

Presentation

Goals

Methodology

Seminars

Practicals

Course materials

Evaluation

Schedule

## + Course Contents

+ Tema 1. Geografía del Genoma Humano

+ Tema 2. El Genoma Humano en acción

+ Tema 3: Origen de la...

+ Tema 4. Ligamiento g...

+ Tema 5. Bases molecu...

+ Tema 6. La mutación ...

+ Tema 7. Potencial pa...

+ Tema 8. Efectos feno...

+ Tema 9. Bases genéti...

+ Tema 10. Diagnóstico...

+ Tema 11. Genética Cl...

11.1. Genética clíni...

11.2. Enfermedades d...

11.3. Estructura de ...

11.4. Inactivación d...

11.5. Enfermedades d...

11.6. Aplicación del...

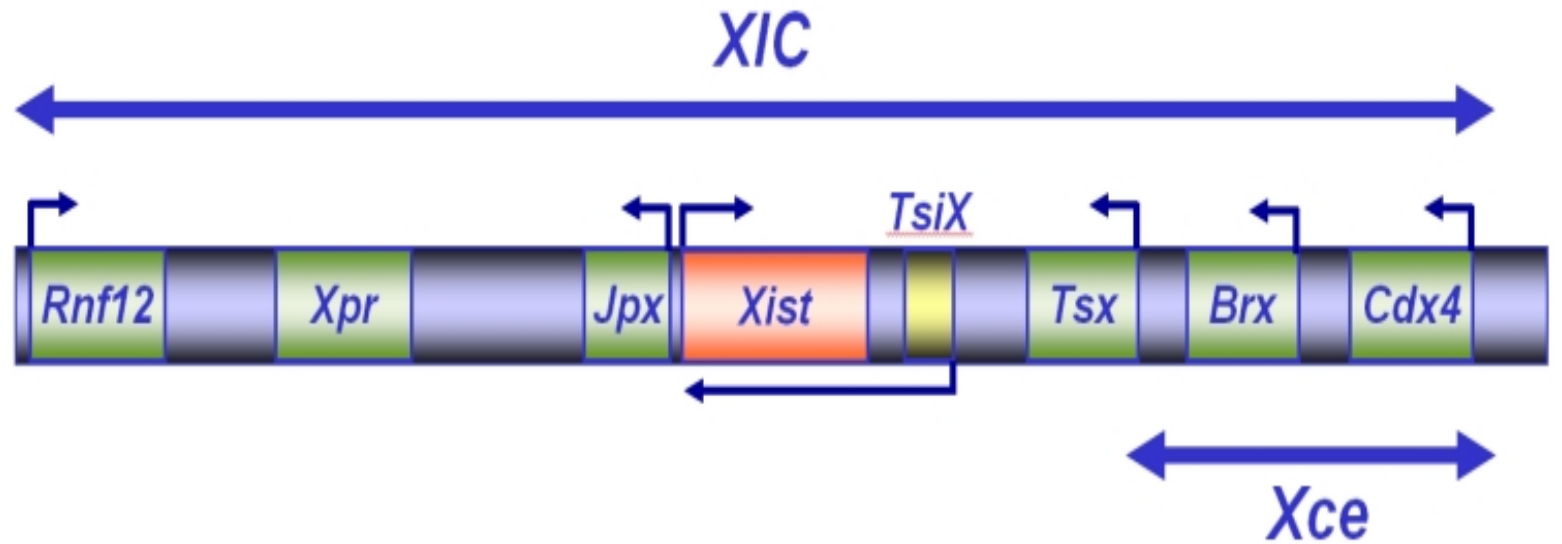
11.7. Enfermedades p...

+ Tema 12. Terapia Gén...

