

# La transcripción de genes en las personas con síndrome de Down: tan iguales y tan diferentes

Jesús Flórez, Mara Dierssen

## RESUMEN

*El presente artículo explica cómo se realiza la actividad de los genes y cómo esta actividad puede ser modulada por diversas influencias, tanto de carácter genético como epigenético y ambiental. Ello explica que, aun habiendo el factor común de la presencia de tres copias de los genes del cromosoma 21 en cada persona con síndrome de Down, la variabilidad con que aparecen los rasgos fenotípicos entre los distintos individuos sea tan grande.*

## Una justificación

En el número anterior de esta revista, Roper y Reeves explicaban la serie de mecanismos variados por los que el genotipo de la trisomía 21 puede originar diversos fenotipos. En el presente artículo vamos a explicar la diversidad con la que un gen del cromosoma 21 puede expresarse: desde permanecer en silencio hasta originar productos que, a su vez, van a influir sobre la actividad de otros genes presentes en el mismo cromosoma 21 o en otros cromosomas.

Que el síndrome de Down con toda su rica expresión fenotípica es consecuencia de la presencia de un tercer cromosoma 21, el cromosoma extra, en las células del organismo humano, es un hecho plenamente aceptado. Parece que hay segmentos del cromosoma que contribuyen en mayor o menor grado a la presencia de determinados rasgos. Pero una realidad contrastada es que el 95% de los individuos con síndrome de Down poseen los tres cromosomas completos, por lo que cabría pensar que la base constitutiva o generadora del síndrome es idéntica para la mayoría de estas personas. Y sin embargo, hay una realidad muy significativa que es la siguiente.

Cualquier persona suficientemente experimentada es capaz de diagnosticar el síndrome de Down en el mismo momento del nacimiento. De hecho, son muy pocos los fallos diagnósticos que han de ser corregidos por el examen del cariotipo. Esto significa que hay un conjunto de rasgos, derivados de una serie de elementos estructurales y funcionales, que han sido modificados durante el desarrollo fetal de una manera específica y constante por la existencia de la tercera copia del cromosoma 21 y que aparecen en todas las personas con síndrome de Down. Ciertamente, esos rasgos generales, junto con la discapacidad intelectual y un cierto

fenotipo conductual son unas constantes del síndrome de Down; pero no menos cierto es que su intensidad varía ampliamente de un individuo a otro. Y más aún, existen ciertos rasgos clínicos, algunos graves, que si bien se encuentran claramente asociados al síndrome de Down, sólo se aprecian en un porcentaje mayor o menor de casos (por ejemplo, la cardiopatía congénita, el colon agangliónico, el hipotiroidismo, la leucemia). Es evidente, por tanto, que la homogeneidad del cariotipo (tres cromosomas 21 completos) se contrapone a, y se expresa en, una marcada heterogeneidad del fenotipo y de la gravedad o intensidad de las alteraciones.

Esta realidad está promoviendo un esfuerzo extraordinario en la investigación genética a nivel molecular, en un denodado intento por correlacionar los aproximadamente 350 genes originarios, presentes en el cromosoma 21, con los rasgos más propios del síndrome de Down, tanto los que se aprecian de manera casi constante como aquellos que son más excepcionales. En el presente artículo vamos a exponer algunas de las líneas más actuales de investigación y de pensamiento en el campo biológico del síndrome de Down. Junto a conceptos repetidas veces expuestos, aportaremos otros nuevos que trataremos de explicar con sencillez, y que nos servirán para comprender un poco mejor la realidad individual y constitutiva de ese ser humano que es la persona con síndrome de Down.

## La transcripción del ADN y sus productos. Los factores de transcripción

Un gen por sí mismo, si no tiene capacidad de expresarse, es decir, de generar su producto -la(s) proteína(s)-, no podrá ejercer un

efecto sobre el fenotipo, ya que es la proteína la que tiene capacidad funcional en el organismo. El "dogma" central de la biología molecular dice que un gen (ADN) fabrica un ARN mensajero que a su vez fabrica una proteína. Las proteínas son las sustancias que llevan a cabo la mayoría de las funciones de la célula y de los organismos. Ahora bien, ¿cómo explicar la complejidad de la biología humana con un número de genes no mucho mayor al de la mosca de la fruta?

