llamar el "código de histonas".

Pero no solo las histonas se modifican químicamente; también lo hace el ADN, en este caso, mediante metilación. La metilación del DNA consiste en la adición de un grupo metilo (CH₃) al carbono 5 de la citosina para generar 5-meC. La presencia de 5-meC en el DNA tiene un efecto represor ya que silencia la expresión génica.

Sabemos ahora que la causa molecular de todos esos fenómenos epigenéticos reside en esas modificaciones químicas del ADN y de las histonas. Tales modificaciones reciben el nombre de "marcas epigenéticas", y se ha propuesto que constituyen una capa adicional de información (el epigenoma) superpuesta a la secuencia de nucleótidos que constituye el genoma. Podemos

considerar dichas marcas epigenéticas como interruptores moleculares que encienden y apagan los genes y que permiten a la cromatina transitar entre dos estados: uno condensado asociado a silenciamiento y otro descondensado que se correlaciona con un alto nivel de actividad génica.

Una característica intrínseca de las marcas epigenéticas es, sin duda, su reversibilidad. No obstante, durante mucho tiempo la metilación del ADN fue considerada, a diferencia de las modificaciones histónicas, una marca epigenética irreversible. Sin embargo, hoy sabemos que ésta puede ser "borrada" del genoma de forma activa. En mamíferos, por ejemplo, el genoma del cigoto se desmetila inmediatamente después de la fertilización, para volver a remetilarse en etapas posteriores del desarrollo. Con ello el cigoto adquiere la totipotencia necesaria para que, tras los procesos de diferenciación, se puedan generar los distintos tipos celulares presentes en nuestro organismo. El mecanismo responsable de dicha desmetilación se buscó con insistencia, pero su naturaleza concreta fue una incógnita sin resolver durante mucho tiempo. Los esfuerzos por identificar la proteína responsable de la eliminación directa del grupo metilo de la citosina fueron titánicos pero todos ellos infructuosos.

La investigación de carácter básico llevada a cabo en otras especies proporcionó las pistas sobre cómo tiene lugar la desmetilación en genomas animales. La información más relevante se obtuvo en plantas, y, en concreto, en la especie modelo *Arabidopsis thaliana*, una pequeña planta de la familia de las crucíferas. Los estudios con *Arabidopsis* revelaron que para desmetilar su ADN, las células vegetales han optado por un mecanismo que normalmente es utilizado para reparar daños en el genoma: la reparación por escisión de bases previamente mencionada. Aunque la 5-meC no es una base dañada, las plantas poseen enzimas que la reconocen como tal y la eliminan sustituyéndola por una citosina sin metilar. Estas Investigaciones revelaron la existencia de un sistema de desmetilación similar en animales. Así pues, tanto en plantas como animales, los mecanismos de reparación de ADN han evolucionado no sólo para mantener la estabilidad del genoma, sino para asegurar la flexibilidad y plasticidad del epigenoma.

Estos avances nos enseñan que la información genética se almacena en un genoma, pero se organiza en muchos epigenomas. Las células combinan así la necesaria estabilidad del genoma, con la oportuna plasticidad del epigenoma pudiendo generar multitud de fenotipos celulares sin alterar información genética. La reparación del ADN es el nexo crucial que conecta ambos procesos.

Podemos entender mejor ahora algunos de aquellos “fenómenos epigenéticos” inexplicables. En cada uno de los estadios del paso de oruga a mariposa, el genoma no cambia, pero sí el número y el tipo de genes que están activos. Las células de la piel, las neuronas o los leucocitos tienen el mismo genoma, pero el paisaje de genes encendidos y apagados, su epigenoma, es completamente diferente.

Podemos afirmar que heredamos algo más que la secuencia de ADN y que somos algo más que un catálogo de genes. Nuestro genoma es idéntico en todas nuestras células y se mantiene inalterado a lo largo de nuestra vida. Los mecanismos de reparación aseguran que su secuencia se transmita intacta división tras división. Las marcas epigenéticas, sin embargo, son heredables, estables y además reversibles. Eso implica que el epigenoma es dinámico, cambia según el tipo celular, se modifica a lo largo de vida y responde a señales medioambientales.

La epigenética está arrojando luz a aspectos de la biología que hasta ahora permanecían inexplicados. Entendemos ahora por qué los gemelos monocigóticos son indistinguibles al nacer, pero conforme envejecen divergen tanto en apariencia física como en susceptibilidad a desarrollar determinadas enfermedades. Sus genomas son idénticos y, con pequeñas excepciones, se mantienen inalterados a lo largo de su vida, pero sus epigenomas se modifican de forma significativa como consecuencia de su estilo de vida y su interacción con el ambiente.

