



## Metilación y envejecimiento sano

*Dr. Joaquín González Aragón  
Fundador y Ex Presidente del Consejo Mexicano de Geriátrica  
Director del Instituto Mexicano de Estudios en Longevidad*

Las rutas de muy diferentes individuos que estaban trabajando en diferentes países y con diferentes trastornos clínicos crearon una revolución en la medicina. Esa revolución está aún configurando no solamente estrategias específicas en la prevención y terapias médicas, sino también la forma en que se puede practicar la medicina en el siglo XXI.

El primer individuo fue el doctor R.W. Smithells y sus colegas que describieron un estudio usando mujeres que previamente habían dado a luz a uno o más infantes con un defecto del tubo neural. Las mujeres fueron reclutadas dentro de un ensayo de suplementación de multivitaminas periconcepcional. Solamente uno de los 178 niños de las madres suplementadas totalmente (0,6%) tuvieron el defecto del tubo neural, comparadas con los 13 de 260 niños nacidos de las madres a las que no se dio suplemento.

En el cierre de este estudio, doctor Smithells dijo: "Esperamos que los datos presentados animarán a otros a iniciar estudios similares y relacionados. Pretendemos publicar un estudio más detallado cuando la última de la presente cohorte de mujeres que recibieron suplementos de vitamina haya tenido su niño". Esta observación condujo al doctor Smithells y a sus colegas a evaluar las posibles anomalías del ácido fólico y el metabolismo de la vitamina B12 asociadas con defectos congénitos.

La investigación que duró 40 años ha proporcionado evidencia creciente del papel de la deficiencia del ácido fólico en los defectos del tubo neural. Esto se debe a que el folato se requiere en la división celular a través de su papel en la síntesis de las bases púricas y pirimídicas de los ácidos nucleicos. Una insuficiencia de ácido fólico en un punto crítico del desarrollo del sistema nervioso central,

cuando las células del embrión se están dividiendo rápidamente, limitaría la disponibilidad de tejido neural al folato y conduciría al fallo en la fusión de los pliegues neuronales ocasionando los defectos del tubo neural.

Once años más tarde en el Lancet, en un artículo titulado "Ácido fólico para evitar los defectos del tubo neural", los investigadores proporcionaron más evidencia en apoyo de las observaciones que Smithells había hecho en 1970. Concluyeron que la suplementación periconcepcional de vitaminas que contenían ácido fólico evitaría uno de los más comunes defectos de nacimiento.

En el año 2000, una editorial en el American Journal of Clinical Nutrition titulado "¿Es el deterioro de la absorción del folato un factor en los defectos del tubo neural?", hace una pregunta que debería ser ahora solamente retórica. Sirve para recordarnos, sin embargo, cuánto tiempo se precisará para que cambien las percepciones y actitudes en la comunidad científica y médica. Esto es, se necesitó llegar hasta 1992, después de una serie de ensayos y estudios de intervención, antes de que el mundo científico quedara convencido de que la suplementación periconcepcional maternal con ácido fólico era de suma importancia.

El segundo individuo del cuarteto es el doctor Charles Butterworth, un médico que evaluó la displasia cervical y su asociación con la insuficiencia del ácido fólico. Alguna vez escribió: "Después de más de 40 años de éxito después de usar antagonistas del ácido fólico para la terapia del cáncer, parece paradójico sugerir que la deficiencia de ácido fólico podría estar relacionada con la etiología de esa enfermedad". Butterworth encontró en un estudio controlado de casos que una combinación



de folato bajo de los glóbulos rojos de la sangre y una prueba para virus del papiloma estaba asociado con un aumento de riesgo de displasia cervical (pre-cáncer cervical intraepitelial). En un ensayo doble ciego, controlado por placebo, Butterworth y sus colegas informaron sobre los resultados de 47 mujeres jóvenes con displasia de leve a moderada del cérvix uterino que recibieron suplementación oral de ácido fólico, 10.000 µg diarios o placebo, durante tres meses. Todas las mujeres recibieron un agente anti-conceptivo oral de tipo combinado por lo menos seis meses y continuaron usándolo durante la suplementación de ácido fólico o periodo de placebo. Un solo observador sin conocimiento del tratamiento observó todas las muestras y biopsias al fin del periodo de ensayo.

