



LA NUTRICIÓN PERSONALIZADA A TRAVÉS DE LA EPIGENÓMICA

Fermin Milagro^(a) y J. Alfredo Martínez^(b)

^aUniversidad de Navarra y ^bCentro de Investigación Biomédica en Red de la Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERObn)

Resumen

En el futuro, la nutrición personalizada será una de las bases de la prevención y el tratamiento de las enfermedades. Hasta ahora se ha hecho mucho énfasis en los polimorfismos que incrementan el riesgo a sufrir alguna patología metabólica o nutricional. Sin embargo, la nutriepigenética podría ayudar a explicar los mecanismos no dependientes de la secuencia genética por los que los nutrientes y otros factores ambientales contribuyen a modular la expresión génica y el desarrollo de enfermedad. Los principales mecanismos epigenéticos son las modificaciones covalentes de las histonas, la metilación del ADN y los ARN no codificantes (como los miRNA). Estos cambios epigenéticos inducidos por factores ambientales parecen ser especialmente importantes en el período perinatal, aunque también se dan en la edad adulta. También pueden ser heredados. Entre los factores nutricionales que han sido vinculados a modificaciones epigenéticas, están los grupos donantes de metilo, la ingesta excesiva o deficiente de proteínas y calorías, algunos ácidos grasos, minerales y vitaminas, así como compuestos de origen vegetal, como polifenoles, isotiocianatos, isoflavonas y catequinas. Una de las características más interesantes de las marcas epigenéticas es que podrían ser parcialmente reversibles. Por ello, uno de los principales objetivos en este campo es el desarrollo de fármacos o la implementación de tratamientos dietéticos (por ejemplo, la «dieta epigenética») que podrían retrasar o incluso revertir estos cambios epigenéticos y, por lo tanto, evitar el desarrollo de enfermedad. El otro objetivo importante en este campo es la identificación de marcadores tempranos de enfermedad que permitan implementar tratamientos preventivos individualizados en los individuos de riesgo metabólico.

Abstract

In the future, personalized nutrition will be one of the cornerstones of prevention and treatment of metabolic diseases. Until now, much emphasis has been done on the polymorphisms that increase the risk of suffering a metabolic or nutritional pathology. However, nutriepigenetics could help to explain the mechanisms non-dependent of gene sequence by which nutrients and other environmental factors contribute to modulate gene expression and disease development. The main epigenetic mechanisms are covalent modifications of histones, DNA methylation, and non-coding RNAs, such as miRNAs. The epigenetic changes induced by the environmental factors appear to be particularly important in the perinatal period, but they can also occur in the adulthood. They can also be inherited. Among the nutritional factors that have been linked to epigenetic modifications we find methyl donors, diets with excessive or deficient amount of proteins or calories, some fatty acids, minerals and vitamins, as well as plant compounds such as polyphenols, isothiocyanates, isoflavones and catechins. One of the most interesting characteristics of the epigenetic marks is that they may be partially reversible. Therefore, one of the major goals in this field is the development of drugs or dietary treatments (for example, the «epigenetic diet») that may slow or even reverse these epigenetic changes and, therefore, prevent disease development. The other important objective here is to identify early biomarkers of disease that could be used to implement individualized preventive treatments in the subjects with higher metabolic risk.

1. Nutrición personalizada

En los últimos años el concepto de nutrición «personalizada» está ganando relevancia en el campo de la salud. La evidencia científica indica que tanto los macro como los micronutrientes son capaces de influir sobre diferentes procesos metabólicos, celulares y moleculares, incluyendo la estructura del ADN y la expresión génica, lo que pueden contribuir, directa o indirectamente, al desarrollo o la prevención de numerosas enfermedades asociadas a la nutrición. Este campo es estudiado principalmente por la nutriepigenética, que analiza la capa-

cidad que tienen los nutrientes para modular los mecanismos moleculares, que subyacen a las funciones fisiológicas del organismo, en especial la expresión de los genes.

