



BookReview

Ștefănescu Grigorie,
Epigenetica generală și umană
[General and Human Epigenetics].
Edit. "Risoprint",
Cluj-Napoca, 2020, 450 p.

Over the past years, professor Grigorie Ștefănescu has accustomed us with the elaboration and publication of some genuinely informative monographs on genetics and evolutionism - related problems, which could not pass unobserved by all those willing to access updated information on these topical scientific fields.

The professional experience acquired along his academic career enables him to take position on delicate matters of biology, in general, and genetics, in particular. It is certain that many of those who read the monograph dedicated to the first and (in my opinion) the most brilliant of geneticists – Johann Gregor Mendel – were impressed by the manner of depicting his life and valorising his work, which meant, in 1865, the birth of a new branch of biology – Genetics – a top field of science which dominated the entire 20th century and which currently contributes to the development of vaccines against Sars-Cov-II virus, or mainly through genetic engineering.

On this occasion, Dr. Ștefănescu guides us through another area of genetics, namely epigenetics. Not only that the genes in the genome of an organism and the interaction among them make what it is as a phenotype but the environment of the genes also has a significant impact on the resulting phenotype. Epigenetics represented a research line which has long been underestimated by specialists, on account of what we think might be the reserve or caution of not being labelled as followers of Lamarckism. However, there is a long distance between the inheritance of acquired characters (supported by Lamarck) and the influence exerted by some factors outside the genes on their expression. More than a century after Lamarck's ideas were advanced, after the confirmation of the principles of heredity established by Mendel and the birth of genetics as a science at the beginning of the past century and later through the progress made year after year in knowing the molecular basis of the inheritance of living organisms, it was found that phenotype is not just the direct expression of a gene, of a certain

genotype, but the result of its confrontation with specific environmental conditions. It was the merit of Conrad Waddington (to whom the author dedicates this paper), to express his opinions in the early 1940s on this matter and to propose a name for this perspective - i.e. epigenetics, by which he understood "*a branch of biology science that studies the causal interactions between genes and their product, which lead the phenotype to existence*". Subsequently, this concept would receive more and more confirmation that not only the nucleotide sequence in a gene dictates a certain character but, sometimes, the phenotype expressed by the organism also depends on other genetic (internal) and /or external factors, their (external) - intrinsic and extrinsic causes, as stated by the author. Epigenetic mechanisms can influence (modulate) the phenotypic expression of genes, the functioning of larger genetic units, such as regions of chromosomes, certain chromosomes and even an entire genome. It should be noted that epigenetic factors do not affect the sequence of nucleotides in DNA, but influence gene expression.

Professor Ștefănescu structured his work in two main parts, the first called general epigenetics (focused more on discoveries of this kind in *Drosophila*) and the latter, broader part—referring to humans, to which he dedicates 3 and, respectively, 7 chapters. In both situations, the author comes up with examples of epigenetic phenomena caused by intrinsic and extrinsic causes. The paper begins with an introductory chapter, which presents some concepts that have circulated over time about the development of organisms (ontogeny), to move on to the specific problems of genetics and epigenetics of the twentieth century and the present.

To illustrate situations of epigenetic influence of extrinsic factors, the author presents some examples of this type in mutants of fruit flies and shows how: in the larval stage, temperature, X-ray irradiation, oxygen pressure, some substances (formalin, imidazole, ammonium lactate, some urea, acetamide, etc.) influence the number of ommatidial facets in the bar-shaped eye mutant (Bar); or how, at the same stage of development of the insect, the level of temperature and some substances (ammonium lactate) influence the size of the wings in the mutant with rudimentary wings (vg). In this context, the author also discusses the differences between mutations and changes and the importance of these phenomena to affected organisms.

