

# Inactivación del cromosoma X



Silvia Baquedano Coarasa  
Alejandro Usón Ferrando

## Trabajos tutelados de Fundamentos de Genética (Curso 09-10)

### Índice:

1. Historia y primeras evidencias.....	2
-Demostración de la hipótesis de Lyon	
2. Compensación de la dosis génica.....	3
-Compensación de dosis en drosophila melanogaster	
3. La región XIC.....	3
4. El gen XIST.....	4
5. Dos tipos de inactivación.....	5
6. Mantenimiento de la inactivación.....	6
7. Dudas actuales sobre el mecanismo.....	6
Bibliografía.....	7

# 1. Historia y primeras evidencias:

El fenómeno epigenético llamado inactivación del cromosoma X ha intrigado a los científicos durante décadas. En la inmensa mayoría de los genes se expresan los dos alelos. Sin embargo, esto no es posible en los cromosomas sexuales, ya que el número de cromosomas X e Y difiere entre los dos sexos.

M. Barr y E. Bertram observaron por primera vez en el núcleo un corpúsculo condensado distinto del nucleolo y se dieron cuenta de que las gatas normales poseen un único corpúsculo condensado mientras que los gatos no muestran ninguno. Estos investigadores se refirieron a este corpúsculo como cromatina sexual y desde entonces se ha denominado corpúsculo de Barr. En 1999, Mary Lyon sugirió que este corpúsculo de Barr representaba un cromosoma X inactivo el cual se enrolla en las hembras de manera compacta, tomando la estructura conocida como heterocromatina, una forma condensada y por tanto visible de la cromatina. Investigaciones recientes al microscopio revelan que los extremos del corpúsculo de Barr están en estrecha proximidad, formando un anillo.

Varias evidencias apoyan la hipótesis de Lyon. Primero, los varones XXY poseen un corpúsculo de Barr mientras que las mujeres XO no presentan ninguno. Segundo, las personas con un número anormal de cromosomas X tienen un corpúsculo de Barr menos que cromosomas X poseen por célula: las mujeres XXX presentan 2 corpúsculos de Barr y las XXXX presentan tres.

## **Demostración de la hipótesis de Lyon**

La prueba directa de la hipótesis de Lyon se produjo cuando, en mujeres normales, los citólogos identificaron el corpúsculo de Barr como el cromosoma X. Las pruebas genéticas también apoyan la hipótesis de Lyon: las hembras heterocigóticas para un locus del cromosoma X muestran un patrón peculiar de expresión fenotípica. Se sabe ahora que en los seres humanos el cromosoma X es inactivado en cada célula alrededor del decimosegundo día de vida fetal y además el azar determina qué cromosoma X se inactiva en cada célula. A partir de este momento, el mismo cromosoma X permanece como un corpúsculo de Barr para futuras generaciones celulares. En lugar de ser hembras típicamente heterocigotas, son hemicigotas en cada célula para uno u otro de los alelos del cromosoma X.

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PD) es una enzima controlada por un locus del cromosoma X que presenta dos formas alélicas. Ambas son funcionales pero difieren solamente en un aminoácido, de forma que pueden separarse por electroforesis. Puesto que el suero sanguíneo es un conglomerado de proteínas de muchas células, el suero de un heterocigoto presenta tanto la forma A como la forma B, mientras que cada célula presenta solamente una u otra banda. Esto indica que en cada célula sólo se encuentra activo uno de los dos cromosomas X.

Otro aspecto del sistema G-6-PD proporciona una prueba adicional de la hipótesis de Lyon. Si una célula tiene ambos alelos funcionando, deberían estar presentes tanto la proteína A como la B. Puesto que la enzima G-6-PD funcional es un dímero (está formada por dos subunidades proteicas), el 50% de las enzimas deberían ser heterodímeros (AB). Estos formarían una tercera banda intermedia entre las formas A (dímero AA) y B (dímero BB). La ausencia de heterodímeros en la sangre de los heterocigotos es una prueba adicional de que no están activos ambos alelos de la enzima G-6-PD en una misma célula.