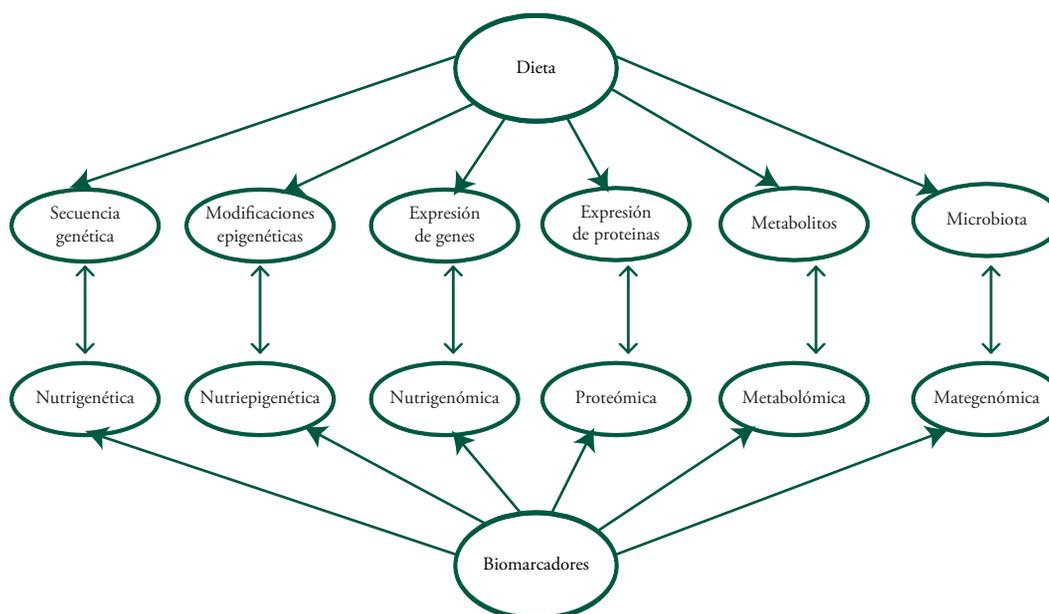
Sin embargo, a la hora de avanzar hacia una nutrición personalizada, la mayor parte de la investigación se ha centrado en el campo de la nutrigenética, que es un ámbito científico que trata de comprender aquellos procesos donde la secuencia genética de un individuo influye en su respuesta a la dieta. Esta ciencia se centra en la identificación y caracterización de las variantes genéticas asociados con respuestas diferenciales a los nutrientes y con el riesgo a desarrollar enfermedad. Entre estos cambios genéticos, aparte de los polimorfismos de nucleótido simple (SNP), que afectan a una única base nucleotídica, también se encuentran las variaciones del número de copias (CNV), repeticiones de nucleótidos, inserciones y deleciones, así como la longitud de los telómeros. Un objetivo de este área de investigación es la tipificación de biomarcadores nutrigenéticos que permitirán promover una dieta y un estilo de vida óptimos para cada individuo a la hora de prevenir el desarrollo de determinadas enfermedades, en especial obesidad, resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2, hiperlipidemias y enfermedad cardiovascular. Los estudios de asociación del genoma completo (GWAS en inglés) han permitido identificar las variantes genéticas más estrechamente ligadas al desarrollo de enfermedades (Bradfield, 2012; Hale, 2012). Sin embargo, estos estudios solo son capaces de explicar un pequeño porcentaje de la variabilidad genética respecto a las enfermedades metabólicas.

Ante la evidencia del papel que juegan los factores ambientales en el desarrollo de estas patologías, en los últimos años se ha acuñado un nuevo término, la nutriepigénica, que permite ampliar los conceptos de *nutrigenómica* (cómo los nutrientes influyen en la expresión de los genes) y *nutrigenética* (cómo la secuencia genética condiciona la respuesta individual a determinados nutrientes) y que estudia los efectos de los nutrientes y los alimentos sobre la salud humana a través de las modificaciones epigenéticas. Estas modificaciones epigenéticas son cambios heredables en la función y expresión de los genes, que se producen sin alterar la secuencia primaria del ADN, es decir, sin asociarse a polimorfismos. Esta aproximación ha demostrado que, si se producen desequilibrios nutricionales y alteraciones metabólicas durante determinados momentos críticos del desarrollo, las alteraciones epigenéticas resultantes pueden dar lugar a cambios permanentes en la expresión de determinados genes que afecten a la estructura o función los tejidos y órganos, predisponiendo así a la enfermedad. Aunque esos cambios epigenéticos pueden ser heredables, hay tres conceptos que hacen muy interesante el estudio de la epigenética:

- 1) El primero es que los fenómenos epigenéticos parecen representar uno de los mecanismos principales por el que los factores dietéticos y ambientales pueden alterar la expresión de los genes y el metabolismo a largo plazo, explicando así algunos problemas desarrollados en la edad adulta, cuyo origen procede de edades más tempranas o incluso en comportamientos atribuibles a los padres o abuelos.
- 2) El segundo es que las modificaciones epigenéticas son potencialmente reversibles, lo que abre la puerta a nuevas terapias dietéticas o farmacológicas enfocadas a su modificación, tanto en la infancia como en la edad adulta.