Among the epigenetic factors of a genetic nature, Professor Ștefănescu discusses in the paper a series of phenomena encountered in the living world and their consequences, including: the effect of heterochromatinization and its role in genetic regulation of chromosomes or genomes; the position effect, which consists in changing the position of one (some) gene(s) in relation to another(s) and generating different phenotypes; post-transcriptional regulation of gene expression by micro-RNA (mi-RNA), small molecules of non-coding RNA,

which can interfere with mRNA and cause cleavage, destabilization, reduced efficiency in the translation of genetic information; gene interaction - a relatively widespread genetic phenomenon, which contributes to the diversification of the resulting phenotypes. In the latter case, a series of interactions between allele and non-allele genes are presented, such as: paramutation, incomplete dominance, semi-dominance, supra-dominance, codominance, complementation, epistasia, polygenia, etc., coming with examples to illustrate and explain these genetic events. An epigenetic mechanism for controlling gene activity, mentioned above, is hetero-chromatinization, a process performed by methylation, acetylation and phosphorylation reactions of histone proteins in the DNA-histone complex. These reactions may include segments on certain chromosomes, but may sometimes extend to entire chromosomes, such as the Y sex chromosome in some eukaryotes. In the same context can be mentioned the process of lionization that takes place in placental mammals and consists in the optional heterochromatinization in females, shortly after fertilization, of one of the two X chromosomes, a phenomenon that achieves a balance of X-linked genes in both sexes. In the category of epigenetic factors influencing the activity of genes, some hormones can be included, both in animals and in plants.

In the second part of the paper, as mentioned above, the author reviews a series of epigenetic factors that act during human development, from the formation and union of gametes to the birth of the foetus, with references and comparisons on their intervention and development other organisms. The experiences that demonstrated the totipotency of cells, the fact that the somatic cell nucleus contains the genetic information necessary to obtain new organisms through somatic embryogenesis and somatic cloning, respectively, are edifying in illustrating the role of epigenetic factors in directing developmental processes in plants and animals. Epigenetic factors that intervene and reconvert somatic cells into somatic embryos (similar to zygotic ones) are present either in the cytoplasm or in the nutrient medium in which the cells are cultured. The evolution of plant explants towards direct or indirect organogenesis (via callus), somatic embryogenesis, etc., in *in vitro* cultures, depends on a series of such epigenetic factors, internal and external, such as: type of implant, its nature and age, cultivation conditions (temperature, light / dark, the presence in the nutrient environment of some growth factors and their type). Therefore, the processes of cell differentiation and redifferentiation, of organogenesis, can be directed through these epigenetic factors.

Among the epigenetic factors, the author also includes the mobile genetic elements (EGM) and their impact on genetic events that take place in the genome of eukaryotes. In this context, it is shown that retrotransposons are responsible for producing mutations in the human genome, disease-generating mutations. The paper lists some human genetic diseases caused by insertional mutations of these

elements: cholinesterase deficiency, neurofibromatosis, Alport syndrome, β -thalassemia and others. In turn, these transposable elements can be influenced by other epigenetic factors and hence new phenotypic effects.

An extensive chapter is dedicated by the author to nutrition as an important epigenetic factor in terms of its repercussions on human health. The preamble presents the observations and conclusions reached in the case of such studies, included by Campbell and Campbell (2004) in the volume entitled "*Study of China*", which shows that a proper diet can prevent some diseases, such as diabetes. type II, some heart diseases, breast and prostate cancer, etc., that a diet consisting of vegetables and fruits rich in antioxidants can ensure good health (including mental) in old age, etc. In this chapter, the author pays special attention to aflatoxins, substances specific to some species of molds of the genus *Aspergillus*, which have a carcinogenic effect. Some aflatoxins interfere with the process of DNA methylation and in this way can alter the expression of some genes. For example, this mechanism of DNA methylation is disrupted in aflatoxin-induced hepatocellular carcinomas. These mycotoxins can cause the silencing of some genes, such as the one responsible for p53 protein synthesis, a kind of cell guardian inhibiting the initiation of a tumour process. They can also cause post-translational changes in histones - a mechanism by which they induce pathological conditions, or they can interfere with mi-RNA (regulators of gene expression) and thus can influence the processes of cell proliferation and differentiation, etc. In this chapter, the author discusses in detail the experiences of Campbell et al. in the "*China Study*", highlighting the role of diet in preventing some forms of cancer, as well as some natural remedies, rich in antioxidants, which can also help neutralize the effect of aflatoxins and lead to good health.