En términos simples, un gen que está conformado por una cadena de ADN promueve la formación de su ARN mensajero (ARNm) en un proceso llamado **transcripción** (fig. 1); y éste a su vez promueve la incorporación de aminoácidos específicos, como eslabones que se ensartan para conformar la cadena que denominamos proteína. Eso es lo que simplificadaamente se manifiesta con la expresión: "un gen, una proteína", según el flujo <ADN → ARNm → proteína>; demasiado simplificadaamente como enseguida veremos.

La primera objeción que se nos puede ocurrir es que si una especie está caracterizada por sus genes, todos los miembros de una especie deberían ser idénticos. Y no lo son. Lo son en lo sustancial que sirve para identificar la especie, pero no en sus características individuales que difieren notablemente. No hay dos seres humanos idénticos. Y más todavía: si todas las células del organismo poseen los mismos genes, sus resultantes deberían ser idénticos, todas las células iguales. Pero tampoco lo son: cada célula se especializa. Por lo cual hemos de deducir que, a partir de un acervo común que es la dotación génica de cada célula, esta dotación dispone de mecanismos diversos que hacen que se pueda expresar de forma diferenciada en cada célula y en cada individuo. Es

decir, si bien el código genético y los sistemas para su decodificación son básicamente universales, existen complejos fenómenos de regulación diferencial que constituyen la base por la que cada individuo responde diferenciadamente al entorno, y por la que cada célula viva se identifica.

Se calcula que cada célula utiliza sólo el 10% de sus genes; o sea, se puede tener un gen y no utilizarlo, permanece en silencio. Del mismo modo, cada individuo expresa parte de sus genes de forma distinta, desde el silencio más absoluto hasta la formación de productos diferenciados. Con lo cual, lo que estamos afirmando es que ese proceso anteriormente propuesto como base de la biología <ADN → ARNm → proteína> es un proceso influenciado, maleable, polifacético. No es un proceso rígido e impenetrable sino ampliamente variable sobre el que diversas fuerzas o estímulos van a incidir y regular la dirección en que se mueva.

La regulación de la expresión de una proteína puede tener lugar a diferentes niveles:

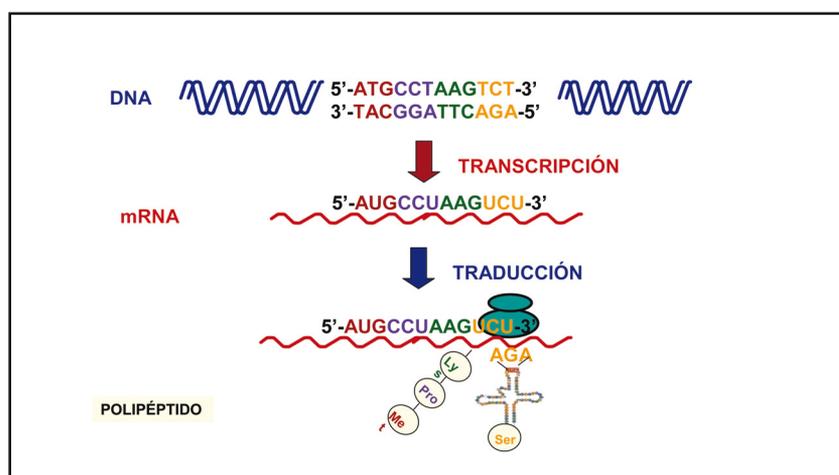
1. Regulación pretranscripcional, a nivel de reestructuración o acceso al DNA, de forma que la estructura de la cromatina define la expresión génica.