- 3) El tercero es que la detección precoz de esas marcas epigenéticas alteradas puede ayudar a un diagnóstico precoz de la enfermedad o, aún mejor, a una temprana actuación preventiva previa a su desarrollo. Esto último se representa en la Figura 1, junto con los demás tipos de biomarcadores que se están abordando en nutrición.

Figura 1. La dieta interactúa con numerosos procesos moleculares a la hora de determinar el riesgo a sufrir una patología, y eso determina también el tipo de biomarcadores y aproximaciones que se pueden abordar para la detección precoz de los individuos en riesgo



Fuente: basado en Nordheim (2012).

2. Modificaciones epigenéticas

Entre los mecanismos generales epigenéticos que regulan la expresión de los genes se incluyen la impronta genética o *imprinting*, el efecto de la posición, marcadores de tipo *bookmarking*, la inactivación del cromosoma X, el silenciamiento de genes, la reprogramación, algunos efectos maternos, la metilación del ADN, modificaciones covalente en las histonas, cambios que afectan al plegamiento de la cromatina (eucromatina *vs.* heterocromatina) o a la preservación de la estabilidad de los cromosomas, y, en general, todos aquellos fenómenos que afectan a los patrones de expresión génica sin alterar o venir mediados la secuencia del ADN (ARN no codificantes, transposones, chaperones, etc.). Los mecanismos más estudiados son los ARN no codificantes, las modificaciones covalente en las histonas y la metilación del ADN. Estos procesos son responsables de la mayoría de las diferencias observables entre gеме-

los monocigóticos, o de explicar el modo en que las células o tejidos portadores de la misma secuencia de nucleótidos pueden generar diferentes tipos celulares y diferentes respuestas bajo la misma exposición a hormonas y nutrientes.

La bibliografía científica describe varios tipos de ARN no codificantes, entre los que se encuentran los *Long intervening noncoding RNAs* (lincRNA), *Long non-coding RNAs* (lncRNAs) o los *Circular RNA* (circRNA). Todos ellos tienen en común que no codifican para proteínas y que, aunque sus funciones no son todavía bien conocidas, parecen jugar un papel en la regulación de la expresión génica. Los más acreditados entre ellos son los *microARN* (miRNAs), que son moléculas pequeñas de ARN no codificante (de alrededor de 22 nucleótidos) cuya función es el silenciamiento del ARN mensajero y la regulación post-transcripcional de la síntesis de proteínas. Numerosos estudios han encontrado que los miRNA desempeñan un papel importante en el desarrollo de enfermedad (desde diversos tipos de cáncer hasta la enfermedad cardiovascular y la obesidad) y tienen gran potencial como biomarcadores e incluso como agentes terapéuticos. Además, los factores dietéticos parecen desempeñar un papel muy importante en la regulación de algunas de estas moléculas (Ross, 2014).

Las histonas, que son las proteínas encargadas del empaquetamiento del ADN y de formar la cromatina, están sujetas a una amplia variedad de modificaciones postraduccionales incluyendo la acetilación de lisinas, metilación de arginina y lisina, fosforilación de serina y treonina, o ubiquitinación y sumoilación de lisina. Estas transformaciones ocurren principalmente dentro de las colas amino-terminal de las histonas que sobresalen de la superficie del nucleosoma, así como en la región del núcleo globular (Cosgrove, 2004). Estas modificaciones de las histonas pueden afectar a la función de los cromosomas a través de al menos dos mecanismos. El primer mecanismo sugiere que las modificaciones pueden alterar la carga electrostática de la histona, resultando en un cambio estructural de las histonas o de su unión al ADN. El segundo mecanismo implica que estas modificaciones son sitios de unión para módulos de reconocimiento de proteínas, tales como los bromodominios o cromodominios, que reconocen, respectivamente, a las lisinas acetiladas o metiladas. Ambos mecanismos influyen en la regulación de la expresión génica a través del reordenamiento de la cromatina y la formación de heterocromatina.

La metilación del ADN tiene lugar en citosinas que se convierten en 5-metilcitosinas por mediación de la enzima ADN metiltransferasa (DNMT). Los residuos de citosina modificadas están generalmente situados junto a una guanina (dinucleótido CpG), lo que, dada la naturaleza de doble hebra del ADN, da lugar a dos residuos de citosina metilados que se sitúan en diagonal, uno al lado del otro, al oponerse las hebras complementarias de ADN. Diferentes miembros de la familia de enzimas DNMT regulan estos procesos, ya sea las DNMT *de novo*, introduciendo el patrón inicial de grupos metilo sobre una secuencia de ADN donde antes no había metilación, o las DNMT de mantenimiento, copiando el patrón de metilación de una cadena de ADN pre-existente después de la replicación celular. En la actualidad no se conoce bien la función exacta de la metilación en citosinas sobre la expresión génica, pero parece que una adecuada metilación del ADN es esencial para la diferenciación celular y el