In conclusion, we consider that the scientific approach of Professor Grigorie Ștefănescu is a salutary one in our scientific literature. Although some aspects of the impact of epigenetic factors in modulating gene expression have been approached in many genetics publications in our country since 1967, this book is (to our knowledge) the first of its kind to attempt to synthesize the knowledge acquired in this field so far and its elaboration resides on the consultation of a huge bibliographic material (covering no less than 64 pages), while its conception and elaboration are by no means original. This book will certainly arouse the interest of specialists in the field of genetics and not only and will represent a valuable reference material for all those interested in an introduction to the problems of epigenetics.

PhD Professor Gogu Ghiorgھیță
Full Member of Academy of Romanian Scientists

Recenzie

**Ștefănescu Grigorie, *Epigenetica generală și umană*,
Edit. "Risoprint", Cluj-Napoca, 2020, 450 p.**

În ultimii ani, profesorul Grigorie Ștefănescu ne-a obișnuit cu elaborarea și publicarea unor monografii de real interes în probleme de genetică și evoluționism, care nu au putut fi ignorate de cei dornici să se informeze în aceste domenii științifice mereu în actualitate. Experiența profesională dobândită de-a lungul carierei universitare îi permite să se pronunțe în probleme deloc facile ale biologiei în general și geneticii în special. Cu siguranță, mulți dintre cei ce au lecturat monografia dedicată de autor primului și (în opinia mea) cel mai genial dintre geneticieni – Johann Gregor Mendel, au rămas impresionați de modul cum i-a zugrăvit viața și i-a pus în valoare opera, care în 1865 însemna nașterea unei noi ramuri biologice - Genetica, domeniu de vârf al științei care a dominat întregul secol al XX-lea și care iată, în zilele noastre contribuie la realizarea de vaccinuri împotriva virusului Sars-Cov-II, inclusiv, sau mai ales prin inginerie genetică.

De data aceasta, domnul dr. Ștefănescu ne poartă pașii printr-un alt ungher al geneticii și anume cel al epigeneticii. Nu doar genele din genomul unui organism și interacțiunea dintre ele, îl fac ceea ce este el ca fenotip, ci și ambianța genelor are un "cuvânt" important de spus asupra fenotipului care rezultă. Epigenetica a fost o direcție de cercetare căreia nu i s-a acordat multă vreme atenția cuvenită din partea specialiștilor, motivul fiind credem rezerva, o anume prudență, de a nu fi etichetați ca adepți ai lamarckismului. Numai că între moștenirea caracterelor dobândite (susținută de Lamarck) și influența exercitată de unii factori din afara genelor asupra expresiei acestora, este cale lungă. După mai bine de un secol de la ideile lui Lamarck, după confirmarea principiilor eredității stabilite de Mendel și nașterea geneticii ca știință la începutul secolului trecut și mai apoi prin progresele înregistrate an de an în cunoașterea bazelor moleculare ale eredității organismelor vii, s-a constatat că fenotipul nu este doar expresia directă a unei gene, a unui anume genotip, ci un rezultat al confruntării acestuia cu condițiile de mediu specifice. A fost meritul lui Conrad Waddington (căruia îi dedică autorul lucrarea de față), să se pronunțe la începutul anilor 1940 în această speță, să propună și un nume acestei maniere de a privi lucrurile – *epigenetica*, prin care el înțelegea "*o ramură a științei biologice care studiază interacțiunile cauzale între gene și produsul lor, care conduc fenotipul spre existență*". Ulterior, acest concept avea să primească tot mai multe confirmări ale faptului că nu doar secvența nucleotidelor într-o genă dictează un anumit caracter ci, uneori, fenotipul exprimat de organism depinde și de alți factori de natură genetică (internă) și/sau din afara lor (externă) - cauze intrinseci și extrinseci, cum precizează autorul. Prin mecanismele epigenetice poate fi influențată (modulată)

expresia fenotipică a genelor, funcționarea unor unități genetice mai mari, cum ar fi regiuni ale cromosomilor, anumiți cromosomi și chiar un întreg genom. De precizat că, factorii epigenetici nu afectează succesiunea nucleotidelor în ADN, ci influențează expresia genelor.