## Tema 11.4 Inactivación del cromosoma X.

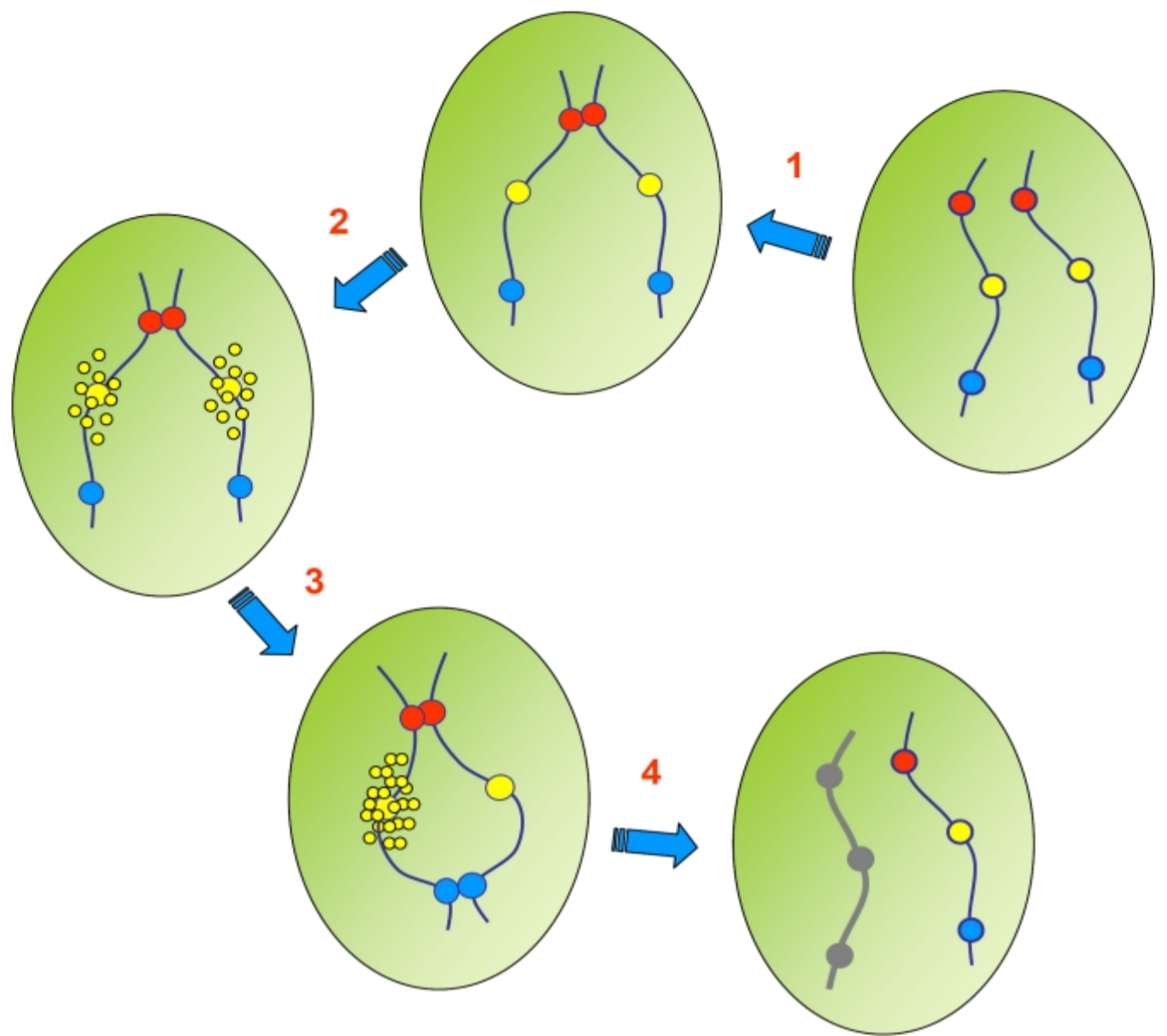
La distinta dotación cromosómica de ambos sexos supone que las mujeres (XX) tienen **doble dosis** de los genes presentes en el cromosoma X, en comparación con los varones XY. El distinto número de cromosomas X que lleva cada tipo de gameto (uno en el gameto femenino y ninguno en el masculino), plantea una cuestión fundamental: ¿cómo es posible que la distinta dosis de los genes contenidos en el cromosoma X no provoque grandes problemas fenotípicos en varones? De hecho, mujeres con un solo cromosoma X (cariotipo 45,X0) desarrollan el **Síndrome de Turner**. ¿Por qué no sucede esto en varones, que tienen un solo cromosoma X? **Murray Barr** describió en 1949 que las células femeninas se podían distinguir por la presencia en su núcleo de un corpúsculo de cromatina, pegado a la pared interna del núcleo, que pasó a conocerse como **corpúsculo de Barr**. Posteriormente, se comprobó que el corpúsculo de Barr se ajusta a la llamada "**regla (n-1)**", según la cual el número de corpúsculos de Barr de una célula es igual al número de cromosomas X que posee esa célula (n) menos 1. Estas observaciones se completaron cuando **Susumu Ohno** demostró en 1959 que el corpúsculo de Barr corresponde a un cromosoma X condensado en forma de heterocromatina y propuso que uno de los dos cromosomas X está inactivo en células somáticas, de manera que sólo se expresan los genes del cromosoma X que permanece activo. En 1961 **Mary Lyon** formuló la hipótesis de que dicha inactivación se lleva a cabo **al azar en fases precoces del periodo embrionario**, y queda fijada una vez que se establece. Según esta hipótesis, todas las células hijas procedentes de una célula en la que se ha producido la inactivación tendrán el mismo patrón de inactivación que la célula original. Esta hipótesis permitía explicar la expresión de algunos