desarrollo embrionario, así como para la regulación de la expresión génica en los diferentes tipos celulares. Algunos estudios sugieren que el grupo metilo puede interferir directamente con la unión al ADN de los factores de transcripción que activan la transcripción. En la mayor parte de los casos, los genes que están altamente metilados (especialmente en su región promotora) tienden a estar más empaquetados, lo que conduce a una reducción de su expresión. Los genes con menor metilación tienden a exhibir un empaquetamiento más flexible, lo que facilita su expresión. También la metilación del ADN en regiones no promotoras puede desempeñar diversas tareas funcionales. Por ejemplo, la metilación del ADN de las regiones intragénicas puede regular la expresión génica al funcionar como promotores alternativos. Sin embargo, la correlación entre la metilación del ADN de las regiones intragénicas y la expresión de genes no está clara, ya que se han obtenido resultados contradictorios en diferentes células y tejidos (Esteller, 2002). El estudio de la metilación del ADN como origen o biomarcador de enfermedad está muy avanzado en cáncer. Por ejemplo, la hipermetilación de las islas CpG en las regiones promotoras de los genes supresores de tumores es un evento que está en el origen de muchos tipos de cáncer (Esteller, 2008).

3. Biomarcadores en nutrición personalizada

Tanto en medicina como en nutrición, existe una necesidad de identificar nuevos biomarcadores que sean robustos e indiquen de manera sencilla pero clara la existencia o no de enfermedad, el riesgo o predisposición a sufrirla en el futuro, o el mejor tratamiento dietético o farmacológico. Los biomarcadores nutricionales (bioquímicos, funcionales o moleculares) están revolucionando nuestra comprensión de la función de los nutrientes en la salud, y pueden ser de gran ayuda para la prevención, detección temprana, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades. Los biomarcadores pueden ser utilizados, además de para el diagnóstico, para evaluar la ingesta alimentaria de un individuo, para obtener información sobre las respuestas biológicas o fisiológicas a una dieta determinada o a procesos patogénicos, para evaluar la respuesta a diversas intervenciones terapéuticas, y para proporcionar datos sobre las diferencias interindividuales en la respuesta a la dieta y la nutrición.

Un marcador ideal debe cumplir las siguientes condiciones:

- Tener una elevada sensibilidad y especificidad clínica.
- Permitir una detección y cuantificación robusta, rápida, simple, exacta, reproducible y económica.

Por desgracia, actualmente existe una baja correlación entre los marcadores epigenéticos obtenidos a partir de diferentes plataformas o incluso desde la misma plataforma. La normalización de estos ensayos es un reto para el futuro.

La obtención de las muestras requiere de procedimientos poco invasivos. Lo ideal sería utilizar orina, saliva o muestras de sangre, y no necesitar biopsias. La variabilidad pre-analítica debe ser mínima y predecible. Por ejemplo, las diferencias en el tipo de muestra (tejido, sangre completa, plasma o suero) pueden introducir un profundo efecto sobre los niveles del biomarcador estudiado, que también pueden estar influenciados por la diferente proporción de los diversos tipos celulares (eritrocitos, leucocitos, monocitos, plaquetas...). Otro factor a tener en cuenta es el cambio en los marcadores epigenéticos debido a factores externos, incluyendo el tipo de dieta o el ayuno, el tabaquismo, el ejercicio físico, el estrés, etc.

Los marcadores epigenéticos, en algunos casos, aún están lejos de cumplir estas condiciones. Sin embargo, tienen el atractivo de poder actuar de puente entre los factores ambientales y la función de los genes. Dada la incesante evolución en las tecnologías que permiten la identificación y cuantificación de las diferentes marcas epigenéticas, y a que algunas de estas marcas están siendo aplicadas con éxito en la detección temprana de determinados tipos de cáncer (Suzuki, 2013), se está realizando un gran esfuerzo en la búsqueda de marcas epigenéticas que puedan ser usadas como biomarcadores en enfermedades relacionadas con la nutrición o en la respuesta a la dieta.