2. Regulación transcripcional, a nivel de RNA polimerasa y/o de factores de transcripción (ver abajo).

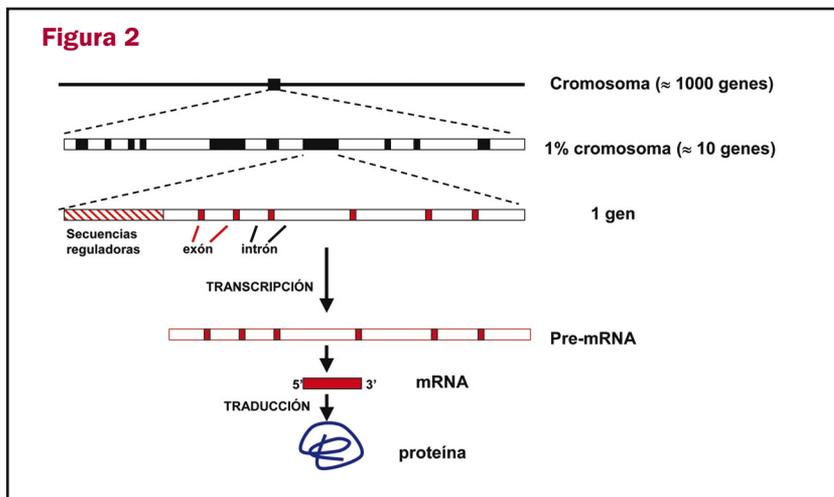
3. Regulación a nivel post-transcripcional.

Los niveles de expresión finales de una proteína dependen de la eficiencia de cada uno de ellos.

En definitiva, pues, tenemos un gen cuya constitución conocemos; pero hemos de averiguar cuáles son su o sus ARNm, porque una pieza de ADN -el gen- puede originar distintos ARNm cuyo conjunto es denominado **transcriptoma**. El ARN mensajero es una molécula producida por la enzima ARN polimerasa II a partir de los genes (ADN), en el proceso llamado transcripción. La larga molécula de ADN de cada gen contiene segmentos que codifican proteína, llamados exones, intercalados por segmentos sin información, llamados intrones (fig. 2). Para la generación de proteínas, las regiones sin información o intrones son eliminadas del ARN mensajero en un proceso de "corte y unión" o "splicing", que tiene lugar en el núcleo de las células. Muchas veces, también exones enteros son "excluidos" del ARN mensajero. Cuando sucede este fenómeno, llamado "splicing alternativo", la información codificada para la generación de la proteína cambia, dando lugar a una nueva proteína. Ahora bien, el splicing alternativo puede suceder en varias

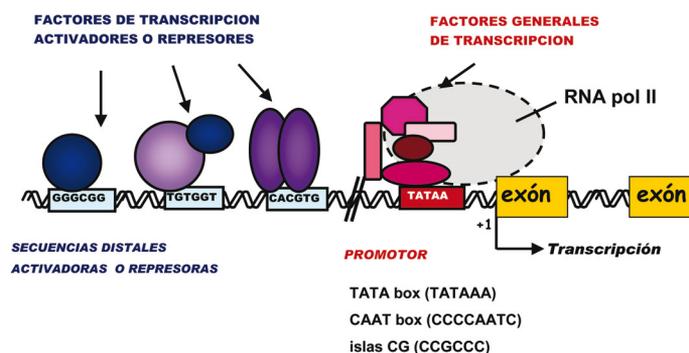


**Figura 1. Secuencia de etapas por las que el ADN (o DNA) de un gen origina el RNA mensajero (fenómeno de transcripción), y éste dirige la incorporación de un aminoácido preciso y concreto al polipéptido/proteína que se está formando (fenómeno de traducción).**



**Figura 2.** El esquema muestra, en imágenes sucesivas ampliadas, a un cromosoma, a un fragmento de ese cromosoma que contiene varios genes, y a un gen formado por secuencias de ADN exón (en rojo) y ADN intrón (en blanco). El gen origina al RNA mensajero (transcripción), primero en forma provisional (Pre-mRNA). Posteriormente hay un reordenamiento por el cual se eliminan los segmentos intrones y se juntan los segmentos exones (proceso de corte y empalme), que son los que dirigirán la fase de traducción.

