

Aplicabilidad clínica de la epigenética en obesidad

Clinical applicability of epigenetics in obesity

10.53435/funj.00992

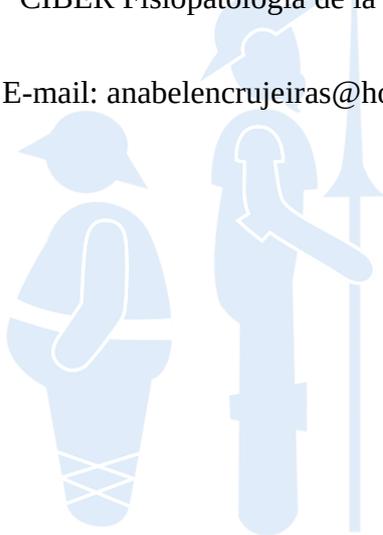
Aplicabilidad clínica de la epigenética en obesidad

Autora: Ana B Crujeiras ^{1,2}

¹ Grupo de Epigenómica en Endocrinología y Nutrición. Unidad de Epigenómica. Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago (IDIS), Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS/SERGAS), Santiago de Compostela, España.

² CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición, Madrid, España.

E-mail: anabelencrujeiras@hotmail.com; ana.belen.crujeiras.martinez@sergas.es



bmi journal
seco-seedo

Aplicabilidad clínica de la epigenética en obesidad

Resumen

Los últimos hallazgos en el campo de la epigenética han puesto de manifiesto que la obesidad, al igual que otras enfermedades metabólicas, está regulada por mecanismos epigenéticos y que determinadas terapias de uso actual en la clínica, como la cirugía bariátrica y las intervenciones nutricionales para la pérdida de peso, son capaces de revertir el epigenoma relacionado con la obesidad. A pesar de las evidencias sobre el papel de la regulación epigenética en obesidad, actualmente no se conoce si los mecanismos epigenéticos asociados a la obesidad son causa o consecuencia del exceso de adiposidad. Sin embargo, existen evidencias suficientes que avalan la utilidad del estudio de estos mecanismos epigenéticos como herramientas en la detección de la predisposición al desarrollo de la obesidad y sus enfermedades asociadas y también pueden actuar como posibles dianas terapéuticas, útiles en el campo de la nutriepigenómica y la farcoepigenómica. En esta revisión se expondrá la evidencia científica más actualizada sobre la implicación de la regulación epigenética en el campo de la obesidad, con un especial énfasis en las marcas de metilación del ADN y su utilidad en la prevención, el diagnóstico y tratamiento de la obesidad y sus enfermedades asociadas.

Palabras clave: epigenetica, tejido adiposo, compuestos bioactivos, medicina personalizada

Introducción

La epigenética es un campo emergente de la ciencia que constituye el puente entre el genotipo y el fenotipo, determinando las complejas interacciones que tienen lugar entre el genoma y el medio ambiente y que afectan la salud de los organismos. Se han demostrado varias aplicaciones de las marcas epigenéticas para la medicina personalizada en el campo de la oncología, sin embargo, en el campo de la endocrinología y la nutrición, la epigenética es todavía una ciencia muy joven. Los últimos hallazgos en el campo de la epigenética han puesto de manifiesto que la obesidad, al igual que otras enfermedades metabólicas, está regulada por mecanismos epigenéticos y que determinadas terapias de uso actual en la clínica, como la cirugía bariátrica y las intervenciones nutricionales para la pérdida de peso, son capaces de revertir el epigenoma relacionado con la obesidad¹. La obesidad es un trastorno multifactorial que está directamente influenciado por el efecto que ejercen determinados agentes externos, en mayor proporción de la propia genética de cada persona ². Los mecanismos moleculares implicados en la conexión entre los factores ambientales y la expresión de los genes se denominan mecanismos epigenéticos y la ciencia que estudia estos mecanismos es la epigenética. Estos mecanismos epigenéticos consisten en marcas químicas que se unen al ADN y regulan la expresión de los genes, pero sin modificar la secuencia del ADN. Igual que las mutaciones genéticas, estas marcas epigenéticas son heredables, pero a diferencia de las mutaciones genéticas son reversibles. Los principales mecanismos moleculares más relevantes involucrados en la regulación epigenética son los siguientes: la metilación del ADN, las modificaciones postraduccionales de las histonas (PTM; del inglés, post-translational modifications of histones) y los ARN no codificantes (ARNnc), que incluyen los micro-ARN (mi-ARN) y los ARN largos no codificantes (ARNlnc) (**Fig. 1**).

Figura 1

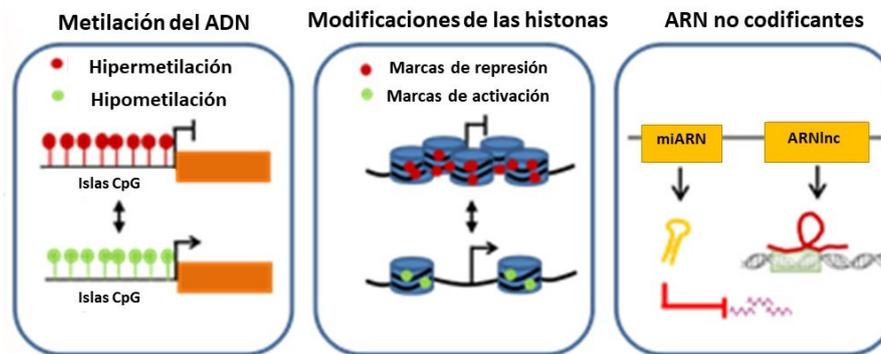


Figura 1. Principales mecanismos epigenéticos. La metilación del ADN, las modificaciones postraduccionales de las histonas, y los ARN no codificantes desempeñan un papel fundamental en la regulación de la expresión génica actuando en las diferentes etapas de la vida de un individuo. ADN: ácido desoxirribonucleico; ARN: ácido ribonucleico; ARNln: ARN largo no codificante; miARN: microARN; CpG: dinucleótido citosina-guanina, separadas por un enlace fosfodiéster (del inglés, cytosine-phosphodiester-guanine). Modificado de ⁵¹.

En esta revisión se expondrá la evidencia científica más actualizada sobre la implicación de la regulación epigenética en el campo de la obesidad, con un especial énfasis en las marcas de metilación del ADN y su utilidad en la prevención, el diagnóstico y tratamiento de la obesidad y sus enfermedades asociadas.

Epigenética y obesidad: ¿el huevo o la gallina?

A pesar de las evidencias sobre el papel de la regulación epigenética en obesidad, actualmente no se conoce qué es primero, la patología de la obesidad que regula los mecanismos epigenéticos o es la regulación epigenética inducida por los factores

ambientales la que promueve el desarrollo de la obesidad y sus enfermedades asociadas. Es decir, actualmente no se conoce si los mecanismos epigenéticos asociados a la obesidad son causa o consecuencia del exceso de adiposidad.

Epigenética y obesidad

Aquí revisamos la evidencia de la hipótesis de que los cambios epigenéticos pueden inducir la obesidad, lo cual a su vez conduce a disfunciones en otros órganos y condicionar la susceptibilidad a padecer las enfermedades asociadas a la obesidad. Se han encontrado patrones específicos de factores epigenéticos, incluida la metilación del ADN, que también están asociados con la obesidad en un análisis de metilación del ADN en leucocitos y tejido adiposo a nivel del genoma completo ³⁻⁵ y en análisis de genes específicos, como los genes del reloj circadiano (por ejemplo, CLOCK; regulador circadiano del reloj, BMAL1; translocador nuclear de hidrocarburos arílicos y PER2; periodo circadiano 2), cuyo estado de metilación en los leucocitos humanos está asociado con la obesidad ⁶. Este perfil epigenético específico asociado con la obesidad puede ser inducido por factores ambientales en células somáticas, pero también un número de estudios demuestra que la exposición ambiental ancestral puede promover la herencia epigenética transgeneracional de la obesidad a través de epimutaciones en la línea germinal, es decir, la transmisión transgeneracional en la línea germinal (espermatozoide u óvulo) de marcas epigenéticas que influyen en parámetros fisiológicos y enfermedades, en ausencia de exposiciones ambientales directas ⁷. Por ejemplo, un estudio reciente demostró la presencia de regiones diferencialmente metiladas en el espermatozoide de la generación F3 de roedores machos con exposición ancestral al insecticida diclorodifeniltricloroetano (DDT) y varios genes previamente identificados asociados con la obesidad se correlacionaron con las epimutaciones identificadas ⁸. Esta transmisión de epimutaciones asociadas con la obesidad en

roedores también se observó después de la exposición a disruptores endocrinos derivados de plásticos (bisfenol-A, ftalato de dietilhexilo y ftalato de dibutilo) ⁹ o hidrocarburos del combustible para aviones ¹⁰.