La hipótesis de Lyon se ha demostrado con muchos loci ligados al X, pero los ejemplos más notables son aquellos que se refieren al color del pelaje en algunos

mamíferos. Por ejemplo, el patrón calicó de los gatos se debe a la inactivación del cromosoma X. Los gatos calicó son normalmente hembras heterocigóticas para los alelos amarillo y negro de un locus ligado al X. Estas hembras muestran áreas de los dos colores, indicando de esta manera que en un cierto estadio del desarrollo uno de los dos cromosomas X se inactivó y que todas las células descendientes de esa línea conservaron inactivo el mismo cromosoma X. Esto da lugar a manchas de color en el pelaje en lugar del patrón microscópico de color que se esperaría si en cada nueva célula que se produce se inactivase uno de los cromosomas X al azar.

## 2. Compensación de la dosis génica:

El cromosoma X tiene unos 1000 genes que no están presentes en el pequeño cromosoma Y. Las hembras tienen el doble de copias de estos genes ligados al X y expresarían el doble de los transcritos de estos genes si no existiera un mecanismo para corregir este desequilibrio. Sin embargo, no tener un cromosoma Y no es un problema para las hembras ya que los pocos genes que hay en este cromosoma sólo son necesarios para el desarrollo de los machos.

Este desajuste se corrige mediante un proceso llamado compensación de dosis, que hace que, a pesar de esta diferencia, las células femeninas y masculinas tengan cantidades equivalentes de las proteínas codificadas por genes del cromosoma X. La compensación de dosis supera diferencias de sexo en la relación esperada de la dosis de genes autosómicos con la dosis de genes del cromosoma X. Las relaciones de dosis son importantes ya que los productos de los genes ligados a X deben interactuar con los productos de los genes autosómicos en las diferentes vías metabólicas y del desarrollo, y las cantidades de producto para genes sensibles a dosis fundamentales están bajo regulación estrecha.

### Compensación de dosis en *Drosophila melanogaster*

Es interesante ver que, aunque varios taxones presentan compensación de dosis, dicho mecanismo de compensación puede variar drásticamente. También en la mosca de la fruta existe compensación de dosis, ya que la actividad génica de los loci del cromosoma X parece ser aproximadamente la misma en machos y hembras. El mecanismo es distinto al de los mamíferos puesto que en las moscas de la fruta no se han observado corpúsculos de Barr. Por ello, se deduce que la expresión de los genes en el cromosoma X no se compensa por la inactivación de uno de los dos X de la hembra, sino doblando la expresión de los genes del único X en los machos. En análisis genéticos recientes se han encontrado al menos cuatro loci autosómicos cuyos alelos salvajes parecen ser responsables del aumento de la transcripción génica del cromosoma X de los machos. Los alelos de este loci que alteran la compensación de dosis en los machos son letales. Sin embargo, no parecen tener ningún efecto en las hembras.

En definitiva, la compensación de dosis puede conseguirse doblando la expresión del cromosoma X del macho (hipertranscripción), mediante la inactivación del X, como es el caso de los mamíferos, o disminuyendo a la mitad la expresión de los dos cromosomas X en la hembra (hipotranscripción). Este último caso tiene como ejemplo a *C. elegans*.

## 3. La región XIC:

El proceso de inactivación del cromosoma X es complejo; en el inicio de la inactivación y en el mantenimiento de la misma participan mecanismos moleculares

precisos. Dentro de este proceso juega un papel fundamental el centro de inactivación de X (XIC), ya que es el punto donde comienza.

Además existen dos tipos de inactivación del cromosoma X: al azar o por imprinting. Aunque ambas formas utilicen los mismos ARNs y enzimas silenciadoras, se diferencian en tiempo de aparición y mecanismo de acción.