En este contexto, se han identificado biomarcadores epigenéticos que permiten predecir el mantenimiento del peso corporal después de la pérdida de peso, incluyendo el porcentaje de metilación en los genes leptina, TNFA, acuaporina 9 (AQP9), ATPasa de clase V tipo 10A (ATP10A), Wilms tumor 1 (WT1) y CD44 (Choi, 2013; Goni, 2014). También, la expresión de numerosos miRNAs en sangre total o en las células blancas ha sido asociada a mayor o menor riesgo a desarrollar enfermedades metabólicas o a la pérdida de peso después de una dieta hipocalórica (Milagro, 2013). En este sentido, algunos miRNA que han sido considerados como biomarcadores tempranos de enfermedades cardiovasculares, diabetes u obesidad, ya parecen estar alterados antes del desarrollo de la enfermedad y asociación con cambios tempranos en marcadores inflamatorios o de estrés oxidativo (Hulsmans, 2013). Sin embargo, en la búsqueda de biomarcadores epigenéticos se debe adoptar un enfoque más amplio; las marcas epigenéticas tienen que ser estudiadas en combinación con los SNP, la expresión de los miRNA y la expresión de los genes, con el fin de descifrar las interacciones entre la secuencia de ADN, la epigenética y la expresión génica, siempre considerando las interacciones con la dieta, el estrés, la actividad física y otros factores ambientales.

4. Epigenética y enfermedades metabólicas

Numerosos estudios han demostrado que uno de los mecanismos por los que determinados factores ambientales aumentan el riesgo a sufrir determinadas enfermedades metabólicas o actúan como protectores es a través de modificaciones de las marcas epigenéticas. En relación con la obesidad, la aterosclerosis y la diabetes de tipo 2, los principales objetivos serían: la búsqueda de biomarcadores epigenéticos que permitan predecir futuros problemas de salud o

detectar los individuos con mayor riesgo; identificar los factores ambientales relacionados con la obesidad, que podrían modular la expresión génica al afectar a los mecanismos epigenéticos; y desarrollar nuevas estrategias terapéuticas basadas en agentes nutricionales o farmacológicos que pueden modificar las marcas epigenéticas. En este sentido, las principales tareas serían (Martínez, 2014):

- El desarrollo de biomarcadores epigenéticos robustos relacionados con la regulación del peso y de la glucemia.
- La identificación de las marcas epigenéticas más susceptibles de ser modificadas por la exposición alimentaria.
- La identificación de los ingredientes activos que pueden alterar el epigenoma.
- La evaluación de la importancia real de otros factores relacionados con la obesidad en la regulación epigenética de los genes.
- La determinación de los períodos de la vida en los que se obtienen los mejores resultados.
- La comprensión de los principales mecanismos ligados a la herencia de las marcas epigenéticas.

Tomando como modelo los estudios de tipo GWAS, los estudios de asociación de epigenoma completo o EWAS ofrecen la oportunidad de descubrir nuevos mecanismos moleculares que influyen en la enfermedad humana. Un elegante estudio recientemente publicado en la revista *Lancet* (Dick, 2014) ha mostrado que el incremento en el índice de masa corporal en los adultos de origen europeo se asocia con un aumento de la metilación en el locus HIF3A en las células sanguíneas y en el tejido adiposo. Estos hallazgos no solo permitieron identificar con bastante certeza un marcador epigenético (la metilación de HIF3A), sino que sugieren que la desregulación de la vía metabólica del factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF) podría tener un papel importante en la predisposición al incremento de peso en humanos. Sin embargo, dado que las marcas epigenéticas pueden ser diferentes según el tipo celular (incluso entre los diferentes tipos de leucocitos, por ejemplo) y a que además pueden variar como consecuencia de la enfermedad (al contrario que ocurre en los GWAS), se aconseja precaución con respecto a la inferencia causal de los cambios epigenéticos identificados, ya que además no es posible comparar estudios realizados con diferentes tipos de muestra dada la heterogeneidad celular del material de partida (Paul, 2014). El mejor enfoque, en este caso, no sería comparar sujetos obesos frente a no obesos, o diabéticos frente a normoglucémicos, ya que sería imposible determinar si dichas marcas son producto de la enfermedad o alguna de sus complicaciones (hiperglucemia, inflamación, estrés oxidativo), de algunos nutrientes que son más o menos frecuentes en la dieta de las personas con enfermedad (algunos ácidos grasos, vitaminas, grupos donantes de metilo), debidos a la exposición a otros factores ambientales o a la herencia. Lo ideal sería estudiar las marcas epigenéticas de un mismo individuo a lo largo de

su vida, tomando muestras en varios momentos de su vida, en la infancia y, sobre todo, antes y después de desarrollar enfermedad, y asociando esas marcas a todos los factores ambientales posibles. Un interesante ejemplo de esta orientación es un estudio que ha observado que el estado de metilación del gen de la proopiomelanocortina (POMC) en la sangre del cordón umbilical puede ser un marcador predictivo precoz de desarrollo de síndrome metabólico en el futuro. Tras estudiar los patrones de metilación de muchos genes en el ADN de la sangre del cordón umbilical, los autores observaron que una alta metilación en POMC estaba asociada a un menor peso al nacer y que, 7-9 años después, esos mismos niños presentaban niveles más altos de triglicéridos y de insulina en sangre (Yoo, 2014).