Es notable que las estrategias terapéuticas para contrarrestar el exceso de peso corporal pueden remodelar los perfiles de metilación del ADN al mismo tiempo que reducen el peso corporal. Los niveles de metilación del ADN y de expresión de varios genes relacionados con procesos metabólicos y funciones mitocondriales (por ejemplo, el coactivador 1 alfa del receptor activado por proliferadores de peroxisomas, PGC-1 α , y la piruvato deshidrogenasa quinasa, isoenzima 4, PDK4) están alterados en el músculo esquelético de personas con obesidad y después del bypass gástrico en Y de Roux (RYGB), un tipo de cirugía para perder peso, y se normalizaron a niveles observados en controles sanos de peso normal ¹¹. Una intervención de ejercicio durante 6 meses puede inducir cambios en los patrones de metilación del ADN a nivel de genoma completo en el tejido adiposo humano que potencialmente afectan el metabolismo de los adipocitos ¹². Resultados similares se han observado en el músculo de pacientes con T2D; en estos pacientes, el ejercicio alteró las metilaciones del ADN de genes involucrados en el metabolismo del retinol y las vías de señalización del calcio que tienen funciones conocidas en el músculo y la T2D ¹³. El estado de metilación del ADN de genes específicos en leucocitos humanos ¹⁴ y en tejido adiposo puede ser alterado por intervenciones de restricción calórica ¹⁵. Además, se ha demostrado que las respuestas a los tratamientos para la pérdida de peso pueden ser influenciadas y predichas por el estado de metilación del ADN antes de comenzar el tratamiento; es decir, se han encontrado diferencias en los patrones de metilación del ADN de genes específicos entre personas con baja y alta respuesta a la terapia para la pérdida de peso ^{14,15} y entre pacientes propensos a recuperar el peso perdido y aquellos que son capaces de mantener

la pérdida de peso durante un período de vida libre después de una dieta ¹⁶. En este sentido, se ha propuesto la existencia de una memoria obesogénica que conduce a la resistencia a la pérdida de peso o a la regainancia del peso perdido tras un tratamiento de pérdida de peso ¹⁷. Esta memoria obesogénica se va adquiriendo con el tiempo debido a la exposición a factores ambientales propios del estilo de vida de nuestras sociedades occidentales modernas en el cual es muy habitual un balance energético crónicamente positivo consecuencia de un estilo de vida estresante, sedentarismo y un consumo excesivo de alimentos apetecibles y densos en energía, enriquecidos en grasas saturadas y azúcares procesados. En definitiva, la exposición prolongada de un individuo a este ambiente obesogénico permite que la biología del individuo se adapte a esta situación y conduce al desarrollo de sobrepeso y obesidad ¹⁷. Esta memoria obesogénica puede además ser transmitida a las siguientes generaciones tanto a partir de la madre como del padre ¹⁸ e incluso modularse dependiendo de la nutrición y exposición a factores ambientales durante los primeros días de vida ¹⁹. En este sentido, se ha propuesto que los mecanismos epigenéticos pueden jugar un papel relevante en el mantenimiento de esta memoria obesogénica ¹⁷.

Obesidad y epigenética

Aquí revisamos la evidencia de la hipótesis de que la obesidad induce alteraciones epigenéticas, que a su vez pueden aumentar la susceptibilidad al desarrollo de otras enfermedades.

Junto con un desequilibrio en la homeostasis energética, la obesidad se caracteriza por un estado de inflamación crónica de bajo grado que promueve el estrés oxidativo debido a la disfunción del tejido adiposo y las alteraciones en la secreción de hormonas derivadas de los adipocitos y la síntesis de citoquinas ²⁰. Además de su papel principal

como reserva de combustible, el tejido adiposo es un órgano metabólico y endocrino altamente activo que secreta factores como leptina, adiponectina y otras citoquinas ²¹, y otras nuevas señales que han sido identificadas mediante el enfoque de la proteómica ²². Además, el tejido adiposo es un sitio principal del metabolismo de los esteroides sexuales y los glucocorticoides ²³. La obesidad está fuertemente asociada con cambios en la función fisiológica del tejido adiposo que llevan a su disfunción, lo que a su vez resulta en niveles sistémicos elevados de citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), la interleucina 6 (IL-6), la proteína C-reactiva y las metaloproteinasas de matriz ²⁴. La inflamación crónica inducida por la disfunción de los adipocitos induce aumentos en la liberación y acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Además, la obesidad por sí sola induce una generación excesiva de ROS debido a un metabolismo energético ineficiente ²⁵. Se ha hipotetizado que este estrés inflamatorio y oxidativo relacionado con la obesidad es un vínculo entre la obesidad y sus comorbilidades ²⁶.

Asimismo, varias enzimas involucradas en las modificaciones epigenéticas utilizan cofactores o sustratos que son metabolitos cruciales en las vías centrales del metabolismo intermedio, como acetil-CoA, glucosa, α -cetoglutarato (α -KG), nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺), flavina adenina dinucleótido (FAD), ATP o S-adenosilmetionina (SAM) ²⁷. La acetilación de histonas depende principalmente de las reservas citosólicas de acetil-CoA derivadas de la glucosa. Esta modificación de la cromatina permite un mecanismo de control de retroalimentación positiva para la expresión selectiva de genes que regulan la función celular ²⁷. Por lo tanto, las alteraciones en el metabolismo energético, como ocurre en la obesidad, también podrían llevar a cambios epigenéticos estables que se mantengan a través de la línea germinal o

pueden ocurrir en tejidos adultos y afectar la salud del organismo, como se revisó anteriormente²⁷

El estrés oxidativo induce daños en el ADN (por ejemplo, modificaciones de bases, deleciones, roturas de cadenas y reordenamientos cromosómicos) que reducen la capacidad del ADN para ser metilado por las ADN metiltransferasas (DNMTs), resultando en hipometilación global^{28,29}. Además, las ROS pueden inducir la hipermetilación de ciertos genes supresores de tumores y, por lo tanto, promover la carcinogénesis^{30,31}. Además, se ha implicado el daño oxidativo en la regulación de modificaciones de histonas y la expresión de microARNs³²⁻³⁴. La inflamación también induce alteraciones epigenéticas en tejidos que están asociadas con manifestaciones de enfermedades, como lo revelan las intervenciones terapéuticas recientes que utilizan inhibidores de desacetilasas de histonas y DNMT, los efectos de ciertos elementos dietéticos antiinflamatorios en la metilación del ADN y la remodelación de la cromatina, y las acciones de varios factores de transcripción relacionados con la inflamación, como el factor nuclear kappa B (NFkB)³⁵.

Este impacto epigenético de la obesidad en la función de otros órganos puede dividirse en dos áreas: efectos somáticos y efectos en la línea germinal. Los factores relacionados con la obesidad pueden inducir alteraciones epigenéticas en tejidos y células diana adultas, pero también pueden inducir un fenotipo epigenético en las células de la línea germinal, que no solo dificulta la función de los gametos y contribuye a la infertilidad, sino que también puede transmitirse a la siguiente generación.