## Factores de transcripción



**Figura 3.** Para que un gen entre en actividad necesita el concurso de elementos múltiples que se adhieran a él. Entre ellos se encuentran unas proteínas llamadas factores de transcripción (ver el texto). Estos factores pueden tener una función activadora del gen o, por el contrario, inhibidora de su actividad.

partes de una molécula de ARN mensajero, multiplicando así el repertorio de proteínas fabricadas por la célula a partir de un único gen. Esto significa que un gen puede, en último término, generar no una sola proteína sino varias proteínas. Por tanto, el "splicing" alternativo es el principal mecanismo que genera diversidad proteica en los mamíferos, lo cual explica su complejidad en comparación con los invertebrados, a pesar de que su número de

genes no es muy diferente.

Por otra parte, el inicio del proceso de expresión génica o transcripción, que hace que un gen comience a actuar, es un proceso complejo en el que participan muchas unidades proteicas que, adecuadamente ensambladas entre sí y de ellas con el gen, le dan la señal para que inicie su actividad (fig. 3). ¿Qué quiere decir esto? Quiere decir que un gen aislado no es nada si a su lado no se encuentran unas proteínas o factores que, bien ensamblados, son los que le empujan a actuar. Lo que, a su vez, significa que, si falta alguno de estos factores, o están en una proporción inadecuada, o ha sido modificado por alguna razón, la acción del gen puede verse entorpecida. En definitiva, el proceso por el que el gen genera un ARNm es el primer paso de importancia trascendental que se encuentra delicadamente regulado o modulado por fuerzas que operan sobre él, unas veces positivamente (estimulan o hacen que el gen se exprese) y otras negativamente (inhiben o dificultan que el gen se exprese). Entre estas fuerzas, que en definitiva son proteínas, se encuentran los denominados **factores de transcripción**.

Un factor de transcripción es una proteína que participa en la iniciación de la transcripción del ADN, pero que no forma parte de la ARN polimerasa. Los factores de transcripción actúan reconociendo sitios en el ADN o a otro factor, o a la ARN polimerasa y pueden ser activados o desactivados selectivamente por otras proteínas, a menudo como paso final de la cadena de transmisión de señales intracelulares. El ADN de los promotores ha de ser un lugar de unión principal de varios factores de transcripción, cerca del sitio de iniciación de la transcripción.

Los factores de transcripción son necesarios para iniciar la síntesis de ARN en todos los promotores. Algunos reconocen promotores de genes expresados constitutivamente, mientras otros reconocen promotores de genes que son específicos del tejido en que se encuentra la célula. La transcripción constituye, pues, un proceso clave que está sometido a la influencia de un considerable número de factores que actúan sobre él: la acción armoniosa de todos estos factores permite que el gen funcione en el modo que debe hacerlo, o que, por el contrario, falle en su acción y origine una consecuencia anómala: una falta de función, un exceso de función, una distorsión de la función.

Los ARNm formados en la transcripción originan las proteínas: es el proceso de **traducción**. De nuevo, es un proceso altamente influenciado por diversos factores que lo regulan. Y también ahí pueden actuar factores posi-

tivos y negativos. La proteína recién formada es después transferida o trasladada al sitio en donde ha de actuar. Pero las proteínas formadas como concatenación de aminoácidos suelen ser después transformadas merced a la adquisición o adosamiento de diversos grupos químicos: hidratos de carbono (glicosilación), grupos fosfato (fosforilación) ubiquitina (ubiquitinación), otras pequeñas proteínas (salmoilación), etc. Estas modificaciones sufridas por las proteínas en su estructura no son inocuas: hacen que la función de la proteína pueda cambiar sustancialmente. Pero, de nuevo, el hecho de que sufra o no estas modificaciones depende de fuerzas o elementos que son los que consiguen modificarlas. Es decir, que una proteína sea fosforilada o no va a depender de que a su lado se encuentre y actúe en el momento oportuno la enzima cuya función es fosforilar (agregar el radical fosfato al proteína); esta enzima se llama quinasa.