Profesorul Ștefănescu și-a structurat lucrarea în două mari părți, una să-i spunem de epigenetică generală (axată mai mult pe descoperiri de acest gen la *Drosophila*) și a doua, mai amplă - referitoare la om, cărora le dedică 3 și respectiv 7 capitole. În ambele situații, autorul vine cu exemple de fenomene epigenetice determinate de cauze intrinseci și extrinseci. Lucrarea începe cu un capitol introductiv, în care sunt prezentate unele concepții care au circulat de-a lungul vremurilor despre dezvoltarea organismelor (ontogenie), pentru a face apoi trecerea la problemele specifice geneticii și epigeneticii secolului al XX-lea și din zilele noastre.

Pentru a ilustra situații de influență epigenetică a unor factori extrinseci, autorul prezintă unele exemple de acest tip la mutante ale musculiței de oțet și arată cum: în stadiul larvar, temperatura, iradierea cu raze X, presiunea oxigenului, unele substanțe (formalină, imidazol, lactat de amoniu, unele ureide, acetamidă etc.) influențează numărul de fațete omatidiale la mutanta cu ochi în formă de bară (Bar); sau cum, în același stadiu de dezvoltare al insectei, nivelul temperaturii și unele substanțe (lactatul de amoniu) influențează dimensiunile aripilor la mutanta cu aripi rudimentare (vg). În acest context, autorul discută și diferențele dintre mutații și modificări și importanța acestor fenomene pentru organismele afectate.

Între factorii epigenetici de natură genetică, profesorul Ștefănescu discută în lucrare o serie de fenomene întâlnite în lumea vie și consecințele lor, între care figurează: efectul de heterocromatinizare și rolul lui în reglajul genetic la nivelul cromosomilor sau al genomului; efectul de poziție, care constă în schimbarea poziției unei (unor) gene în raport cu alta (altele) și care generează fenotipuri diferite; reglarea post-transcripțională a expresiei genelor prin micro-ARN (mi-ARN), molecule mici de ARN necodificator, care pot interfera cu ARNm și îi pot provoca clivarea, destabilizarea, reducerea eficienței în translația informației genetice; interacțiunea genelor – fenomen genetic relativ răspândit, care contribuie la diversificarea fenotipurilor rezultate. În acest ultim caz, sunt prezentate o serie de interacțiuni între genele alele și nealele, precum: paramutația, dominanța incompletă, semidominanța, supradominanța, codominanța, complementația, epistazia, poligenia etc, venind cu exemple care să ilustreze și să explice aceste evenimente genetice. Un mecanism epigenetic de control al activității genelor, menționat anterior, este hetero-cromatinizarea, proces realizat prin reacții de metilare, acetilare și fosforilare a proteinelor histonice din complexul ADN-histone. Aceste reacții pot cuprinde segmente de pe anumiți cromosomi, dar se pot extinde uneori asupra unor cromosomi întregi, cum este

cazul cromosomului sexual Y la unele eucariote. În același context poate fi amintit și procesul de lionizare care are loc la mamiferele placentare și constă în heterocromatinizarea facultativă la femele, la scurt timp după fecundare, a unuia din cei doi cromosomi X, fenomen prin care se realizează un echilibru al genelor X-linkate la cele două sexe. În categoria factorilor epigenetici de influențare a activității genelor pot fi incluși și unii hormoni, atât la animale, cât și la plante.