Aunque la idea de que las marcas epigenéticas se transmiten a través de generaciones sigue siendo controvertida porque no está claro si tal herencia epigenética existe y en qué medida³⁶, en los últimos años se ha acumulado evidencia de que la herencia

epigenética transgeneracional ocurre en mamíferos ^{7,37-39}. En este sentido, el estado de obesidad puede ejercer un impacto epigenético en la línea germinal, ya que se ha demostrado un efecto de la obesidad parental en la salud reproductiva de generaciones posteriores ⁴⁰. De manera relacionada, un estudio reciente observó que la obesidad paterna inducida por la dieta modula el contenido de microARN del espermatozoide y el estado de metilación de las células germinales (que son señales potenciales que programan la salud de la descendencia) y afecta negativamente la salud metabólica de futuras generaciones ⁴¹. De manera similar, la obesidad materna afecta negativamente la calidad de los ovocitos, el desarrollo del embrión y la salud de la descendencia. El estado de metilación del ADN de varios genes impresos y genes relacionados con el metabolismo parece ser el mecanismo subyacente responsable de los efectos adversos de la obesidad materna en la calidad de los ovocitos y el desarrollo embrionario de la descendencia. Estos hallazgos han sido corroborados recientemente en ovocitos de un modelo de ratón con obesidad y en ovocitos e hígado de su descendencia ⁴². Los resultados de este estudio revelaron que los patrones de metilación del ADN de varios genes relacionados con el metabolismo no solo están alterados en los ovocitos de los ratones con obesidad, sino también en los ovocitos y el hígado de su descendencia ⁴².

Aplicaciones clínicas de la epigenética en la obesidad

Metilación del ADN como biomarcadores de enfermedad

Todos los niveles de regulación epigenética parecen tener efectos de amplio alcance en el desarrollo y la salud, y pueden ser reversibles. La regulación epigenética anómala ha sido descrita en muchas enfermedades humanas, incluyendo cáncer ⁴³, obesidad ³⁵, diabetes tipo 2 ⁴⁴, aterosclerosis ⁴⁵ y enfermedades cardiovasculares ⁴⁶, enfermedades

neurodegenerativas y neurológicas ^{47,48}, así como en varios procesos inflamatorios como la enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedades autoinmunes y artritis reumatoide⁴⁹. Por lo tanto, las marcas epigenéticas podrían explicar el vínculo entre el estilo de vida y el riesgo de enfermedades, y se han propuesto como biomarcadores sensibles de enfermedades y potenciales objetivos terapéuticos para el manejo de enfermedades ⁵⁰

Los biomarcadores moleculares son características innatas que ayudan a identificar o monitorizar un proceso patológico o enfermedad específica. Estos pueden reflejar exposiciones ambientales previas, predecir la aparición o progresión de una enfermedad, o determinar cómo responde un paciente a una terapia. Los cambios epigenéticos poseen estas características, y la metilación del ADN es la base de la mayoría de los biomarcadores epigenéticos descubiertos hasta ahora ¹.

El principal desafío en la búsqueda de biomarcadores epigenéticos es obtener muestras adecuadas. Las marcas epigenéticas son específicas de cada tejido, por lo que lo ideal es analizarlas en muestras de biopsias de los principales tejidos afectados por la enfermedad. Sin embargo, esto puede ser inviable al evaluar biomarcadores en personas sanas, en poblaciones sensibles como la infantil, en tejidos diana de difícil acceso como el cerebro, o en estudios longitudinales ⁵¹. En este contexto, se están realizando estudios para identificar marcas epigenéticas en muestras no invasivas, como células sanguíneas o de mucosa bucal, así como en muestras sin células como el plasma ⁵².

Además de las muestras de sangre, recientemente un número creciente de estudios clínicos está examinando la relación entre la metilación del ADN salival y varios estados patológicos ^{53,54}. Esto se debe a que las muestras de saliva son fáciles de obtener, pueden almacenarse a temperatura ambiente y permiten ampliar el alcance de los

estudios epidemiológicos, incluyendo el seguimiento de un mismo paciente a lo largo del tiempo.

Otra aproximación innovadora es la detección de marcas epigenéticas en ADN circulante a partir de muestras sin células. El ADN libre de células se refiere al ADN extracelular presente en diversos fluidos corporales como el plasma ⁵⁵. Este ADN puede liberarse a la sangre periférica desde diversos tejidos y órganos durante la apoptosis y necrosis. Al identificar las características del ADN circulante derivado de distintos tejidos y órganos en el plasma, es posible rastrear y evaluar los cambios patológicos en el tejido correspondiente ⁵⁵. Así, el análisis del perfil de metilación del ADN plasmático entre pacientes y sujetos de control, que contiene fragmentos de ADN de varios tejidos y órganos, tiene un gran potencial para identificar cambios de metilación relacionados con la enfermedad. Esta herramienta puede facilitar un diagnóstico preciso y estrategias de tratamiento personalizadas ⁵⁶.

En la identificación de biomarcadores epigenéticos basados en la metilación del ADN, múltiples estudios han utilizado un enfoque de gen candidato, analizando sitios de metilación asociados a genes conocidos con funciones relevantes en una enfermedad específica ⁵¹. Para este tipo de estudios, la metilación del ADN puede analizarse mediante métodos cualitativos o cuantitativos basados en la conversión de bisulfito, incluyendo la pirosecuenciación. La pirosecuenciación es un método de secuenciación del ADN basado en el principio de "secuenciación por síntesis", y permite cuantificar el nivel de metilación del ADN en un conjunto específico de sitios CpG. Esta metodología es útil cuando se apunta a un gen específico cuya función biológica en el tejido estudiado ya se conoce. En algunos casos, la selección de genes se basa en un análisis previo de diferencias de expresión génica.

Por otro lado, los análisis de metilación de genoma completo basados en arrays tienen la ventaja de examinar todo el genoma ⁵¹. Sin embargo, el análisis de genes candidatos es útil para confirmar los resultados obtenidos en los análisis de metilación de genoma completo. Actualmente, el análisis de metilación está aumentando en complejidad con el estudio de metilación a resolución de base-nucleótido mediante enfoques de secuenciación de genoma completo de nueva generación. Gracias a todas estas aproximaciones técnicas, ya se conocen varios genes que presentan metilación diferencial en obesidad y las enfermedades asociadas a ella como el cáncer o la resistencia a la insulina (**Fig 2**).

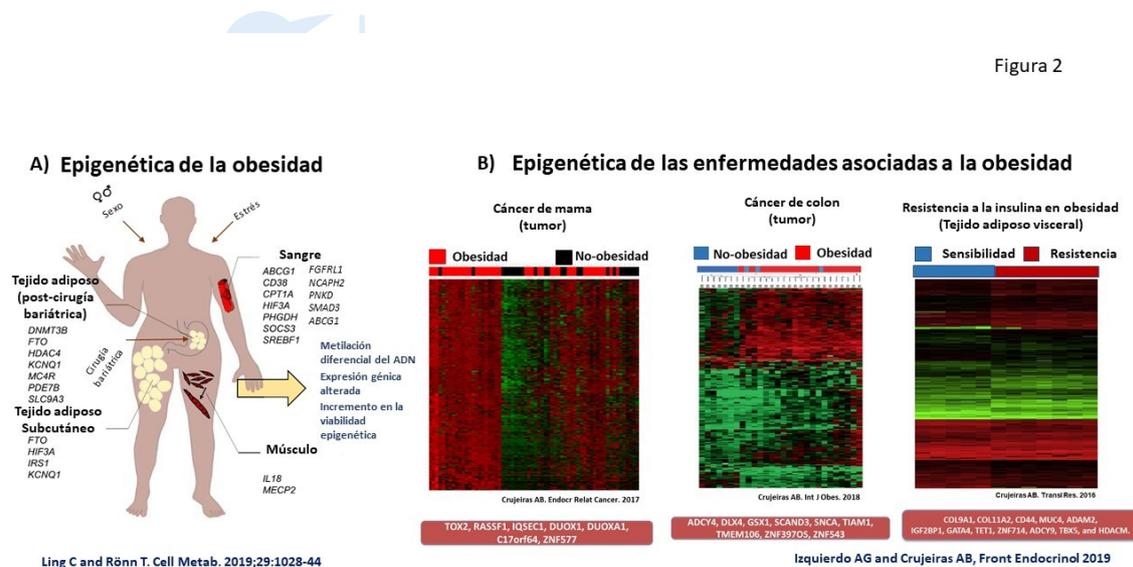


Figura 2

Figura 2. Ejemplos de marcas epigenéticas en la patología de la obesidad. A) Ejemplos de marcas de metilación del ADN asociadas a la obesidad. Modificado de ⁷⁷. B) Evidencias de marcas de metilación de ADN relacionadas con las enfermedades asociadas a la obesidad. Modificado de ⁷⁸