rasgos ligados al cromosoma X, tales como el **color del pelaje en los gatos**, en el que las gatas (que se conocen como gatas calico) muestran a veces manchas o bandas de color negro, naranja y blanco, mientras los gatos macho son de color totalmente negro o totalmente naranja. El proceso de inactivación también explicaría el **patrón en mosaico de algunas enfermedades dermatológicas** causadas por genes que están en el cromosoma X, como la displasia ectodérmica anhidrótica (fenómeno ya descrito por Darwin en 1840). El estudio de las **isoformas de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa** en fibroblastos aislados de mujeres permitió confirmar la hipótesis de Lyon, al observarse la presencia de una sola isoforma en las células de mujeres heterocigotas (que deberían tener dos isoformas distintas). Hoy en día, el fenómeno de **inactivación temprana y aleatoria de un cromosoma X en mujeres** es universalmente aceptado, y se conoce también con el nombre de "**Lyonización**" en honor a Mary Lyon. Mediante este mecanismo, las células somáticas femeninas tienen uno de sus cromosomas X en estado inactivado, es decir, transcricionalmente silenciado y altamente compactado en forma de heterocromatina. La inactivación del X se realiza al azar mediante un mecanismo de **recuento** que determina el cociente entre el número de cromosomas X y el número de autosomas. Si se detecta más de un cromosoma X, el proceso continúa con la **inactivación**, inicialmente temporal e inestable, de todos los cromosomas X menos uno. Finalmente, el proceso termina con el **silenciamiento estable y definitivo** de esos cromosomas, que se mantendrá durante la división celular. Aunque los mecanismos moleculares que regulan estos procesos no se entienden completamente, se conocen las regiones cromosómicas implicadas y los genes más importantes en el proceso de inactivación, como se describe a continuación.