El centro de inactivación de X (XIC) controla el inicio y la propagación de la inactivación de X. La presencia de XIC es esencial para la inactivación de X: un cromosoma X que lleva XIC puede experimentar inactivación, pero no uno que carece del mismo. XIC también es importante para "contar" cromosomas. En individuos raros con un número anormal de cromosomas X (45,X; 47,XXX; 47,XXY), todos los cromosomas X excepto uno sufrirán el proceso de inactivación. Por otra parte, en individuos triploides podemos encontrar uno o dos cromosomas X activos, mientras que en el caso de los tetraploides permanecen activos dos. Existe un *mecanismo de conteo* que asegura que un cromosoma X permanezca activo por cada dos grupos de autosomas. La función de XIC depende de XIST (X inactive-specific transcripts, o transcritos específicos del X inactivo), un gen que especifica un RNA funcional no codificante. Sin embargo, aunque XIST es esencial para iniciar la inactivación del cromosoma X, no se requiere de su presencia para conservar el estado de inactivación.

#### 4. El gen XIST:

XIST, transcrito específico para la inactivación del Cromosoma X, fue descubierto debido a su expresión específica en Cromosomas X inactivos femeninos.

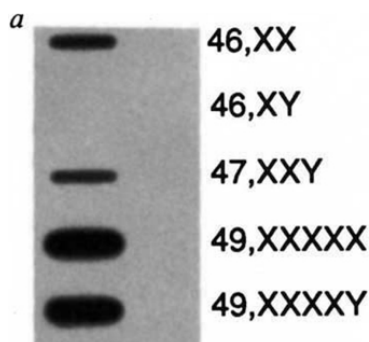
Este ARN tiene cuatro propiedades únicas:

a.- El gen XIST no codifica una proteína, sino una molécula de ARN funcional. De ahí, esto es un ARN de no codificación (Costa, 2008).

b.- XIST es expresado en células que contienen al menos dos Cromosomas X y normalmente no es expresado en células masculinas. Se observa mayor expresión cuanto mayor es el número de cromosomas X.

c.- XIST ARN permanece exclusivamente en el núcleo y es capaz "de cubrir" el cromosoma a partir del cual fue producido.

d.- Paradójicamente, XIST es expresado a partir de un Cromosoma X que va a ser inactivado.



Expresión del gen XIST

El gen XIST fue descubierto después de que el centro de inactivación de X fue mapeado en el ser humano (llamado *Xist* en roedores). *XIST* muestra expresión monoalélica y se manifiesta únicamente en el cromosoma X inactivo. Su transcrito primario experimenta empalme y poliadenilación para generar un RNA no codificante maduro de 17 kb. Al parecer es la principal señal para diseminar el estado de inactividad transcripcional a lo largo del cromosoma X del que se sintetiza.

Aunque en etapas muy tempranas del desarrollo ambos cromosomas X son activos, la inactivación del X se inicia conforme las células comienzan a diferenciarse de los linajes totipotente y pluripotente, lo que ocurre en la etapa tardía de blástula en ratones y con mucha probabilidad también suceda así en humanos. En cada célula que da lugar al feto femenino se elige para la inactivación uno de los dos cromosomas X parentales, pero la decisión para inactivar el cromosoma X de herencia paterna ( $X^p$ ) o el X materno ( $X^m$ ) suele ser aleatoria y por consiguiente varía de célula a célula

El RNA *Xist* permanece localizado en el X inactivo, uniéndose y cubriendo este cromosoma. Esto desencadena el reclutamiento de un complejo proteico que induce la metilación de los residuos lisina-27 y lisina-9 de la histona H3, generando la condensación de la cromatina y la conversión de la mayoría del X inactivo en heterocromatina. En algunos estudios recientes se ha observado que la inactivación del cromosoma X requiere la formación de moléculas bicatenarias de RNA entre *Xist* y su hebra complementaria. Estos RNA bicatenarios de *Xist* se someten a procesamiento e intervienen en la inactivación del cromosoma X.

Otro gen extraordinario, TSIX (llamado TsiX en roedores) tiene una unidad de transcripción que se superpone en la totalidad del gen XIST, pero en la cadena antisentido. Este gen complementario se expresa en células madre embrionarias no diferenciadas y en embriones tempranos, y se ha propuesto que controla la expresión de XIST al inicio de la inactivación de X.

## 5. Dos tipos de inactivación

a.- Inactivación del cromosoma X con imprinting: el cromosoma X de origen paterno se inactiva de forma preferencial en las células de la placenta de los mamíferos eutherian y en las células de mamíferos marsupiales.