Metilación del ADN y diagnóstico de obesidad

Diversos estudios han explorado los sitios de metilación en, o cerca de, genes candidatos conocidos, aportando evidencia de que la obesidad está relacionada con una regulación epigenética alterada de varios genes metabólicamente importantes, tales como el factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$), la leptina (LEP), la proopiomelanocortina (POMC), el receptor 1 de la hormona concentradora de melanina (MCHR1) y la región de impronta IGF2/H19, como se revisó previamente ¹ Además, con el reciente desarrollo de métodos de genoma para cuantificar la metilación del ADN en sitios específicos, se están llevando a cabo estudios que investigan las asociaciones entre un gran número de genes y CpGs. Estos enfoques identifican sitios metilados diferencialmente asociados a la obesidad, enriquecidos en genes candidatos a la obesidad y en genes con diversas otras funciones o incluso propiedades desconocidas relacionadas con la obesidad o el funcionamiento del tejido adiposo ⁵⁷. Así, se ha descubierto que patrones específicos de factores epigenéticos, incluida la metilación del ADN, están asociados con la obesidad, tanto en análisis de metilación del ADN de todo el genoma en leucocitos y tejido adiposo ⁵⁷, como en análisis de genes específicos, como los genes del reloj circadiano (por ejemplo, CLOCK; regulador circadiano del reloj, BMAL1; receptor de hidrocarburos de arilo similar al translocador nuclear y PER2; circadiano de periodo 2), cuyo estado de metilación en leucocitos humanos está asociado con la obesidad ⁵⁷.

La metilación del ADN y la expresión de HIF3A en el tejido adiposo fue también examinada⁵, reportando una correlación inversa significativa y destacando la posible relevancia funcional de la variación epigenética en el locus identificado. Este hallazgo es relevante, ya que sugiere que la evaluación de la metilación del ADN en sangre total puede identificar una variación epigenética sólida y biológicamente relevante relacionada con el IMC. Así, se presentó el primer análisis sistemático de la asociación

entre la variación en la metilación del ADN y el índice de masa corporal ⁵. HIF3A codifica un componente del factor de transcripción inducible por hipoxia que regula la respuesta celular a la hipoxia mediante la expresión de muchos genes. Los hallazgos sugieren que el aumento de metilación CpG en tres sitios diferentes del locus HIF3A ocurre como consecuencia del aumento del IMC y podría tener un papel en el desarrollo de la disfunción metabólica asociada a la obesidad. En la misma línea, otro estudio evidenció que un patrón de metilación del ADN específico de tejido adiposo asociado a la obesidad puede reflejarse en leucocitos circulantes. Este estudio mostró que los niveles de metilación de los genes FGFR1, NCAPH2, PNKD y SMAD3 podrían constituir una firma epigenética de la disfunción del tejido adiposo asociado a la obesidad, medida en leucocitos sanguíneos como un sustituto del tejido diana ⁵¹. La metilación de estos genes mostró una capacidad del 80% para discriminar entre muestras de personas con obesidad y personas sanas con normopeso.

Metilación del ADN y enfermedades asociadas a la obesidad

Algunos ejemplos en la literatura sobre biomarcadores epigenéticos, principalmente la metilación del ADN, en enfermedades asociadas a la obesidad incluyen un análisis epigenético de todo el genoma del tejido adiposo visceral de pacientes con obesidad grave, el cual identificó una firma epigenética de resistencia a la insulina que abarca los genes COL9A1, COL11A2, CD44, MUC4, ADAM2, IGF2BP1, GATA4, TET1, ZNF714, ADCY9, TBX5 y HDACM ⁵⁸. Otro estudio mostró que los niveles de metilación de 478 sitios CpG en leucocitos sanguíneos estaban metilados diferencialmente según el punto de corte HOMA-IR de 3 unidades, siendo estos buenos predictores de resistencia a la insulina ⁵⁹ En los leucocitos sanguíneos también se

encontró un patrón específico de metilación del ADN relacionado con el síndrome metabólico, siendo especialmente consistente para el gen ABCG1 ⁶⁰.

La obesidad también está relacionada con el desarrollo y la progresión de la enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD). Se ha propuesto que la epigenética desempeña un papel importante en la aparición de la NAFLD. A este respecto, se encontraron varias regiones metiladas diferencialmente (DMR) según el estado de la fibrosis hepática. Estas DMR se asociaron a vías metabólicas y se revirtieron tras la pérdida de peso ⁶¹.

La regulación epigenética se puso de manifiesto también en la asociación entre obesidad y cáncer identificando un metiloma específico del cáncer de mama en edad postmenopáusica ⁶² y al cáncer colorrectal humano (CCR) ⁶³ y carcinoma hepatocelular⁶⁴ asociados a la obesidad. Este papel de la regulación epigenética en obesidad, también se puso de manifiesto en cuanto a la pandemia de COVID-19. Un estudio reveló un aumento global de los niveles de metilación relacionados con la obesidad en la secuencia del gen ACE2, que codifica el principal factor de entrada del virus SARS-CoV-2, en el tejido adiposo visceral de pacientes con obesidad y de manera independiente a las comorbilidades asociadas a la obesidad ⁶⁵. Un dato importante es que el perfil de metilación de ACE2 se modificó tras la pérdida de peso inducida por una terapia nutricional y no tras cirugía bariátrica. Se identificaron dos sitios CpG en el promotor del gen ACE2 que se propusieron como potenciales biomarcadores para monitorizar el riesgo de COVID-19 relacionado con la obesidad y su progresión mediante una muestra no invasiva (leucocitos sanguíneos) ⁶⁵.

Metilación del ADN y respuesta al tratamiento de la obesidad

Actualmente, el principal desafío en el tratamiento de la obesidad no solo radica en lograr una pérdida de peso que mejore los parámetros de salud, sino también en evitar la recuperación del peso perdido⁶⁶. La respuesta al tratamiento de la obesidad está influenciada por una adaptación fisiológica determinada por múltiples factores, como los genéticos, hormonales y ambientales ⁶⁶. Se ha acumulado evidencia científica que respalda el uso de marcas epigenéticas, como la metilación del ADN, para predecir la respuesta al tratamiento antes de iniciarlo. Por ejemplo, se ha observado que los pacientes que responden mejor a intervenciones conductuales para perder peso tienen niveles más bajos de metilación en el promotor del gen HTR2A, que codifica el receptor 2A de la 5-hidroxitriptamina (HTR2A) en leucocitos circulantes ⁶⁷. En otro estudio, los niveles basales de metilación del ADN LINE-1 fueron significativamente más altos en pacientes con alta respuesta en comparación con aquellos con baja respuesta a la restricción energética, sugiriendo que una alta metilación de LINE-1 podría predecir una mejor respuesta a la dieta hipocalórica ⁶⁸.

En cuanto a la predisposición a la recuperación del peso perdido, varios estudios han encontrado diferencias en la metilación de genes entre pacientes que logran mantener el peso y aquellos que recuperan peso a corto o medio plazo después del tratamiento. Por ejemplo, niveles diferentes de metilación en los genes NPY y POMC, implicados en la regulación del apetito, se asociaron con la capacidad de mantener el peso perdido a las 32 semanas después de finalizado el tratamiento nutricional de restricción calórica ¹⁶. Asimismo, en mujeres con obesidad severa sometidas a cirugía bariátrica, los niveles basales de metilación del gen MFSD3, implicado en la regulación del metabolismo, fueron significativamente mayores en aquellas que reganaron peso después de tres años, en comparación con las que no lo reganaron ⁶⁹.