Las células del embrión inicial tienen la capacidad de calcular el cociente entre el número de cromosomas X y el número de autosomas ("**contaje**"), de permitir la inactivación cuando hay más de un cromosoma X ("**competencia**") y de seleccionar un cromosoma X para su inactivación ("**elección**"). Los procesos de inactivación se ejecutan gracias un *locus* multifuncional denominado **XIC**, que está localizado en Xq13 y que contiene los elementos necesarios para el recuento del número de cromosomas X, para la elección del X que será silenciado y para el propio mecanismo de silenciamiento. Este *locus* incluye el gen **XIST**, un gen de 32 kb que se transcribe en un ARN no codificante de 19 kb, es procesado y poliadenilado pero no se traduce. **XIST** es **necesario para iniciar el silenciamiento** del cromosoma X, pero no para los mecanismos de contaje, elección ni para el posterior mantenimiento del estado silenciado. En **XIC** también se encuentra el mecanismo de contaje y posiblemente un mecanismo de elección, que dependen del *locus* **XCE**.



La Figura 11.8 muestra esquema del *locus* XIC de ratón.

Todos estos procesos comienzan en los estadios iniciales del desarrollo embrionario. Así, en la mórula de 4-8 células se detecta expresión de *XIST* a bajo nivel **en ambos cromosomas X**, tanto en el de origen paterno (**Xp**) como en el de origen materno (**Xm**). Parece que algunos factores responsables de pluripotencialidad (*NANOG*, *OCT4*) en estas células embrionarias son los que mantienen este bajo nivel de expresión. A partir de ese momento, *XIST* deja de expresarse en uno de los cromosomas X (o en el único cromosoma X en embriones XY) y su expresión aumenta en el otro cromosoma. Por tanto, la expresión inicial de *XIST* es transitoria y sólo se estabiliza en torno a la fase de blastocisto en uno de los dos cromosomas X (en aquél que quedará finalmente inactivado). Este aumento de expresión de *XIST* en un cromosoma es la base de la propiedad que hemos llamado "competencia", y en los últimos años se han identificado algunos mecanismos implicados en la misma. Por un lado, se ha visto en células madre embrionarias de ratón que este aumento de expresión de *XIST* sólo se da **si los dos cromosomas X interaccionan físicamente** dentro del núcleo. Esta interacción se produce porque los XIC de ambos cromosomas X se asocian durante un breve tiempo, justo antes de iniciarse la inactivación definitiva de uno de los dos cromosomas. Utilizando diversas sondas de FISH, se ha podido identificar una región dentro del XIC que es responsable de esta interacción, a la que se ha denominado **Xpr** (X-pairing region). Según este modelo, la interacción entre los Xpr de ambos XIC genera una señal que provoca la **expresión de bajo nivel del gen *XIST*** en ambos cromosomas X. A continuación, los genes *Tsix* y *Xite* de los dos cromosomas **entran en contacto**, lo cual produce el otra señal que "apaga" la expresión de *XIST* en uno de los cromosomas (al azar), y la estabilización de la expresión de *XIST* en el otro cromosoma, que será el futuro X inactivo. Este modelo explica también como se produciría la inactivación de varios cromosomas X, para que se cumpla la regla "n-1" en aquellos casos en los que hay **más de dos cromosomas X presentes**. La interacción de los XIC de dos cromosomas producirá la inactivación de uno de ellos; a continuación, el proceso se repetiría hasta que sólo quede un cromosoma activo, en cuyo caso el proceso se detiene.



**Figura 11.9** La figura muestra el XIC, con los *loci* Xpr (círculos rojos), Xist (círculos amarillos) y Tsix/Xite (círculos azules). Los puntos amarillos pequeños representan la expresión del gen *Xist*. Finalmente, el cromosoma X inactivo se representa en gris.

Además, el aumento de expresión de *XIST* también requiere de **elementos genéticos que están a cierta distancia** del mismo, dentro del XIC. Uno de ellos es un gen llamado ***RNF12***, situado a unas 500 kb en dirección 5' de *XIST*, que codifica para una proteína con actividad ubiquitina-ligasa y que activa *XIST* (presumiblemente porque favorece la degradación de un inhibidor). Otro elemento implicado en la activación de *XIST* es el gen ***JPX*** (ver Figura 11.8), que también codifica un ARN no codificante pero se desconoce su modo de acción.