Las calificaciones de las biopsias provenientes de mujeres suplementadas con folato fueron significativamente mejores, mientras que no tuvieron cambio en los pacientes que recibieron placebo. Antes del tratamiento, la media de la concentración de folato en los glóbulos rojos era más baja en los usuarios de agentes anticonceptivos orales que en los que no los usaban, y aún más baja entre las que padecían displasia. Las características morfológicas de anemia megaloblástica asociadas con displasia también mejoraron en los sujetos suplementados con folato.

Estos estudios indican que un desarreglo localizado y reversible en el metabolismo del folato puede a veces ser mal diagnosticado como displasia cervical, o que tal desarreglo es un componente integrado del proceso de la displasia que puede ser detenido o, en algunos casos, revertido por medio de suplementación de ácido fólico oral. El Dr. Butterworth y sus colegas claramente encontraron que la deficiencia de folato está asociada con la displasia cervical y aumenta el riesgo de infección del virus del papiloma humano en mujeres.

El tercer individuo de este cuarteto, el doctor Kilmer McCully, observó que la arteriosclerosis en su etapa temprana estaba asociada con elevados niveles del aminoácido homocisteína. Esta observación condujo a McCully en una misión de 30 años para entender más acerca de la relación de la homocis-

teína con la arteriosclerosis y cómo reducir los niveles de homocisteína por suplementación con el ácido fólico, vitamina B12 y vitamina B6.

McCully postuló que la unicidad genética en el metabolismo de la homocisteína relacionada con las alteraciones en el metabolismo del ciclo del folato podría predisponer a los individuos a enfermedad cardiovascular. Los doctores Smithells, Butterworth y McCully, todos ellos siguieron diferentes líneas de pensamiento, que fueron un curso convergente hacia el entendimiento del origen de muchas enfermedades relacionadas con la edad. El tema común es la alteración del metabolismo del ciclo del folato debido a unicidad genética en el manejo de la homocisteína.

Recientemente, Thomson y Butterworth informaron que la homocisteína total del plasma en 294 sujetos con neoplasia intraepitelial cervical y en 170 sujetos control, indicaron que la elevación de la homocisteína era un factor de riesgo de displasia intraepitelial cervical. El folato de los glóbulos rojos de la sangre y el plasma, y la vitamina B12, se correlacionaron inversamente con niveles de homocisteína; la severidad de la displasia cervical se correlacionó positivamente con los niveles de homocisteína. Este estudio parece cerrar la banda de las observaciones hechas por Smitheels, Butterworth y McCully. Los tres observaron que la unicidad genética, no modificada en el fenotipo, a través del aumento de los niveles de ingesta de folato y vitamina B12, se puede expresar como disfunciones a través del ciclo de desarrollo, desde el desarrollo fetal hasta la edad avanzada.

La cuarta persona en este cuarteto es un neurólogo de el Colegio de Médicos y Cirujanos en la Universidad de Columbia, el doctor John Lindenbaum, quien fue el primero en observar el deterioro cognitivo en hombres y mujeres ancianas que tenían elevados niveles de homocisteína y de ácido metilmalónico en su plasma u orina. Posteriores estudios indicaron que la mayoría de estos individuos no tenían deficiencias francas de vitamina B12 o deficiencias de folato. Los volúmenes corpusculares de los glóbulos rojos, la vitamina B12 del suero, y el folato, estaban dentro del rango nor-



mal. Ellos estaban, en cambio, sufriendo de una insuficiencia funcional de vitamina intracelular expresada como una disfunción neurológica.

Una intervención prospectiva, multicéntrica, doble ciego, controlada, comparó el efecto de suplementos de vitamina intramuscular que contenía 1000 µg de vitamina B12, 1100 µg de ácido fólico y 5 mg de vitamina B6 en concentraciones de suero de homocisteína y ácido metilmalónico a placebo en 175 sujetos ancianos viviendo en casa y 110 en hospitales.

El ensayo concluyó que la tasa de respuesta al suplemento de vitamina en el grupo que inicialmente tenía niveles normales de vitamina del suero "apoya la noción de que la evidencia metabólica de la deficiencia de vitaminas del complejo B es común en la vejez, aún en la presencia de niveles normales del suero. La mejoría de la función cognitiva y la conducta se notó como un logro positivo clínico asociado con la suplementación de vitaminas B6, B12 y ácido fólico en este estudio".