En resumen, la evidencia científica actual sugiere que las marcas de metilación del ADN podrían ser útiles como biomarcadores para predecir la respuesta al tratamiento de pérdida de peso en pacientes con obesidad. No obstante, se requieren estudios adicionales en grandes cohortes poblacionales para establecer puntos de corte y la mejor combinación de biomarcadores epigenéticos. Esto, junto con otros parámetros clínicos, genéticos y de estilo de vida específicos de cada individuo, permitirá implementar estas herramientas en la práctica clínica de manera efectiva (**Fig 3**).

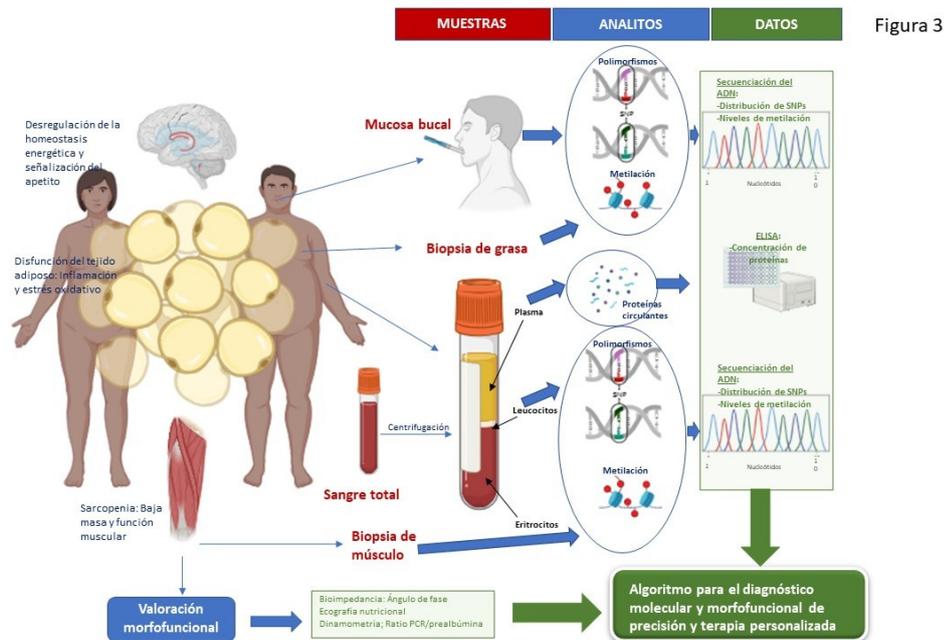


Figura 3. Propuesta de la aplicabilidad clínica de la epigenética en obesidad. Muestras, analitos y datos útiles en el diagnóstico molecular de la obesidad, incluyendo las marcas epigenéticas junto con otros parámetros clínicos, genéticos y de estilo de vida específicos de cada individuo que se podrían implementar en la práctica clínica de manera efectiva para el diagnóstico de precisión y terapia personalizada de la obesidad. Modificado de ⁷⁹

Terapia epigenética en obesidad: farmacoepigénica y nutriepigénica

A medida que la investigación en epigenética ha ido avanzando, se han ido desarrollando también terapias epigenéticas dirigidas a diferentes mecanismos epigenéticos tomando ventaja de una característica importante de las marcas epigenéticas, a diferencia de las mutaciones genéticas, que es la reversibilidad. En este sentido, se aborda esta aplicación clínica de la epigenética desde la nutriepigénica y la farmacoepigénica (**Fig. 4**).

En cuanto a la nutriepigénica o epigenética nutricional, se han identificado diversos nutrientes y compuestos alimentarios que pueden modificar ligeramente los patrones epigenéticos de diferentes líneas celulares y tejidos, lo que podría ayudar a superar enfermedades metabólicas. Numerosos estudios han demostrado los efectos sobre la metilación del ADN del alcohol, las vitaminas del grupo B, las proteínas, los micronutrientes, los componentes de los alimentos funcionales y el estado nutricional general. El cambio dietético puede influir directamente en los procesos epigenéticos que afectan la salud o la enfermedad, y también puede programar el metabolismo y la respuesta futura a la nutrición. La dieta epigenética se ha propuesto como una estrategia importante que puede modular y potencialmente ralentizar la progresión de enfermedades relacionadas con la edad, como las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y la obesidad. Esto se debe a la introducción de compuestos bioactivos como el sulforafano, la curcumina y el resveratrol, entre otros, que se ha observado que pueden ayudar a prolongar la esperanza de vida. Patrones alimentarios saludables como la Dieta Mediterránea o la Dieta Atlántica también se han propuesto como dietas epigenéticas potenciales que promueven la salud, previenen enfermedades y favorecen un envejecimiento saludable regulando mecanismos epigenéticos⁷⁰.

En cuanto a la modificación epigenética en el tratamiento de la obesidad, es importante destacar que las estrategias terapéuticas para contrarrestar el exceso de peso pueden

remodelar los perfiles de metilación del ADN junto con la reducción del peso corporal. La metilación del ADN y los niveles de expresión de varios genes relacionados con procesos metabólicos y funciones mitocondriales son modulados en tejido adiposo tras la cirugía bariátrica, normalizándose en muchos casos a niveles observados en controles sanos con peso normal. El ejercicio físico también puede inducir cambios en los patrones de metilación del ADN del tejido adiposo y del músculo humano que afectan al metabolismo. Asimismo, la metilación del ADN de genes específicos en tejido adiposo puede alterarse con intervenciones de restricción calórica. Resultados similares de reversibilidad en la metilación de ciertos genes se han observado en el ADN de leucocitos de sangre periférica tras cirugía bariátrica, tras un tratamiento nutricional con una dieta hipocalórica equilibrada o tras ejercicio físico. Un ejemplo relevante es el tratamiento nutricional basado en una dieta cetogénica muy baja en calorías (VLCKD), que puede revertir el metiloma de la obesidad a valores similares a los observados en personas sanas con peso normal, gracias a la cetosis nutricional y la pérdida de peso inducida por la VLCKD ⁷¹.

Finalmente, se sabe poco sobre el efecto potencial de los nuevos fármacos antiobesidad sobre la regulación del epigenoma de la obesidad y la utilidad de las marcas epigenéticas para predecir y monitorizar la respuesta al tratamiento farmacológico de la obesidad. Actualmente, no se han aprobado fármacos epigenéticos para el tratamiento de las enfermedades metabólicas, aunque sí para otras enfermedades como el cáncer. Considerando particularmente la metilación del ADN, actualmente existen fármacos capaces de inhibir este mecanismo mediante inhibidores de las enzimas DNA metiltransferasas (DNMTi), las cuales modulan los niveles de la metilación de genes específicos. Un ejemplo de agentes DNMTi son la azacitidina y la guadecitabina, la hydralacina, procainamida y decitabina. Se ha observado que la inhibición de la

metilación del ADN por 5-Aza-dC conduce a una menor acumulación de gotas de lípidos en 3T3-L1 en la etapa de diferenciación temprana y suprime la adipogénesis ⁷²⁻⁷⁴. Además, un resultado relevante es que esta inhibición de la metilación del ADN puede inducir al pardeamiento de la grasa blanca, que a su vez puede actuar como mecanismos de resistencia a la obesidad lo cual muestra una posible aplicación de los fármacos epigenéticos en la terapia anti-obesidad ⁷⁵. Otros fármacos DNMTi como la hidralacina, la procainamida o la decitabina son capaces de aliviar enfermedades asociadas a la obesidad como la enfermedad crónica del riñón, la diabetes mellitus tipo 2 o la hipertensión ⁷⁶.