5. Heredabilidad de las marcas epigenéticas

Hasta no hace mucho, se estimaba que las marcas epigenómicas se suprimen en el periodo embrionario y se reconstruyen desde cero. Sin embargo ahora se admite que algunas marcas epigenético permanecen en su lugar y pasan a la siguiente generación, como la información genética, en un proceso llamado *herencia epigenética*. Por ejemplo, algunas de las conclusiones obtenidas en el estudio epidemiológico Överkalix, el nombre de una localidad del norte de Suecia de la que hay registro de la mayor o menor disponibilidad de alimentos durante el siglo XIX, solo se pueden explicar a partir de la herencia epigenética transgeneracional (Bygren, 2014). Así, cuando la abuela paterna vivió, hasta la pubertad, varios cambios bruscos (de un año para otro) en el suministro de alimentos, las hijas de sus hijos tenían un riesgo mucho mayor de mortalidad cardiovascular.

Otros resultados proceden del *Invierno del Hambre* holandés (*Hongerwinter*) de 1944-45. En este estudio, como era esperable, los hijos de las mujeres que estaban embarazadas durante la hambruna eran más pequeños. Sin embargo, cuando estos niños crecían y tenían sus propios hijos, esos niños también eran, sorprendentemente, más pequeños que la media (Painter, 2008). Estos datos sugieren que la hambruna experimentado por las madres causaba algún tipo de cambio epigenético que se transmitía a la siguiente generación. Este estudio sugiere que algunas marcas epigenéticas se mantienen mucho tiempo después y pueden estar implicadas directamente en el aumento del riesgo a desarrollar enfermedad. Así, los individuos que resultaron expuestos a la hambruna en su época fetal presentaban, seis décadas más tarde, menor metilación en el gen (*imprinted*) IGF2 (factor de crecimiento insulínico tipo 2) que sus hermanos del mismo sexo no expuestos a la hambruna (Heijmans, 2008). Y los efectos fueron más claros cuando la hambruna ocurrió en la época periconcepcional y los tres primeros meses de gestación.

Con posterioridad, diversos estudios en animales han mostrado que existe transmisión de las marcas epigenéticas, aunque normalmente no se ha llegado a detectar más allá de la tercera generación. Por ejemplo, en un estudio de ratones alimentados con una dieta materna con alto contenido en grasa, se observó un aumento en el tamaño corporal y una reducción en la

sensibilidad a la insulina que persistió a través de dos generaciones a través de ambos linajes, maternos y paternos (Dunn, 2011). Sin embargo, el examen de la progenie de la tercera generación reveló que solo las hembras mostraban el aumento de tamaño corporal y, que este efecto se transmitió solo a través de la línea paterna, indicando que el efecto epigenético se va diluyendo con el paso de las generaciones. Estos resultados sugieren que la mayor parte del efecto transgeneracional se debe a que la dieta de la madre durante la gestación altera, no solo las marcas epigenéticas de las células somáticas del hijo, sino también las marcas de las células germinales del mismo, que de esa forma llegarán a pasar a los eventuales nietos.

En este sentido, se ha evidenciado una herencia de marcas epigenéticas por vía paterna. Por ejemplo, el perfil epigenómico del hígado de ratones macho descendientes de padres que consumieron una dieta baja en proteínas revela numerosos, aunque modestos, cambios en el porcentaje de metilación del ADN, lo que podría estar relacionado con cambios en el metabolismo del colesterol y los lípidos en la descendencia (Carone, 2010). En otro ensayo coetáneo se demostró que, si los padres recibían una dieta con alto contenido en grasa, se producía una disfunción en las células β de la descendencia femenina, que iba acompañada de alteraciones en la expresión de 642 genes de los islotes pancreáticos en la edad adulta. Además, esta investigación observó una hipometilación en el gen *Il13ra2* que se correlacionaba con un aumento de la expresión de dicho gen de 1,76 veces (Ng, 2010). En definitiva, estos estudios demuestran que las marcas epigenéticas, que han sido modificadas en el transcurso de la vida, pueden ser transmitidas a las siguientes generaciones tanto por vía materna como por vía paterna. Estos resultados sugieren que sería interesante controlar la ingesta y los demás factores ambientales, no solo en las madres, sino también en los padres, especialmente en el periodo de tiempo de maduración de los espermatozoides que tienen posibilidad de fecundar a los óvulos.