Lindenbaum también notó que algunas personas tenían polimorfismo genético de las enzimas necesarias para producir la metilación activa derivada del folato, 5-metiltetrahidrofolato. En estos individuos se puede requerir agregar betaína o dimetilglicina para mejorar la función cognitiva.

Lindenbaum también señaló que la mala absorción de la vitamina B12 y el ácido fólico puede ser común en los ancianos como una consecuencia de los cambios atróficos en las células parietales, dando por resultado una menor cantidad de ácido hidróclorídrico y secreción de factor intrínseco, que son necesarios para la absorción de vitamina B12.

Smithells, Butterworth, McCully y Lindenbaum son cuatro investigadores clínicos desde diferentes disciplinas trabajando hacia un concepto central en medicina.

La alteración y el metabolismo del folato y de la vitamina B12 pueden dar por resultado el metabolismo de la homocisteína sub-óptimo en individuos susceptibles, dando por resultado trastornos que pueden ir de nacimiento de niños con espina bífida o NTD, o ambos, a enfermedad cardíaca,

evento vascular cerebral, osteoporosis, demencia y cáncer, pero sólo hasta hace poco se han explicado estas relaciones.

### Ciclo del folato

La insuficiencia del ácido fólico está relacionada con la alteración en la ruta de transferencia del metilo de metionina a homocisteína. El más importante papel fisiológico del ciclo del folato y de las reacciones de transferencia de metilo es la metilación de las bases de ácido nucleico para formar nuevo ADN. Esta es la base de una prueba de clínica de folato y de vitamina B12, llamada prueba de supresión de deoxiuridina (dUST) que valora la formación de ADN por actividades dependientes de la B12 y el folato. En pacientes con displasia cervical durante un estudio de intervención doble ciego y al azar en el que 50 mujeres recibieron un placebo, la concentración media de folato aumentó cinco veces en el plasma y tres veces en los glóbulos rojos de la sangre después de la suplementación de ácido fólico. Estos resultados sugieren que la displasia cervical está relacionada con insuficiencia de folato, que altera la formación de ADN y la regulación de la célula en tejidos epiteliales.

El folato es esencial para la biosíntesis de novo de purinas y pirimidinas, y es un importante mediador en la transferencia de grupos metilo para la metilación de ADN, factor de gran importancia en el mantenimiento y reparación del ADN. Por tal motivo, la deficiencia de folato puede contribuir a la integridad anormal de ADN y roturas de bandas de ADN, ambas a nivel genómico y dentro de las secuencias específicas del gen supresor de tumor p53.

La carencia del ácido fólico ha sido implicada en el desarrollo de varios cánceres experimentales y humanos y también en el desarrollo de aberraciones dentro de estas regiones del gen p53 que fueron examinadas en el estudio, por ello se considera que la falta de este nutriente juega un papel integral en la carcinogénesis. Este estudio confirma que la deficiencia del ácido fólico en la dieta o los problemas digestivos en su absorción aumentan la carcinogénesis.



### **Homocisteína y un rango de enfermedades**

Estas observaciones conectan la historia de la homocisteína con la metilación del ADN y enfermedades como enfermedad cardíaca, cáncer, demencia de Alzheimer, evento vascular cerebral, defectos del tubo neural, displasia cervical y virus del papiloma humano.

Los investigadores del Centro de Investigación de la Nutrición Humana del Oeste de USA, recientemente intentaron determinar el requerimiento del folato humano sobre la base de cambios en las rutas bioquímicas, en lugar de basarse en los síntomas de deficiencia. La hipometilación del ADN fue revertida con 516 microgramos diarios de suplementación de ácido fólico, mientras que la elevación de la homocisteína disminuyó con 716 microgramos diarios; dosis menores de 286 microgramos diarios no tuvieron ninguna repercusión notoria.

Los resultados de este estudio indican que la deficiencia marginal del folato puede alterar la composición del ADN, por lo tanto la ingesta de 180 microgramos por día no son suficientes para mantener bajas las concentraciones de homocisteína del plasma y la tasa de síntesis y metilación del ADN.