En conjunto, estas evidencias científicas sugieren que las marcas epigenéticas podrían ser útiles como dianas terapéuticas para una suplementación nutricional específica con compuestos bioactivos, patrones de alimentación, actividad física o incluso fármacos epigenéticos (Fig. 4).

Figura 4

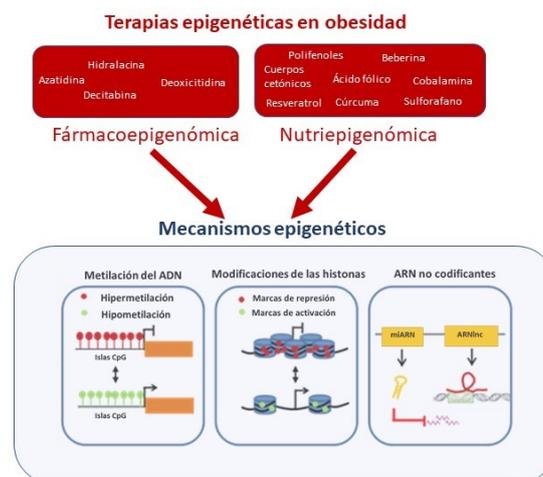


Figura 4. Terapias epigenéticas en obesidad.

Conclusiones

A pesar de que todavía no está claro si la epigenética asociada a la obesidad es causa o consecuencia de la fisiopatología de esta enfermedad, se podría plantear la hipótesis de que los factores ambientales obesogénicos regulan mecanismos epigenéticos y dan lugar al estado de obesidad que conduce a la desregulación del tejido adiposo y los sistemas de regulación del apetito y estos factores desregulados asociados a la obesidad a su vez regulan mecanismos epigenéticos que promueven las enfermedades asociadas a la obesidad. En este sentido, la epigenética tiene un futuro prometedor todavía por explorar en el campo de las enfermedades metabólicas. Ante el nuevo horizonte de los fármacos anti-obesidad, se necesitan estudios que evalúen el posible efecto epigenético de dichos fármacos para descodificar la memoria obesogénica, así como evaluar las diferencias en los niveles de las marcas epigenéticas entre respondedores y no respondedores a dichos fármacos antes de comenzar el tratamiento y aplicar dichas marcas epigenéticas para prescribir una terapia farmacológica anti-obesidad personalizada y de precisión.

Agradecimientos

La investigación llevada a cabo en el grupo de Epigenómica en Endocrinología y Nutrición (EPIENDONUT) del Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS) al que pertenece la autora, está financiada por el Centro de Investigación Biomédica en Red de la Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERObn) y fondos del Instituto de Salud Carlos III-ISCIII (PI20/00650, PI24/00549, CP17/00088) cofinanciadas por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Ana B Crujeiras está financiada por un contrato de investigación "Miguel Servet"

(CPII22/00008) del ISCIII. La autora desea dar las gracias a los miembros del grupo de investigación EPIENDONUT, en particular a Andrea G Izquierdo, Paula M Lorenzo, Jesús Iglesias Moares y Violeta Gallego Boluda por su participación en los proyectos llevados a cabo en este grupo de investigación.

Declaración de conflicto de intereses

La autora declara no tener ningún conflicto de intereses en relación al contenido de esta revisión.

Bibliografía

1. Izquierdo AG, Crujeiras AB. Epigenetic biomarkers in metabolic syndrome and obesity. In: *Prognostic Epigenetics*. Elsevier; 2019:269-287. doi:10.1016/B978-0-12-814259-2.00011-X
2. Pillon NJ, Loos RJF, Marshall SM, Zierath JR. Metabolic consequences of obesity and type 2 diabetes: Balancing genes and environment for personalized care. *Cell*. 2021;184(6):1530-1544. doi:10.1016/j.cell.2021.02.012
3. Casanello P, Krause BJ, Castro-Rodríguez JA, et al. Epigenetics and obesity. *Rev Chil Pediatr*. 2016;87(5):335-342. doi: 10.1016/j.rchipe.2016.08.009.
4. Wu FY, Yin RX. Recent progress in epigenetics of obesity. *Diabetol Metab Syndr*. 2022 Nov 17;14(1):171. doi: 10.1186/s13098-022-00947-1.
5. Dick KJ, Nelson CP, Tsaprouni L, et al. DNA methylation and body-mass index: a genome-wide analysis. *The Lancet*. 2014;383(9933):1990-1998. doi:10.1016/S0140-6736(13)62674-4
6. Milagro FI, Gómez-Abellán P, Campión J, Martínez JA, Ordovás JM, Garaulet M. CLOCK, PER2 and BMAL1 DNA Methylation: Association with Obesity

- and Metabolic Syndrome Characteristics and Monounsaturated Fat Intake. *Chronobiol Int.* 2012;29(9):1180-1194. doi:10.3109/07420528.2012.719967
7. Skinner MK, Manikkam M, Guerrero-Bosagna C. Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology. *Trends in Endocrinology & Metabolism.* 2010;21(4):214-222. doi:10.1016/j.tem.2009.12.007
 8. Skinner MK, Manikkam M, Tracey R, Guerrero-Bosagna C, Haque M, Nilsson EE. Ancestral dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) exposure promotes epigenetic transgenerational inheritance of obesity. *BMC Med.* 2013;11(1):228. doi:10.1186/1741-7015-11-228
 9. Manikkam M, Tracey R, Guerrero-Bosagna C, Skinner MK. Plastics Derived Endocrine Disruptors (BPA, DEHP and DBP) Induce Epigenetic Transgenerational Inheritance of Obesity, Reproductive Disease and Sperm Epimutations. *PLoS One.* 2013;8(1):e55387. doi:10.1371/journal.pone.0055387
 10. Tracey R, Manikkam M, Guerrero-Bosagna C, Skinner MK. Hydrocarbons (jet fuel JP-8) induce epigenetic transgenerational inheritance of obesity, reproductive disease and sperm epimutations. *Reproductive Toxicology.* 2013;36:104-116. doi:10.1016/j.reprotox.2012.11.011
 11. Barres R, Kirchner H, Rasmussen M, et al. Weight Loss after Gastric Bypass Surgery in Human Obesity Remodels Promoter Methylation. *Cell Rep.* 2013;3(4):1020-1027. doi:10.1016/j.celrep.2013.03.018
 12. Rönn T, Volkov P, Davegårdh C, et al. A Six Months Exercise Intervention Influences the Genome-wide DNA Methylation Pattern in Human Adipose Tissue. *PLoS Genet.* 2013;9(6):e1003572. doi:10.1371/journal.pgen.1003572
 13. Nitert MD, Dayeh T, Volkov P, et al. Impact of an Exercise Intervention on DNA Methylation in Skeletal Muscle From First-Degree Relatives of Patients With

- Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2012;61(12):3322-3332. doi:10.2337/db11-1653
14. Milagro FI, Campión J, Cordero P, et al. A dual epigenomic approach for the search of obesity biomarkers: DNA methylation in relation to diet-induced weight loss. *The FASEB Journal*. 2011;25(4):1378-1389. doi:10.1096/fj.10-170365
 15. Bouchard L, Rabasa-Lhoret R, Faraj M, et al. Differential epigenomic and transcriptomic responses in subcutaneous adipose tissue between low and high responders to caloric restriction. *Am J Clin Nutr*. 2010;91(2):309-320. doi:10.3945/ajcn.2009.28085
 16. Crujeiras AB, Campion J, Díaz-Lagares A, et al. Association of weight regain with specific methylation levels in the NPY and POMC promoters in leukocytes of obese men: A translational study. *Regul Pept*. 2013;186:1-6. doi:10.1016/j.regpep.2013.06.012
 17. Contreras RE, Schriever SC, Pfluger PT. Physiological and Epigenetic Features of Yoyo Dieting and Weight Control. *Front Genet*. 2019;10. doi:10.3389/fgene.2019.01015
 18. Núñez-Sánchez MÁ, Jiménez-Méndez A, Suárez-Cortés M, et al. Inherited Epigenetic Hallmarks of Childhood Obesity Derived from Prenatal Exposure to Obesogens. *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(6):4711. doi:10.3390/ijerph20064711
 19. Iglesia Altaba I, Larqué E, Mesa MD, et al. Early Nutrition and Later Excess Adiposity during Childhood: A Narrative Review. *Horm Res Paediatr*. 2022;95(2):112-119. doi:10.1159/000520811
 20. ZOU C, SHAO J. Role of adipocytokines in obesity-associated insulin resistance. *J Nutr Biochem*. 2008;19(5):277-286. doi:10.1016/j.jnutbio.2007.06.006