În partea a doua a lucrării, așa cum precizam anterior, autorul trece în revistă o serie de factori epigenetici ce acționează pe parcursul dezvoltării la om, de la formarea și unirea gameților până la nașterea fătului, cu trimiteri și comparații privind intervenția acestora și în dezvoltarea altor organisme. Edificatoare în privința ilustrării rolului unor factori epigenetici în dirijarea unor procese de dezvoltare la plante și animale sunt experiențele care au demonstrat totipotența celulelor, faptul că nucleul celulelor somatice conține informația genetică necesară obținerii unor organisme noi prin embriogeneză somatică și respectiv clonare somatică. Factorii epigenetici care intervin și reconvertesc celulele somatice în embrioni somatici (asemănători celor zigotici), sunt prezenți fie în citoplasmă, fie în mediul nutritiv în care sunt cultivate celulele. Evoluția unor explante vegetale spre organogeneză directă sau indirectă (via calus), embriogeneză somatică etc., în culturile *in vitro*, depinde de o serie de astfel de factori epigenetici, interni și externi, cum ar fi: tipul de eplant, natura și vârsta acestuia, condițiile de cultivare (temperatură, lumină/întuneric, prezența în mediul nutritiv a unor factori de creștere și tipul acestora). Prin urmare, procesele de dediferențiere și rediferențiere celulară, de organogeneză, pot fi dirijate prin intermediul acestor factori de natură epigenetică.

Între factorii epigenetici, autorul include și elementele genetice mobile (EGM) și impactul acestora asupra unor evenimente genetice ce au loc în genomul eucariotelor. În acest context, se arată că retrotranspozonii sunt responsabili de producerea unor mutații în genomul uman, mutații generatoare de boli. În lucrare sunt enumerate unele boli genetice umane provocate de mutații inserționale ale acestor elemente: deficiența colinesterazică, neurofibromatoza, sindromul Alport, β -talasemia ș. a. La rândul lor și aceste elemente transpozabile pot fi influențate de alți factori epigenetici și de aici noi efecte fenotipice.

Un capitol amplu este dedicat de autor alimentației ca factor epigenetic important sub aspectul repercusiunilor acesteia asupra sănătății omului. Sunt prezentate în preambul observațiile și concluziile la care s-a ajuns în cazul unor studii de acest gen, incluse de Campbell și Campbell (2004) în volumul intitulat "*Studiul China*", din care rezultă că o alimentație corectă poate evita unele boli, precum diabetul de tip II, unele maladii ale inimii, cancerul de sân și de prostată ș. a., că o dietă constând în legume și fructe bogate în antioxidanți poate asigura o bună stare de sănătate (inclusiv mentală) la vârste înaintate etc. În cadrul acestui capitol, autorul acordă o atenție specială aflatoxinelor, substanțe specifice unor

specii de mucegaiuri din genul *Aspergillus*, care au efect cancerigen. Unele aflatoxine interferează cu procesul de metilare a ADN și în acest fel pot altera expresia unor gene. Bunăoară, în carcinoamele hepatocelulare induse de aflatoxine este dereglat acest mecanism de metilare al ADN. Aceste micotoxine pot provoca silențierea unor gene, cum ar fi cea responsabilă de sinteza proteinei p53, un soi de gardian celular care inhibă inițierea unui proces tumoral. Ele pot de asemenea provoca modificări post-tranlaționale ale histonelor - mecanism prin care induc stări patologice, sau pot interfera cu mi-ARN (reglatori ai expresiei genelor) și în acest fel pot influența procesele de proliferare și diferențiere celulară etc. În cadrul acestui capitol, autorul discută pe larg experiențele realizate de Campbell et al. în ”*Studiul China*”, evidențind rolul alimentației în prevenirea unor forme de cancer, precum și unele remedii naturiste, bogate în antioxidanți, care pot contribui inclusiv la neutralizarea efectului aflatoxinelor și conduc la o stare bună a sănătate.

Apreciem, în concluzie, că demersul științific al domnului profesor Grigorie Ștefănescu este unul binevenit în literatura științifică de profil de la noi. Chiar dacă unele aspecte privitoare la impactul unor factori epigenetici în modularea expresiei genelor au apărut în multe lucrări de genetică publicate la noi în țară după 1967, cartea de față este (după știința noastră) prima de acest fel care încearcă să sintetizeze cunoștințele dobândite în acest domeniu până în prezent, la elaborarea ei stând consultarea unui imens material bibliografic (întins pe nu mai puțin de 64 pagini), iar maniera de a o concepe și elabora este una originală. Cu siguranță această carte va stârni interesul specialiștilor în domeniul geneticii și nu numai și va reprezenta un material documentar valoros pentru toți cei ce vor să se introducă în problemele epigeneticii.

Prof. univ. dr. Gogu Ghiorghiță