Resumamos por un momento lo esencial de lo que venimos explicando. Para que el ADN de un gen actúe debe recibir la influencia positiva de un conjunto o complejo de proteínas entre las que se encuentran los factores de transcripción. El gen va a originar un espectro de varios ARNm y, finalmente, de proteínas, y éstas van a sufrir modificaciones definitivas. Veamos qué puede ocurrir en dirección contraria al flujo de procesos recién enumerados. Un factor de transcripción, capaz como hemos visto de contribuir a la regulación de la transcripción de un gen, es una proteína. Esta proteína puede ser modificada (fosforilada, glicosilada, etc.) en su estructura, determinando así su función definitiva. O sea, que si algún elemento -por la causa que sea- cambia la estructura de esta proteína, puede cambiar su capacidad de actuar como factor de transcripción, y cambiará su capacidad para regular la transcripción que, como hemos visto, es el primer paso decisivo en la acción de un determinado gen.

La acción de un gen, pues, está sometida a múltiples influencias externas a él, capaces de modificar su capacidad expresiva desde el primer paso, la transcripción, hasta el último, la transformación post-traducciona de la proteína.

## Volvamos ahora al síndrome de Down

La primera consecuencia, y más fácilmente predecible, de la trisomía 21 es el incremento proporcional de la expresión del gen 21 -el producto del gen- en forma de ARN en un 50%; es lo

que se llama el efecto de dosis génica. Ahí parece iniciarse la causa del fenotipo. El **efecto de dosis génica** ha sido comprobado en numerosos experimentos en los que se ha podido calcular el contenido total de ARNm derivado de los genes del cromosoma 21 humano o **transcriptoma**, término que, como hemos explicado, define el conjunto de transcritos o unidades funcionales de ARNm; y esto se ha visto tanto en células humanas como en sistemas derivados de modelos de ratón con trisomía de su cromosoma 16 (Ts65Dn, Ts1Cje), cromosoma que posee más de un centenar de genes homólogos a los del cromosoma 21 humano.

Sin duda, los efectos de dosis génica primarios de diversas categorías de productos génicos pueden producir directamente consecuencias fenotípicas. Pero se ha comprobado en estudios del transcriptoma de células trisómicas que en ocasiones el nivel de producto de un grupito de genes trisómicos es similar al de células disómicas; es decir, no aparece el efecto de dosis génica y esto se llama compensación de dosis.

Otras veces se aprecia que el transcriptoma derivado de genes disómicos (los que no están en el cromosoma 21) puede estar también cuantitativamente alterado. Esto significa, en última instancia, que la trisomía del cromosoma 21 no sólo influye sobre los productos derivados directamente de sus propios genes sino que altera el comportamiento de genes de otros cromosomas. Lo cual hace más difícil establecer y predecir la relación entre el genotipo y el rasgo fenotípico, porque un fenotipo ya no es sólo el resultado directo de modificaciones en el transcriptoma de un gen determinado del cromosoma 21 sino, además, de las modificaciones que secundariamente ocurran en los transcriptomas de otros genes de ese cromosoma y de genes de otros cromosomas. Así, el efecto de dosis génica puede tener un impacto directo o indirecto sobre el fenotipo, de forma que se puede producir por interacción de genes o productos génicos en aneuploidia con otros genes o productos génicos aneuploides o no aneuploides. Más aún esta interacción puede ser específica de alelo, de forma que quizá solamente determinadas combinaciones de alelos contribuirían a la aparición o susceptibilidad a fenotipos específicos. Por ello la dotación genética individual determina en cierta medida la definición del fenotipo.

De los más de 350 genes/unidades transcripcionales anotados en la porción 21q del cromosoma 21, aproximadamente 170 se mantienen altamente conservados en el ratón, y 145 de éstos poseen alguna anotación funcional.