21. Catalán V, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Salvador J, Frühbeck G. Adipokines in the treatment of diabetes mellitus and obesity. *Expert Opin Pharmacother.* 2009;10(2):239-254. doi:10.1517/14656560802618811
22. Roca-Rivada A, Alonso J, Al-Massadi O, et al. Secretome analysis of rat adipose tissues shows location-specific roles for each depot type. *J Proteomics.* 2011;74(7):1068-1079. doi:10.1016/j.jprot.2011.03.010
23. Kershaw EE, Flier JS. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(6):2548-2556. doi:10.1210/jc.2004-0395
24. Dizdar Ö, Alyamaç E. Obesity: an endocrine tumor? *Med Hypotheses.* 2004;63(5):790-792. doi:10.1016/j.mehy.2004.01.046
25. Crujeiras AB, Parra D, Goyenechea E, Abete I, González-Muniesa P, Martínez JA. Energy restriction in obese subjects impact differently two mitochondrial function markers. *J Physiol Biochem.* 2008;64(3):211-219. doi:10.1007/BF03178844
26. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes.* 2006;30(3):400-418. doi:10.1038/sj.ijo.0803177
27. Gut P, Verdin E. The nexus of chromatin regulation and intermediary metabolism. *Nature.* 2013;502(7472):489-498. doi:10.1038/nature12752
28. Franco R, Schoneveld O, Georgakilas AG, Panayiotidis MI. Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis. *Cancer Lett.* 2008;266(1):6-11. doi:10.1016/j.canlet.2008.02.026
29. Wachsman JT. DNA methylation and the association between genetic and epigenetic changes: relation to carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis.* 1997;375(1):1-8.

- doi:10.1016/S0027-5107(97)00003-1
30. Govindarajan B, Klafter R, Miller MS, et al. Reactive Oxygen-induced Carcinogenesis Causes Hypermethylation of p16Ink4a and Activation of MAP Kinase. *Molecular Medicine*. 2002;8(1):1-8. doi:10.1007/BF03401997
 31. Lim SO, Gu JM, Kim MS, et al. Epigenetic Changes Induced by Reactive Oxygen Species in Hepatocellular Carcinoma: Methylation of the E-cadherin Promoter. *Gastroenterology*. 2008;135(6):2128-2140.e8. doi:10.1053/j.gastro.2008.07.027
 32. Simone NL, Soule BP, Ly D, et al. Ionizing Radiation-Induced Oxidative Stress Alters miRNA Expression. *PLoS One*. 2009;4(7):e6377. doi:10.1371/journal.pone.0006377
 33. Mateescu B, Batista L, Cardon M, et al. miR-141 and miR-200a act on ovarian tumorigenesis by controlling oxidative stress response. *Nat Med*. 2011;17(12):1627-1635. doi:10.1038/nm.2512
 34. Rajendran R, Garva R, Krstic-Demonacos M, Demonacos C. Sirtuins: Molecular Traffic Lights in the Crossroad of Oxidative Stress, Chromatin Remodeling, and Transcription. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:1-17. doi:10.1155/2011/368276
 35. Milagro FI, Mansego ML, De Miguel C, Martínez JA. Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: Progresses and perspectives. *Mol Aspects Med*. 2013;34(4):782-812. doi:10.1016/j.mam.2012.06.010
 36. Heard E, Martienssen RA. Transgenerational Epigenetic Inheritance: Myths and Mechanisms. *Cell*. 2014;157(1):95-109. doi:10.1016/j.cell.2014.02.045
 37. Guerrero-Bosagna C, Savenkova M, Haque MdM, Nilsson E, Skinner MK. Environmentally Induced Epigenetic Transgenerational Inheritance of Altered Sertoli Cell Transcriptome and Epigenome: Molecular Etiology of Male

- Infertility. *PLoS One*. 2013;8(3):e59922. doi:10.1371/journal.pone.0059922
38. Pembrey M, Saffery R, Bygren LO. Human transgenerational responses to early-life experience: potential impact on development, health and biomedical research. *J Med Genet*. 2014;51(9):563-572. doi:10.1136/jmedgenet-2014-102577
39. Skinner MK, Guerrero-Bosagna C. Role of CpG deserts in the epigenetic transgenerational inheritance of differential DNA methylation regions. *BMC Genomics*. 2014;15(1):692. doi:10.1186/1471-2164-15-692
40. Fullston T, Palmer NO, Owens JA, Mitchell M, Bakos HW, Lane M. Diet-induced paternal obesity in the absence of diabetes diminishes the reproductive health of two subsequent generations of mice. *Human Reproduction*. 2012;27(5):1391-1400. doi:10.1093/humrep/des030
41. Fullston T, Teague EMCO, Palmer NO, et al. Paternal obesity initiates metabolic disturbances in two generations of mice with incomplete penetrance to the F₂ generation and alters the transcriptional profile of testis and sperm microRNA content. *The FASEB Journal*. 2013;27(10):4226-4243. doi:10.1096/fj.12-224048
42. Ge ZJ, Luo SM, Lin F, et al. DNA Methylation in Oocytes and Liver of Female Mice and Their Offspring: Effects of High-Fat-Diet-Induced Obesity. *Environ Health Perspect*. 2014;122(2):159-164. doi:10.1289/ehp.1307047
43. Heyn H, Esteller M. DNA methylation profiling in the clinic: applications and challenges. *Nat Rev Genet*. 2012;13(10):679-692. doi:10.1038/nrg3270
44. Andersen GS, Thybo T, Cederberg H, et al. The DEXLIFE study methods: Identifying novel candidate biomarkers that predict progression to type 2 diabetes in high risk individuals. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;106(2):383-389. doi:10.1016/j.diabres.2014.07.025
45. Zaina S, Heyn H, Carmona FJ, et al. DNA Methylation Map of Human

- Atherosclerosis. *Circ Cardiovasc Genet.* 2014;7(5):692-700.
doi:10.1161/CIRCGENETICS.113.000441
46. Ordoñas JM, Smith CE. Epigenetics and cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol.* 2010;7(9):510-519. doi:10.1038/nrcardio.2010.104
47. Sanchez-Mut J V., Aso E, Panayotis N, et al. DNA methylation map of mouse and human brain identifies target genes in Alzheimer's disease. *Brain.* 2013;136(10):3018-3027. doi:10.1093/brain/awt237
48. Urdinguio RG, Sanchez-Mut J V, Esteller M. Epigenetic mechanisms in neurological diseases: genes, syndromes, and therapies. *Lancet Neurol.* 2009;8(11):1056-1072. doi:10.1016/S1474-4422(09)70262-5
49. Glossop JR, Glossop JR, Emes RD, et al. Genome-wide DNA methylation profiling in rheumatoid arthritis identifies disease-associated methylation changes that are distinct to individual T- and B-lymphocyte populations. *Epigenetics.* 2014;9(9):1228-1237. doi:10.4161/epi.29718
50. Hamilton JP. Epigenetics: Principles and Practice. *Digestive Diseases.* 2011;29(2):130-135. doi:10.1159/000323874
51. Crujeiras AB, Diaz-Lagares A. DNA Methylation in Obesity and Associated Diseases. In: *Epigenetic Biomarkers and Diagnostics.* Elsevier; 2016:313-329. doi:10.1016/B978-0-12-801899-6.00016-4
52. Rodriguez-Casanova A, Costa-Fraga N, Castro-Carballeira C, et al. A genome-wide cell-free DNA methylation analysis identifies an episinature associated with metastatic luminal B breast cancer. *Front Cell Dev Biol.* 2022;10. doi:10.3389/fcell.2022.1016955
53. Reiner A, Bakulski KM, Fisher JD, et al. Sex-specific DNA methylation in saliva from the multi-ethnic Future of Families and Child Wellbeing Study.