### **Metilación del ADN y enfermedades relacionadas con el envejecimiento**

La metilación del ADN o la adición covalente de grupos de metilo a la citosina, tiene efectos profundos sobre el genoma. Estos efectos incluyen la modulación transcripcional que vinculan al metilo y sus factores asociados con la remodelación de la cromatina. La metilación del ADN es también esencial para el desarrollo embrional apropiado, aunque su presencia puede añadir una carga al genoma. Los patrones de metilación normal se ven perturbados en las células tumorales por hipometilación global que acompaña hipermetilaciones de las regiones específicas.

Un reciente trabajo que indica que la metilación del ADN es importante tanto para la reparación del ADN como para la estabilidad del genoma, junto con el descubrimiento de una nueva familia de metiltransferasas de ADN, pone al campo de la

metilación en primera línea en el área del envejecimiento y como un recurso de nutrigenética de capital importancia.

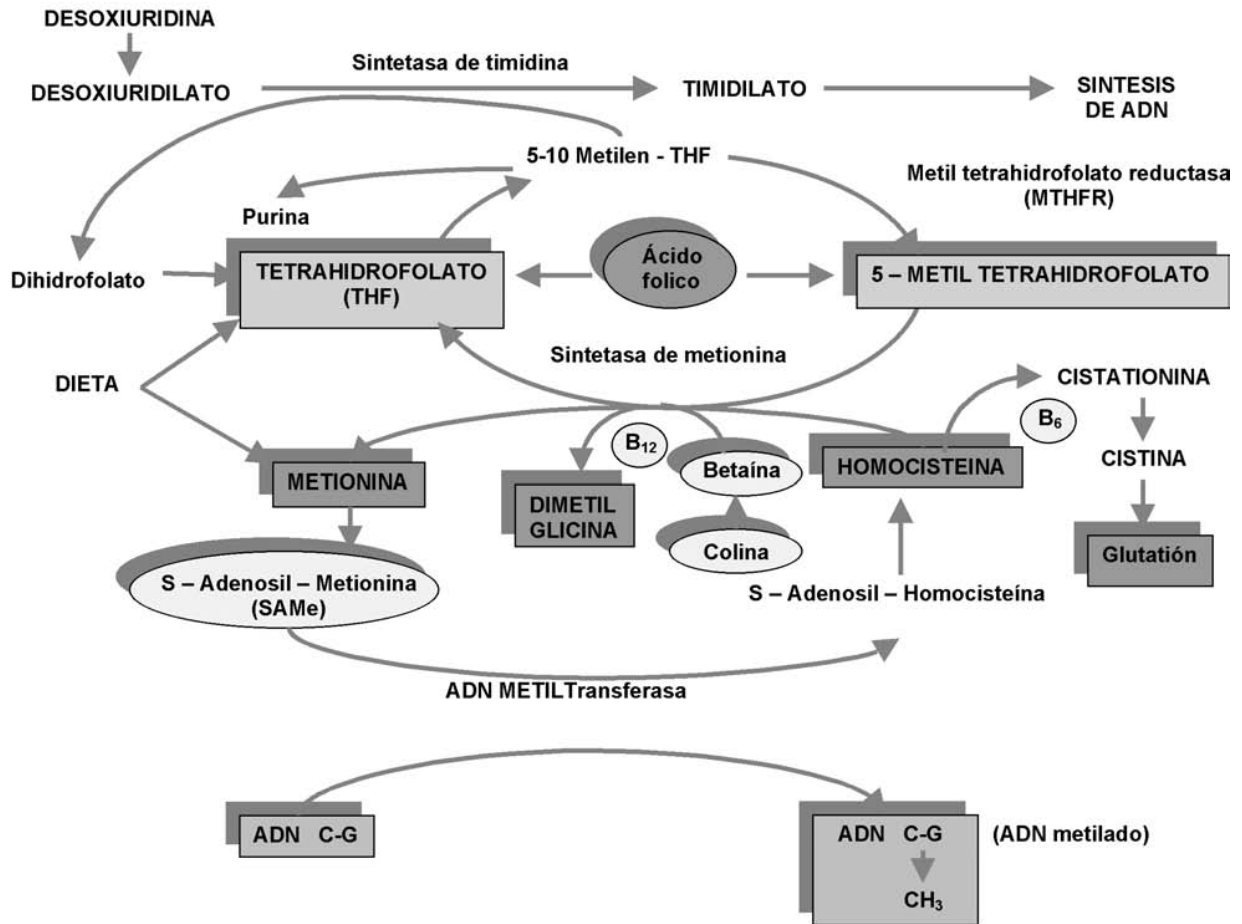
### **ADN y riesgo de enfermedad**

La metilación del ADN puede tener un impacto clínico significativo sobre la reducción de riesgo de varias enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Los animales alimentados con dietas deficientes de metilo, por la falta de aminoácidos azufrados como la metionina o los cofactores como la vitamina B12 y el ácido fólico, expresan patrones alterados de metiltransferasa de ADN y un aumento de la incidencia de tumores del hígado. Las alteraciones de los patrones de metilación del ADN también aumentan el riesgo de carcinogenesis en exposición a sustancias tóxicas exógenas y endógenas.

Bruce Ames, de la Universidad de California en Berkeley, señaló que el daño endógeno del ADN que se presenta como una consecuencia de la exposición oxidante o reacción carcinógena, debe de ser reparado a través de los procesos apropiados inducidos por la metilación. Por lo tanto, la insuficiencia de reacciones mediadas por la transferencia de metilos como una consecuencia de la alteración en el ciclo del folato, puede aumentar el riesgo de cáncer y de otros desórdenes relacionados con el envejecimiento, y se asocia con las imperfecciones en la reparación del ADN.