De ellos, 18 están identificados como factores de transcripción y co-reguladores/moduladores de la transcripción a la que anteriormente nos hemos referido. Predecir las consecuencias del aumento de la expresión de estos factores de transcripción no es una tarea fácil y directa.

En primer lugar, y es lo más básico, dependerá de que el efecto de dosis génica se exprese en el nivel de proteína: es decir, que su nivel aumente correlativamente con la dosis génica; y no siempre ocurre así dependiendo del gen y del tejido estudiado. En segundo lugar, los factores de transcripción no operan de manera independiente sino formando complejos de proteínas heteroméricas. El aumento de 1,5 veces en un factor de transcripción derivado de un gen del cromosoma 21 originará un desequilibrio en la estequiometría o composición proporcional del complejo proteico, cambiando así las propiedades funcionales del complejo; y esto puede llevar incluso a una disminución en la actividad del conjunto, si se forman complejos incompletos alrededor de la proteína. En definitiva, el resultado puede ser la disregulación (por exceso o por defecto) de la función de ciertos genes diana o de ciertas vías de regulación. Incluso puede aparecer disregulación (por exceso o por defecto) en la acción de genes disómicos. En tercer lugar, las proteínas derivadas de genes del 21 pueden verse alteradas en niveles en donde sufren modificaciones postraduccionales, como son las reacciones de fosforilación, glicosilación, ubiquitinación; reacciones que se necesitan para la activación, localización y otras facetas de la regulación de la actividad proteica. Esto puede deberse a que dichas proteínas se encuentran en exceso en relación con sus enzimas modificadoras, y ello puede originar que la actividad funcional de la proteína esté aumentada, inhibida o no cambiada en relación con ese 50% de incremento predecible a partir del efecto de dosis génica.

Existen otros mecanismos por los que el desequilibrio de proteínas generadas por genes trisómicos del cromosoma 21 puede perturbar la regulación de la transcripción. Hemos visto cómo las proteínas, una vez formadas en el proceso de traducción, son modificadas por diferentes procesos. Tomemos como ejemplo un proceso muy abundante en la vida celular: el intercambio de grupos fosfato por el cual unas enzimas llamadas quinasas se encargan de adicionar radicales fosfato a la proteína (fosforilación) mientras que otras llamadas fosfatasa se encargan de sustraer dichos radicales. Normalmente hay un equilibrio entre ambos tipos de enzimas, lo que hace que las proteínas tengan en todo momento el número y posición de

radicales fosfato convenientes para que su función sea normal. Existen muchas quinasas; y los niveles de fosforilación van a depender en buena parte de cómo funcione una cadena de reacciones químicas llamada MAP quinasa (MAPK). Pues bien, varias proteínas que influyen sobre la actividad de esta cadena son proteínas que dependen de genes del cromosoma 21, por lo que su concentración está alterada en presencia de la trisomía. En consecuencia, aparecerán alteraciones en el grado de fosforilación de otras proteínas, algunas de las cuales son factores de transcripción que necesitan un nivel concreto de fosforilación para que su función sea normal. Si este nivel se altera, su funcionalidad también se alterará y repercutirá, por ejemplo, sobre la actividad en la transcripción de genes. Otra importante quinasa, la Dyrk1A, tiene también su gen en el cromosoma 21.

Se ha comprobado que la actividad de la MAPK está alterada en el cerebro del síndrome de Down, en estudios realizados en cerebros de fetos y ancianos. Y se ha demostrado que la alteración de esta vía tiene repercusiones importantes en la regulación de la plasticidad sináptica interneuronal y en la memoria. De hecho, se ha visto cómo la manipulación farmacológica o genética de MAPK afecta diversos mecanismos neuronales necesarios para que se establezca un buen aprendizaje. No es de extrañar si se tiene en cuenta que ciertos factores de transcripción que intervienen en procesos de memoria, como son el CREB y el ELK, necesitan tener un nivel adecuado de fosforilación para permanecer activos. Lo mismo sucede con la quinasa Dyrk1A, cuya actividad está aumentada en el síndrome de Down. Se ha demostrado que el exceso de presencia de Dyrk1A afecta a la actividad de factores de transcripción y provoca modificaciones en la morfología y funcionalidad de ciertas neuronas.