Entre los elementos necesarios para mantener la expresión de *XIST* en uno solo de los dos cromosomas X, es importante un gen antisentido denominado ***TSIX***, cuyo transcrito se solapa parcialmente con el ARN codificado por *XIST*. Curiosamente, *TSIX* sigue un patrón de expresión similar a *XIST*: inicialmente se expresan ambos alelos, pero al comienzo de la inactivación únicamente se expresa el alelo del cromosoma X que permanecerá activo. Esto sugiere que **la expresión de *TSIX* juega un papel importante** en la expresión transitoria de *XIST* y en la elección del cromosoma que finalmente será inactivado. Esto lleva directamente a la pregunta de cómo se regula la expresión de *TSIX*. En este proceso participa el factor ***CTCF***, que se une a una región de metilación diferencial llamada ***DXPas34*** sólo cuando esa región está des-metilada. Dicha unión tiene dos posibles efectos: o bien impide la acción de un *enhancer* sobre *XIST* (porque *CTCF* es un elemento aislador ó *insulator*); ó bien estimula la transcripción de *TSIX*, con el consiguiente silenciamiento de *XIST*. En cualquier caso, **en humanos no se da la transcripción antisentido de *TSIX* sobre *XIST***, por lo que los mecanismos que regulan la expresión monoalélica de *XIST* todavía permanecen oscuros.

Tras la elección, tiene lugar el proceso de **iniciación del silenciamiento**, seguida de otros cambios que permiten **mantener el estado silenciado**. En este proceso, el ARN codificado por *XIST* recubre todo el cromosoma y desencadena los cambios que caracterizarán al cromosoma X inactivo: metilación de las islas CpG, desacetilación de las histonas, replicación tardía en la fase S, presencia de una histona especial (**macroH2A**) en vez de H2A. Recientemente también se ha visto que la **lisina 27 de la histona H3 está metilada** en el cromosoma X inactivo. En cambio, el ARN codificado por *XIST* no llega a estabilizarse en el X que permanecerá activo, y finalmente el propio gen *XIST* se silencia y deja de expresarse. Lógicamente, en un embrión XY sólo hay expresión baja y transitoria de *XIST* en el cromosoma X de origen materno, que nunca se inactiva porque el mecanismo de conteo detecta la presencia de un solo cromosoma X.

**Figura 11.10 Este [video](#) sirve para ilustrar el proceso de inactivación del cromosoma X. La inactivación comienza con la expresión del gen XIST, cuyo ARNm recubre el cromosoma y desencadena una serie de cambios que conducen a la heterocromatinización de todo el cromosoma. Sólo unos pocos genes concretos escapan a la inactivación.**

Mary Lyon también ha propuesto que la propagación del estado inactivado a partir del XIC se ve facilitada por la presencia de elementos distribuidos a lo largo de todo el cromosoma X y que actuarían como "estaciones repetidoras" del proceso de inactivación. Unos elementos que podrían cumplir esta función son los **LINE**, que son especialmente abundantes en el cromosoma X respecto a los autosomas (forman un 30% de la secuencia de este cromosoma). Además, al estudiar pacientes con translocaciones entre el cromosoma X y un autosoma, se ha comprobado que la inactivación del X se propaga a los autosomas pero sólo parcialmente, y que esta propagación es directamente proporcional a la riqueza en LINEs de cada autosoma. La secuenciación del cromosoma X apoya esta hipótesis, ya que se ha comprobado que los LINE se distribuyen a lo largo del X de manera coherente con la inactivación: son **especialmente abundantes en las zonas que flanquean el XIC** y disminuyen en abundancia en las regiones más distales del brazo corto, precisamente la región donde la inactivación es más débil.

Es muy importante tener claro que **la inactivación del cromosoma X no es completa**, es decir, no afecta a todos los genes del cromosoma. De hecho, se estima que sólo un **65%** de los genes presentes en el cromosoma X se inactivan; un **20%** de los genes se inactivan sólo parcialmente (es decir, no están inactivados en todas las células) y un **15% escapan totalmente al proceso de inactivación**. Esto quiere decir que, para esos genes, existen dos copias funcionales en mujeres XX pero sólo existe una copia en varones XY. Para evitar las diferencias de dosis génica en estos casos, algunos de estos genes que escapan a la inactivación tienen un gen homólogo funcional en el cromosoma Y, lo que hace que ambos sexos tengan la misma dosis génica funcional. Se piensa que el fenotipo de **mujeres X0 con Síndrome de Turner** se debe precisamente a la disminución de dosis de todos o algunos de los genes que escapan la inactivación, ya que estas pacientes sólo tienen una dosis funcional de estos genes (cuando deberían tener dos).