XIST y TSIX son ambos importantes para este tipo de inactivación en ratón (un eutherian), pero los marsupiales no tienen un gen homólogo al XIST. ¿Cómo puede producirse este tipo de inactivación sin la presencia del gen XIST?

Un posible mecanismo implicaría el presilenciamiento del cromosoma X de origen paterno en la línea germinal masculina mediante la inactivación de los dos cromosomas X en meiosis; de esta forma el estado inactivo del Cromosoma X podría transmitirse a la próxima generación.

De un punto de vista evolutivo, tal forma de herencia de XCI heredado permitiría alcanzar fácil y económicamente la compensación de la dosis en embriones femeninos, porque sólo las hembras heredan un Cromosoma X de sus padres.

### b.- Inactivación del cromosoma X al azar

Ocurre tempranamente en el embrión de hembra, en el que los dos cromosomas X, de origen materno o paterno, tienen la misma posibilidad de ser inactivados.

Cada célula femenina tiene la tarea difícil de distinguir entre dos Cromosomas X dentro del mismo núcleo, y designar un Cromosoma X como activo y el otro como X inactivo. Este proceso complejo es logrado por separado en cada célula, en gran parte por XIST Y TSIX.

Parece que cada célula cuenta, en primer lugar, su número de Cromosomas X, entonces al azar escoge un X para permanecer activo, y, finalmente, silencia el futuro X inactivo

## 6. Mantenimiento de la inactivación

Una vez que una célula progenitora en el embrión temprano se comprometió a inactivar el cromosoma  $X^P$  o el  $X^m$ , el patrón de inactivación muestra herencia clonal: todos los descendientes de la célula dentro del linaje celular resultante llevan el mismo patrón de inactivación de X que la célula progenitora. Esto significa que todos los mamíferos hembra son mosaicos y comprenden mezclas de líneas celulares en las que se inactiva el X paterno y líneas celulares en las que se inactiva el X heredado de la madre.

Un heterocigoto femenino para una enfermedad ligada a X (dominante o recesiva) es un mosaico. Cada célula expresa el alelo normal o el anormal, pero no ambos. Cuando el fenotipo depende de un producto circulante, como la hemofilia, hay un efecto promedio entre las células normales y anormales. Las mujeres portadoras tienen un fenotipo intermedio y no suelen manifestar sintomatología clínica, pero son anormales desde el punto de vista bioquímico. Cuando el fenotipo es una propiedad localizada en células individuales, como es el caso de la displasia ectodérmica hipohidrótica (carencia de glándulas sudoríparas y presencia de dientes y pelo anormales), las mujeres portadoras muestran placas de tejido normal y anormal. En ocasiones se observan heterocigotos que manifiestan enfermedades recesivas ligadas al X. Estas mujeres pueden estar afectadas de un modo muy grave debido a que, por desgracia, casi todas las células de algunos tejidos críticos hayan inactivado el X normal.

El origen de muchos tumores a partir de una sola célula se ha demostrado mediante el análisis de la inactivación del cromosoma X. Un miembro del par de cromosomas X se inactiva en las células femeninas y pasa al estado de heterocromatina. La inactivación del cromosoma X ocurre al azar durante el desarrollo embrionario, por lo que uno de los cromosomas X es inactivado en algunas células mientras que en otras se inactiva el otro cromosoma X. Por tanto, si una hembra es heterocigota para un gen del cromosoma X, se expresarán alelos distintos en células distintas. Los tejidos sanos se componen de una mezcla de células con cromosomas X inactivos diferentes, por lo que en los tejidos normales de las hembras heterocigotas se detecta la expresión de ambos alelos. Por el contrario, en los tejidos tumorales se suele expresar sólo un alelo de un gen heterocigoto portado por el cromosoma X. Esto implica que todas las células que constituyen ese tumor derivan de una única célula original, en la que se fijó el patrón de inactivación del cromosoma X antes de que el tumor se desarrollara. Los diferentes tumores pueden estar formados por células con el X paterno o con el materno inactivo.