- Epigenetics*. 2023;18(1). doi:10.1080/15592294.2023.2222244
54. Rapado-González Ó, Costa-Fraga N, Bao-Caamano A, et al. Genome-wide <scp>DNA</scp> methylation profiling in tongue squamous cell carcinoma. *Oral Dis*. Published online December 2, 2022. doi:10.1111/odi.14444
 55. Oberhofer A, Bronkhorst AJ, Uhlig C, Ungerer V, Holdenrieder S. Tracing the Origin of Cell-Free DNA Molecules through Tissue-Specific Epigenetic Signatures. *Diagnostics*. 2022;12(8):1834. doi:10.3390/diagnostics12081834
 56. Rodriguez-Casanova A, Costa-Fraga N, Bao-Caamano A, López-López R, Muínelo-Romay L, Diaz-Lagares A. Epigenetic Landscape of Liquid Biopsy in Colorectal Cancer. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9. doi:10.3389/fcell.2021.622459
 57. Izquierdo AG, Lorenzo PM, Crujeiras AB. Epigenetics and precision medicine in diabetes and obesity prevention and management. In: *Epigenetics in Precision Medicine*. Elsevier; 2022:327-346. doi:10.1016/B978-0-12-823008-4.00012-3
 58. Crujeiras AB, Diaz-Lagares A, Moreno-Navarrete JM, et al. Genome-wide DNA methylation pattern in visceral adipose tissue differentiates insulin-resistant from insulin-sensitive obese subjects. *Translational Research*. 2016;178:13-24.e5. doi:10.1016/j.trsl.2016.07.002
 59. Arpón A, Milagro FI, Ramos-Lopez O, et al. Epigenome-wide association study in peripheral white blood cells involving insulin resistance. *Sci Rep*. 2019;9(1):2445. doi:10.1038/s41598-019-38980-2
 60. Akinyemiju T, Do AN, Patki A, et al. Epigenome-wide association study of metabolic syndrome in African-American adults. *Clin Epigenetics*. 2018;10(1):49. doi:10.1186/s13148-018-0483-2
 61. Kurokawa S, Kobori T, Yoneda M, et al. Identification of differentially methylated regions associated with both liver fibrosis and hepatocellular

- carcinoma. *BMC Gastroenterol.* 2024;24(1):57. doi:10.1186/s12876-024-03149-3
62. Crujeiras AB, Diaz-Lagares A, Stefansson OA, et al. Obesity and menopause modify the epigenomic profile of breast cancer. *Endocr Relat Cancer.* Published online July 2017:351-363. doi:10.1530/ERC-16-0565
63. Crujeiras AB, Morcillo S, Diaz-Lagares A, et al. Identification of an episignature of human colorectal cancer associated with obesity by genome-wide DNA methylation analysis. *Int J Obes.* 2019;43(1):176-188. doi:10.1038/s41366-018-0065-6
64. Ramos-Lopez O, Riezu-Boj JI, Milagro FI, Alfredo Martinez J. Association of Methylation Signatures at Hepatocellular Carcinoma Pathway Genes with Adiposity and Insulin Resistance Phenotypes. *Nutr Cancer.* 2019;71(5):840-851. doi:10.1080/01635581.2018.1531136
65. Izquierdo AG, Carreira MC, Boughanem H, et al. Adipose tissue and blood leukocytes ACE2 DNA methylation in obesity and after weight loss. *Eur J Clin Invest.* 2022;52(2). doi:10.1111/eci.13685
66. Crujeiras AB, Goyenechea E, Abete I, et al. Weight Regain after a Diet-Induced Loss Is Predicted by Higher Baseline Leptin and Lower Ghrelin Plasma Levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(11):5037-5044. doi:10.1210/jc.2009-2566
67. Perez-Cornago A, Mansego M, Zulet M, Martinez J. DNA Hypermethylation of the Serotonin Receptor Type-2A Gene Is Associated with a Worse Response to a Weight Loss Intervention in Subjects with Metabolic Syndrome. *Nutrients.* 2014;6(6):2387-2403. doi:10.3390/nu6062387
68. Garcia-Lacarte M, Milagro FI, Zulet MA, Martinez JA, Mansego ML. LINE-1 methylation levels, a biomarker of weight loss in obese subjects, are influenced

- by dietary antioxidant capacity. *Redox Report*. 2016;21(2):67-74. doi:10.1179/1351000215Y.0000000029
69. Nicoletti CF, Pinhel MS, Noronha NY, Jácome A, Crujeiras AB, Nonino CB. Association of MFSD3 promoter methylation level and weight regain after gastric bypass: Assessment for 3 y after surgery. *Nutrition*. 2020;70:110499. doi:10.1016/j.nut.2019.04.010
70. Lorenzo PM, Izquierdo AG, Rodriguez-Carnero G, Fernández-Pombo A, Iglesias A, Carreira MC, Tejera C, Bellido D, Martínez-Olmos MA, Leis R, Casanueva FF, Crujeiras AB. Epigenetic Effects of Healthy Foods and Lifestyle Habits from the Southern European Atlantic Diet Pattern: A Narrative Review. *Adv Nutr*. 2022;13(5):1725-1747. doi: 10.1093/advances/nmac038.
71. Crujeiras AB, Izquierdo AG, Primo D, Milagro FI, Sajoux I, Jácome A, Fernandez-Quintela A, Portillo MP, Martínez JA, Martínez-Olmos MA, de Luis D, Casanueva FF. Epigenetic landscape in blood leukocytes following ketosis and weight loss induced by a very low calorie ketogenic diet (VLCKD) in patients with obesity. *Clin Nutr*. 2021 Jun;40(6):3959-3972. doi: 10.1016/j.clnu.2021.05.010. Epub 2021 May 21.
72. Chen YS, Wu R, Yang X, et al. Inhibiting DNA methylation switches adipogenesis to osteoblastogenesis by activating Wnt10a. *Sci Rep*. 2016;6(1):25283. doi:10.1038/srep25283
73. Sakamoto H, Kogo Y, Ohgane J, et al. Sequential changes in genome-wide DNA methylation status during adipocyte differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008;366(2):360-366. doi:10.1016/j.bbrc.2007.11.137
74. Shore A, Karamitri A, Kemp P, Speakman JR, Lomax MA. Role of Ucp1 enhancer methylation and chromatin remodelling in the control of Ucp1

- expression in murine adipose tissue. *Diabetologia*. 2010;53(6):1164-1173.
doi:10.1007/s00125-010-1701-4
75. Liang J, Jia Y, Yu H, et al. 5-Aza-2'-Deoxycytidine Regulates White Adipocyte Browning by Modulating miRNA-133a/Prdm16. *Metabolites*. 2022;12(11):1131.
doi:10.3390/metabo12111131
76. Wu YL, Lin ZJ, Li CC, et al. Epigenetic regulation in metabolic diseases: mechanisms and advances in clinical study. *Signal Transduct Target Ther*. 2023;8(1):98. doi:10.1038/s41392-023-01333-7
77. Ling C, Rönn T. Epigenetics in Human Obesity and Type 2 Diabetes. *Cell Metab*. 2019;29(5):1028-1044. doi:10.1016/j.cmet.2019.03.009
78. Izquierdo AG, Crujeiras AB. Obesity-Related Epigenetic Changes After Bariatric Surgery. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:232.
doi:10.3389/fendo.2019.00232
79. Crujeiras AB, Malagón MM, Casanueva FF, eds. Metodología en investigación morfofuncional aplicada a la enfermedad metabólica crónica adiposa. In: *Valoración Morfofuncional En La Enfermedad Metabólica Crónica Adiposa*. 2024:135-144.