Si atendemos ahora al proceso inverso de la fosforilación que es la desfosforilación por fosfatasa, una de ellas es la calcineurina. Pues bien, el gen DSCR1 del cromosoma 21 inhibe la actividad de la calcineurina, por lo que no es de extrañar que se haya visto que la actividad de la calcineurina esté fuertemente disminuida en el cerebro del síndrome de Down. El resultado, una vez más, es el desequilibrio en el grado de fosforilación de determinadas proteínas, ya que si el componente fosfatásico o desfosforilante está disminuido, habrá mayor actividad fosforilante. También se ha comprobado que la desregulación de la actividad de la calcineurina se acompaña de déficit cognitivo y conductual.

La regulación transcripcional y traduccional

de estos genes, es muy compleja y constituye una de las características determinantes de los fenotipos neuronales en el cerebro.

**Tabla 1. Proteínas derivadas de genes del cromosoma 21 implicadas directa o indirectamente en la regulación de la transcripción\***

NR1P1	ZNF295
GABPA	PKNOX1
ZNF294	HSF2BP
BACH1	AIRE
OLOG1	SUMO3
OLIG2	TIAM1
RUNX1	ITSN1
SIM2	SYNJ1
KIAA0136/ZCWCC3	DSCR1
ERG	SOD1
ETS2	PCP4
WDR9	DYRK1A
ZNF298	

## Resumen y conclusiones

En resumen, sea por mecanismos directos o indirectos, el efecto de dosis génica ocasionado por la trisomía de genes del cromosoma 21 puede influir negativamente sobre la regulación de los mecanismos de transcripción responsables en último término de la síntesis de ciertas proteínas. En la tabla 1 se indican las proteínas producidas por genes del cromosoma 21 que directa o indirectamente están implicadas en la regulación de la transcripción. Puesto que algunas de ellas son factores de transcripción que intervienen en la activación de otros genes pertenecientes a otros cromosomas, la alteración en el cromosoma 21 se expande y difunde al perturbar la expresión de genes de esos otros cromosomas, y así observamos que la trisomía

21 provoca cambios (incrementos o reducciones) en la presencia y función de proteínas que no dependen del cromosoma 21 sino de otros. Estos cambios originan disfunciones en la vida de las células, en alguna etapa de su desarrollo y de su vida. Es como si una onda expansiva iniciada en el cromosoma 21 se extendiera y afectara a la función de los genes de otros cromosomas.

Dado el alto grado de individualidad con que algunos genes actúan y se expresan en cada persona, como se ha expuesto al principio de este artículo, la alteración generada inicialmente por la trisomía en el cromosoma 21 afectará en su onda expansiva de forma diferente y diferenciada a las diversas personas con síndrome de Down. De ahí que la aparición de determinados fenotipos asociados al síndrome de Down sea tan variable en su frecuencia y en su intensidad.

Podemos, pues, concluir que el efecto de dosis génica en los genes específicos del cromosoma 21 es el principio esencial que condiciona el fenotipo del síndrome de Down. Pero este efecto queda fuertemente condicionado porque sus consecuencias alteran el funcionamiento de otros genes en otros cromosomas, con repercusiones recíprocas entre sí, lo que provoca una malla de interacciones posibles que es altamente personal e individual. Esto explica que:

1. Algunas consecuencias fenotípicas sean específicas o muy frecuentes en el síndrome de Down y no en cualquier otra trisomía de otros cromosomas.
2. Exista similitud de ciertos rasgos fenotípicos en relación con otras trisomías.
3. Exista una gran variabilidad en la aparición y extensión de ciertas manifestaciones fenotípicas entre los individuos con síndrome de Down: tan iguales y, al mismo tiempo, tan diferentes.