6. Epigenética y época perinatal

Las exposiciones ambientales adversas en momentos tempranos de la vida están asociadas con un aumento de la susceptibilidad para las enfermedades metabólicas en la época adulta, lo que se conoce como *DOHaD* o desarrollo temprano (o evolutivo) de la salud y la enfermedad (El Hajj, 2014). La sobrenutrición y la desnutrición del feto provocan efectos duraderos similares en el ajuste de los sistemas de control neuroendocrino, de la homeostasis energética y del metabolismo, que en muchos casos influyen en un incremento de la morbilidad atribuida a enfermedades metabólicas. También se aprecian resultados similares como consecuencia de la diabetes o de la obesidad maternas.

En los últimos años, diferentes estudios han mostrado que, como respuesta a la restricción o a la suplementación con determinados nutrientes durante el embarazo o la lactancia, tienen lugar cambios dinámicos en los patrones de metilación del ADN y en las marcas de las histonas. En este sentido, la plasticidad del epigenoma permitiría una mejor adaptación al medio y prepararía el metabolismo del feto para las futuras condiciones nutricionales que

se supone le esperan. Varios estudios describen que los mecanismos epigenéticos se pueden modular en respuesta a factores dietéticos maternos y que, además, pueden estar implicados en la susceptibilidad al desarrollo de obesidad y sus comorbilidades en la edad adulta (Zheng, 2014). Por ejemplo, el ácido fólico y otros agentes donantes de metilo, la cantidad y tipos de grasa y proteínas y la energía total de la dieta materna inducen, en la descendencia, alteraciones en la regulación epigenética de genes específicos, que afectan a las interacciones entre los nutrientes y el genoma, y que parecen estar relacionadas con modificaciones en el riesgo a sufrir distintas enfermedades (Burdge, 2012). En un ejemplo muy ilustrativo en ovejas que sufrieron desnutrición materna moderada, se demostró una disminución en los niveles de metilación de los genes de POMC y del receptor de glucocorticoides en el hipotálamo fetal, lo que potencialmente podría conducir al descontrol del balance energético a largo plazo. Estos cambios se asociaron con una disminución de la actividad de la enzima ADN metiltransferasa y alteraciones en la metilación y acetilación de las histonas (Begum, 2012). Hay muchos más ejemplos que apoyan que los desequilibrios de la dieta materna inducen cambios epigenéticos en la descendencia, que pueden durar hasta la edad adulta y que, incluso, pueden transmitirse a las siguientes generaciones. Estos hallazgos sugieren que es necesario controlar aún más la dieta de las madres durante el periodo de maduración del óvulo, el embarazo y la lactancia, para tratar de que no se produzcan cambios epigenéticos, que puedan incrementar el riesgo a sufrir enfermedades metabólicas en la descendencia. Sin embargo, al ser una época de difícil intervención, hacen falta muchos más estudios en animales y mejorar los estudios observacionales en personas.

7. Epigenética y factores metabólicos

Además de la dieta, otros factores ambientales que parecen influir en el desarrollo de las enfermedades metabólicas también parecen estar involucrados en las modificaciones de las marcas epigenéticas. Uno de esos factores es la hiperglucemia, que contribuye en gran medida a la progresión de las complicaciones diabéticas, como por ejemplo la nefropatía, la retinopatía o la microangiopatía. Recientes experimentos han revelado una estrecha relación entre los eventos hiperglucémicos (que afectan a la expresión de determinados genes) y ciertas modificaciones en la cromatina. En este sentido, se ha observado que la expresión de la metiltransferasa Set7 específica de lisinas, parece ser crucial para mejorar la accesibilidad de la cromatina al provocar cambios químicos de las colas amino-terminales de la histona, cuya expresión parece ser responsable de la transcripción de numerosos genes de las células β pancreáticas y parece influir en la expresión génica vascular en respuesta a episodios anteriores de hiperglucemia, en lo que se denomina «memoria hiperglucémica» (Keating, 2012).

Otro de los factores que está muy estrechamente vinculado a la aparición de complicaciones metabólicas es la inflamación. En el caso de la obesidad y la diabetes de tipo 2, se ha descrito que todos los principales factores de riesgo (dietas hipercalóricas, baja ingesta de fibra dietética, el estilo de vida sedentario, el estrés, la falta de sueño y la depresión) son capaces