Un estudio reciente evaluó las concentraciones de folato y vitamina B12 en muestras de tejidos apareados de individuos con cáncer escamoso celular del pulmón, al mismo tiempo valoró los patrones de metilación del ADN en estos tejidos. Las concentraciones de vitamina B12 y folato eran significativamente más bajas en las muestras de tejido de neoplásico que en los controles sin cáncer de la misma edad. Las muestras de tejido de cáncer desplegaron patrones de significativa sub-metilación. Existe una fuerte correlación entre la baja de folato y vitamina B12 con dicha sub-metilación. Estos datos indican que el ácido fólico podría ser la vitamina limitante de la metilación del ADN apropiada y que esto puede tener algo que ver con la transcripción del gene y el riesgo de cáncer. Puede ser

Gráfico. Metabolismo de Metionina y Folato



que ciertos individuos presenten diferencias genéticas en el metabolismo del folato que los hacen susceptibles a estos problemas como consecuencia de una deficiencia "funcional" de folato o vitamina B12.

### Metilación, demencia y enfermedad de Alzheimer

Además del riesgo cardíaco asociado con el polimorfismo de las enzimas del ciclo tetrahidro folato y la deficiencia de ácido fólico en las mujeres está el riesgo de demencia y enfermedad de Alzheimer. Del 6 al 8 por ciento de todas las personas de más de 65 años de edad tienen la enfermedad de Alzheimer, y su incidencia va en aumento. Varios estudios han mostrado que a medida que disminuye el metabolismo del folato y la vitamina B12 y la

homocisteína aumenta, surge la incidencia de la disfunción cognoscitiva.

Los estudios indican que las mujeres que se encuentran bajo terapias de reemplazo hormonal tienen más altos los niveles de metilcobalamina (vitamina B12 metilada) y más bajos los niveles de homocisteína del plasma. Se ha mostrado recientemente que el estradiol activa las enzimas metilantes responsables tanto del control de la metilación de los neurotransmisores como de la formación de fosfolípidos en las membranas neuronales.

El aumento de la producción de 5-metiltetrahidrofolato también aumenta la producción de S-adenosilmetionina (SAM). Esto es importante porque el control de la síntesis, metabolismo y degrada-



ción de los neurotransmisores, así también como de la síntesis de los fosfolípidos de las membranas de las neuronas, dependen en parte de la apropiada metilación. Las alteraciones en la ruta de un solo carbono (ciclo del folato) han sido correlacionadas con la depresión y enfermedades neuropsiquiátricas. Por lo tanto, las deficiencias de ácido fólico, vitamina B12, ausencia de estrógeno, resistencia a la insulina, y polimorfismos de enzimas metilantes, son reconocidos todos como factores de riesgo de demencia. Esto puede explicar por qué las terapias de ácido fólico, vitamina B12 y S-adenosil- metionina (SAM), son de tal valor en psiquiatría.