La exposición a radiaciones, a agentes como el tabaco o incluso lo que comemos tienen un impacto muy significativo sobre el paisaje epigenético

celular. El efecto de la nutrición en nuestros genes quedó demostrado con datos como los obtenidos con los ratones Agouti. El ratón de la izquierda, además de color de pelaje claro, tiene diabetes, obesidad, alta propensión a padecer cáncer y una vida media mucho más baja que el de la derecha. Sorprende saber que la única diferencia entre estos dos ratones es la alimentación que tuvo la madre mientras ellos estaban en el útero. La expresión del gen Agouti está regulada por metilación. Cuando la región situada aguas arriba del gen se encuentra desmetilada, se sintetiza un transcrito largo que produce el fenotipo Agouti. Si dicha región se encuentra metilada el transcrito que se genera es corto y el ratón tiene fenotipo silvestre. El suministro de sustancias donadoras de grupos metilo a ratas gestantes resultó en una mayor proporción de ratones con fenotipo normal en la descendencia debido a hipermetilación del gen Agouti. Lo más impactante es que esa hipermetilación, inducida por la alimentación, afecta no solo a los ratones de la primera generación, sino que se mantiene estable y se transmite a las siguientes. La alimentación de la rata gestante tiene un impacto en la salud no solo de su descendencia directa, sino también en la de generaciones posteriores y esto sin alterar ni una sola letra de la secuencia de ADN.

Ejemplos de efectos transgeneracionales similares se han descrito en humanos también. En Holanda, durante un prolongado asedio de las tropas nazis en la Segunda Guerra Mundial, una hambruna causó la muerte de aproximadamente 30,000 personas. Las mujeres que estaban embarazadas durante ese periodo tuvieron hijos e hijas con multitud de problemas de salud que incluían diabetes, obesidad y enfermedades cardiovasculares. Lo asombroso fue comprobar que los individuos de la segunda generación (nietos y nietas) mostraron problemas muy similares a la primera aun cuando ni sus progenitores ni ellos sufrieron desnutrición. En este caso, aunque los cambios genéticos se descartaron rápidamente, era evidente que un efecto hereditario estaba operando. Algún mecanismo de memoria genética se había puesto en funcionamiento, que no afectaba al genoma, pero que transmitía ese impacto medioambiental a las siguientes generaciones. Ese mecanismo pudo ser explicado a luz de la epigenética. Casos similares se han descrito ya, no solo asociados a la desnutrición, sino también relacionados con situaciones

traumáticas. Las hormonas como el cortisol generadas en situaciones de trauma psíquico o biológico también producen cambios epigenéticos transmisibles. En definitiva, el epigenoma cambia por interacción con el medio ambiente y esos cambios se pueden transmitir entre generaciones.

Todo esto lleva necesariamente a preguntarnos cómo afecta la epigenética a distintos aspectos de nuestra salud. Pues bien, cada vez está más claro que los factores epigenéticos están detrás de situaciones patológicas como las enfermedades neurológicas, autoinmunes, cardiovasculares, los procesos de envejecimiento o el cáncer. Sabemos ahora, por ejemplo, que las células cancerosas, además de mutaciones en genes implicados en el control del ciclo celular o en la reparación del ADN, también son portadoras de importantes alteraciones epigenéticas responsables de catalizar y promover la progresión tumoral.

Nuestra salud, personalidad, gustos y apariencia no son solo el producto de nuestros genes, sino que la naturaleza y la crianza están intrincadamente unidas y la epigenética es el vínculo biológico tangible entre ambos factores.

Apenas ha transcurrido un siglo y medio desde que Mendel descifrara las reglas que rigen la transmisión de los caracteres hereditarios. No puedo imaginar dónde nos llevará otro siglo y medio de investigación en Genética. En solo unas décadas, avances extraordinarios han ocurrido en el campo de la epigenética que nos han ayudado a comprender mejor quiénes somos, cuál es la relación con nuestro ambiente y cuál es el vínculo entre generaciones. Sin embargo, todo lo aprendido es solo la punta de un gigantesco iceberg lleno de cuestiones aun por desgranar, tales como el descifrado del código epigenético, la herencia epigenética, el impacto del medioambiente en la salud y la enfermedad, la naturaleza de la memoria celular, la impronta genética, la reprogramación nuclear, el envejecimiento, o la edición epigenética.

Los avances futuros se habrán de sustentar necesariamente sobre los cimientos del conocimiento generado a la luz de la investigación. Solo así podremos abordar de forma certera los grandes retos que afectan hoy a la humanidad y

que comprometen el bienestar de las generaciones venideras. Quiero terminar enfatizando la necesidad de fortalecer la investigación científica en todas sus facetas y en todos los ámbitos del conocimiento y, en particular, la investigación básica. Detrás del sistema CRISPR-Cas, esa potente herramienta que hoy nos permite editar y reescribir el mensaje escrito en nuestros genes, o detrás de las vacunas que están doblegando esta terrible pandemia y que han sido desarrolladas en tiempo record, hay más de 30 años de investigación básica. Ninguno de estos y otros hallazgos surgieron por generación espontánea. La transferencia del conocimiento no es posible sin la investigación básica, la cual es, a su vez, el resultado del desarrollo lento, sostenido y profundo del conocimiento.

Finalizo con las palabras que Aristóteles escribiera hace 2000 años “somos animales racionales que buscamos el conocimiento por el hecho mismo de conocer”. En la modesta opinión de quien les habla, hoy, más que nunca, esa generación de conocimiento es, ante todo, una necesidad.

Muchas gracias