Sin embargo, también se sabe que varios loci están activos en el cromosoma X inactivado. Aunque algunos de estos loci están en la región pseudoautosómica del brazo corto del cromosoma X, el resto de los seis o más genes que se sabe que están activos se encuentran en otros lugares del cromosoma X de los mamíferos, incluyendo al menos dos en el brazo largo (la región pseudoautosómica está en el brazo corto). En este grupo de genes no parece ser importante la diferencia de dosis génica entre ambos sexos, hecho por el cual no es necesario el mecanismo de compensación.

Por otra parte, cabe destacar que la inactivación del X se invierte únicamente en la línea germinal, donde el segundo cromosoma X se reactiva en la ovogénesis. Así los dos cromosomas X pueden ser heredados por la siguiente generación.

## 7. Dudas actuales sobre el mecanismo:

El fenómeno de la inactivación del cromosoma X ha sido estudiado durante más de medio siglo pero aún existen numerosas preguntas sin respuesta.

¿Cómo cuenta la célula correctamente su número de cromosomas X?  
¿Cómo se consigue exactamente y se mantiene el silenciamiento a nivel molecular?  
¿Cómo RNA no codificante juega un papel tan importante en el XCI?  
¿Cómo escapan algunos genes importantes a la acción de XIST en el cromosoma X inactivo?

Aunque en el mecanismo de inactivación del cromosoma X está implicada la metilación de la base citosina del DNA, todavía se desconoce cómo se produce éste realmente. Recientemente se ha descubierto la presencia del elemento de control de X (*Xce*), que afecta a la elección del cromosoma X que permanece activo y del inactivo. Es posible que haya una diferencia de inactivación entre los dos cromosomas X (respecto al 50:50 normal de X inactivo con el activo) en mujeres heterocigotas para alelos *Xce* (es más probable que un cromosoma X con un alelo *Xce* potente sea activo que uno con un alelo *Xce* débil). *Xce* es distinto de XIC y de XIST, pero su base molecular aún no se ha aclarado.

Por otra parte, también llama la atención el hecho de que, pese a que algunos genes humanos ligados a X tienen homólogos funcionales en el cromosoma Y y por tanto escapan a la inactivación del cromosoma X, existen otros genes (como *SYBL1* y *HSPRY3*) que, a pesar de tener homólogos en el cromosoma Y, sufren la inactivación del X. En este caso, la discrepancia aparente parece compensarse mediante la inactivación de Y para estos genes: cuando se presentan en el cromosoma Y, *SYBL1* y *HSPRY3* se metilan y no se expresan.

En general, los genes que eluden la inactivación tienden a concentrarse en grupos, sobretodo en Xp, y muchos de ellos al parecer derivan de adiciones autosómicas recientes a los cromosomas sexuales.

Así mismo, se desconoce aún el mecanismo exacto mediante el cual *Drosophila melanogaster* compensa la dosis génica, si bien se conoce que ésta se consigue en los machos mediante la hiperactividad del cromosoma X bajo el control de los loci autonómicos. Se cree que este mecanismo se caracteriza por la unión de un complejo RNA-proteína, llamado MSL, a lo largo de todo el cromosoma X en los machos. Uno de los componentes del complejo MSL es una histona acetiltransferasa, lo que es una de las principales características de la cromatina activa. Así que la función del complejo MSL parece ser añadir grupos acetilo a las histonas. Las siglas MSL significan letal específico de machos (en inglés, *male-specific lethal*), y el complejo recibió este nombre porque sus componentes fueron identificados en los rastreos genéticos realizados en busca de mutaciones letales para los machos.

## Bibliografía

-Genética Moderna

Anthony J.F. Griffiths, Susan R. Wessler, Richard C. Lewontin, Sean B. Carroll

-Genética molecular humana

Tom Strachan, Andrew P. Read

-Principios de genética

Robert H. Tamarin

-Biología Celular y Molecular

Lodish, Berk, Matsudaira, Kaiser, Krieger, Scout, Zipursky, Darnell

-The Cell

Geoffrey M. Cooper, Robert E. Hausman

- Ahn, J. & Lee, J. (2008) X chromosome: X inactivation. Nature Education 1(1)