Ahora se sabe que del 5 al 15% de la población en general por ser una forma mutante de la enzima del ciclo tetrahidro folato, y por ello tienen un riesgo más severo, debido al metabolismo inapropiado de la homocisteína y a la pobre metilación del ADN.

### Amplia necesidad de folato aumentado

El resultado de estas observaciones es que en una minoría de personas en la población en general puede haber mayor necesidad de folato. La mayoría de estos individuos están inconscientes de estos polimorfismos genéticos y por lo tanto pueden estar "siguiendo las reglas" consumiendo dietas que son adecuadas para el promedio individual en ácido fólico, vitaminas B6 y B12.

El apoyo nutricional con ácido fólico, cianocobalamina (vitamina B12), piridoxina (vitamina B6), riboflavina (vitamina B2), betaína, colina y ascorbato (vitamina C) como agente reductor, sería deseable en 30% de la población que porta el polimorfismo de las enzimas que intervienen en el ciclo de tetrahidrofolato. La combinación de este polimorfismo (diversidad genética), una dieta de pobre calidad y la ingesta de alcohol pueden aumentar la probabilidad de enfermedad cardiovascular, demencia, evento vascular cerebral, cáncer cérvico uterino o de ovario.

### BIBLIOGRAFIA

- West RL, Lee JM, Maroun LE. "Hypomethylation of the amyloid precursor protein gene in the brain of an Alzheimer's disease patient". *F Mol Neurosci.* 1995;6(2):141-146.
- Zingg JM, Jones FA. "Genetic and epigenetic aspects of DNA methylation on genome expression, evolution, mutation and carcinogenesis". *Carcinogenesis.* 1997;18(5):869-882.
- Akaike A, Tamura Y, Sato Y, Yokota T. "Protective effects of a vitamin B12 analog, methylcobalamin, against glutamate cytotoxicity in cultured cortical neurons". *E F Pharmacol.* 1993;241: 1-6.
- McCully KS. "Chemical pathology of homocysteine II." *Carcinogenesis and homocysteine thiolactone metabolism Ann Clin Lab Sci.* 1994;24(1):27-59.
- Regland B, Johansson BV, Grenfeldt B, Hjelmgren LT, Medhus M. "Homocysteinemia is a common feature of schizophrenia." *F Neural Transm.* 1995;100(2): 165-169.
- Lindenbaum J, Healton EB, Savage, DG, et al. "Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis." *N Engl J Med.* 1988;318(26): 1720-1728.
- Stabler SP, Lindenbaum J, Savage DG, Allen RH. "Elevation of serum cystathionine levels in patients with cobalamin and folate deficiency." *Blood.* 1993;81 (12):3404-3413.
- Naurath HJ, Joostein E, Reiner R, et al. "Effects of vitamin B12, folate, and vitamin B6 supplements in elderly people with normal serum vitamin concentrations." *Lancet.* 1995;346:85-89.
- Verhoef P, Stampfer MJ, Buring JE, et al. "Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction: relation with vitamins B6, B12, and folate." *Am J Epidemiol.* 1996;143(9):845-859.
- "Betaine therapy for homocystinuria." *Nutr Rev.* 1984;42(5): 180-182.
- Kim YI, Logan JW, Mason JB, et al. "DNA hypomethylation in inflammatory arthritis: reversal with methotrexate." *F Lab Clin Med.* 1996;128:165-172.
- Zingg JM, Jones PA. "Genetic and epigenetic aspects of DNA methylation on genome expression, evolution, mutation and carcinogenesis." *Carcinogenesis.* 1997;18(5):869-882.
- Wilcken. "Mutation, folate intake, neural-tube defect, and risk of cardiovascular disease." *Lancet.* 1997;350:603-604.
- Flynn MA, Herbert V, Nolph GB, et al. "Atherogenesis and the homocysteine folate-cobalamin triad: do we need standardized analyses?" *F Am Coll Nutr* 1997;16(3):258-267