de inducir inflamación local o sistémica de bajo grado (Solinas, 2010). Por otra parte, en la mayoría de los estudios las personas con diabetes tipo 2, síndrome metabólico u obesidad presentan respuestas inflamatorias más pronunciadas y duraderas en respuesta a un estrés metabólico que los controles metabólicamente normales. El código epigenético implicado en la regulación de la expresión génica se ve modificado durante la inflamación crónica (Milagro, 2013). La posibilidad de modular el estado de metilación de genes inflamatorios mediante la ingesta de diferentes compuestos naturales está recibiendo mucha atención, como un medio para proteger o mejorar enfermedades que cursan con un incremento de marcadores inflamatorios. Sin embargo, existe preocupación por la posibilidad de que el uso de inhibidores o activadores de enzimas epigenéticas (DNMT, metilasas y desmetilasas histonas, HDAC) careciera de suficiente especificidad, especialmente en tratamientos a largo plazo, y podría dar lugar a efectos secundarios indeseables. En este sentido, a fin de ampliar las posibilidades de intervención terapéutica anti-inflamatoria, sería necesaria la búsqueda de nuevas dianas epigenéticas destinadas a la modulación selectiva de la red de señalización inflamatoria en los órganos afectados. En este sentido, los miRNA y lncRNA podrían ser candidatos prometedoros, especialmente porque muestran una clara especificidad por la secuencia diana y podrían representar la conexión directa entre el genoma y el epigenoma.

Otro de los factores que en los últimos años parece haber adquirido gran importancia en la predisposición a desarrollar enfermedades metabólicas es la composición de la microbiota intestinal. En este sentido, cambios en la microbiota intestinal que llevan aparejados cambios en los componentes de la pared celular, como los receptores de tipo *Toll-like* como TLR2 y TLR4, están implicados en la regulación epigenética de las reacciones inflamatorias. Por ejemplo, los niveles de metilación de ambos TLR se correlacionaron significativamente con el índice de masa corporal en un estudio llevado a cabo en pacientes diabéticos y obesos (Remely, 2014). En ese mismo estudio, la metilación de siete CpG en la región promotora de TLR2 fueron significativamente menores en los diabéticos de tipo 2 que en los obesos y los controles, mientras que cuatro CpG en el primer exón de TLR4 mostraron menor metilación en los individuos obesos. Estos datos sugieren que una dieta, dirigida a mejorar el equilibrio microbiano intestinal y a inducir cambios epigenéticos en genes pro-inflamatorios de la mucosa intestinal, puede ser eficaz en la prevención del síndrome metabólico y enfermedades intestinales.

Por otra parte, en la mayor parte de los tejidos de los sujetos obesos y diabéticos parece existir un exceso de estrés oxidativo, que es resultado de un desequilibrio entre mecanismos y agentes oxidantes y antioxidantes endógenos y exógenos. El estrés oxidativo no solo es causante de daño en el ADN, sino que también aumenta la producción de la histona acetiltransferasa p300 y provoca alteraciones en las histonas desacetilasas, incluyendo las de clase III o sirtuinas. Además puede provocar cambios importantes en los patrones de expresión de numerosos miRNA, que podrían estar en el origen del desarrollo de complicaciones crónicas asociadas a la obesidad y la diabetes (Feng, 2013). Por otra parte, estos ajustes podrían ser parte de un círculo vicioso, ya que el mal funcionamiento de los mecanismos epigenéticos podría a su

vez resultar en un incremento del estrés oxidativo. En este sentido, diversos estudios están analizando el posible papel protector de las moléculas antioxidantes a la hora de prevenir los cambios epigenéticos inducidos por dietas nutritivamente desequilibradas.

Por último, el estrés mental y psicosocial se ha convertido en un rasgo típico de la sociedad moderna que implica la activación crónica de los sistemas neuroendocrinos, y que se ha relacionado con el aumento de la prevalencia de obesidad (Iversen, 2012). Aunque hasta el momento se han realizado pocos estudios epigenéticos en población adulta, los efectos del estrés de la madre durante la época fetal o de lactancia han sido ampliamente analizados en modelos animales. En muchos casos, se han encontrado importantes modificaciones epigenéticas en la descendencia que, en ocasiones, persisten hasta la vida adulta. En este sentido, es evidente que los factores de tensión materna producen un daño celular y hormonal y afectan a las respuestas epigenéticas en la placenta, lo que compromete su función y conduce a consecuencias a largo plazo para el desarrollo fetal (Gheorghe, 2010). Esta situación también se presenta durante la infancia, habiéndose observado cambios epigenéticos que pueden ser achacables a los sucesos traumáticos ocurridos en esas etapas iniciales de la vida.

En resumen, distintos procesos que suelen acompañar al desarrollo de las enfermedades metabólicas crónicas son, a su vez, capaces de alterar los mecanismos epigenéticos encargados de la regulación de la expresión génica. En este contexto, más estudios son necesarios para conocer la importancia de cada uno de ellos, y poder así aplicarlos para prevenir o tratar algunos de estos problemas.

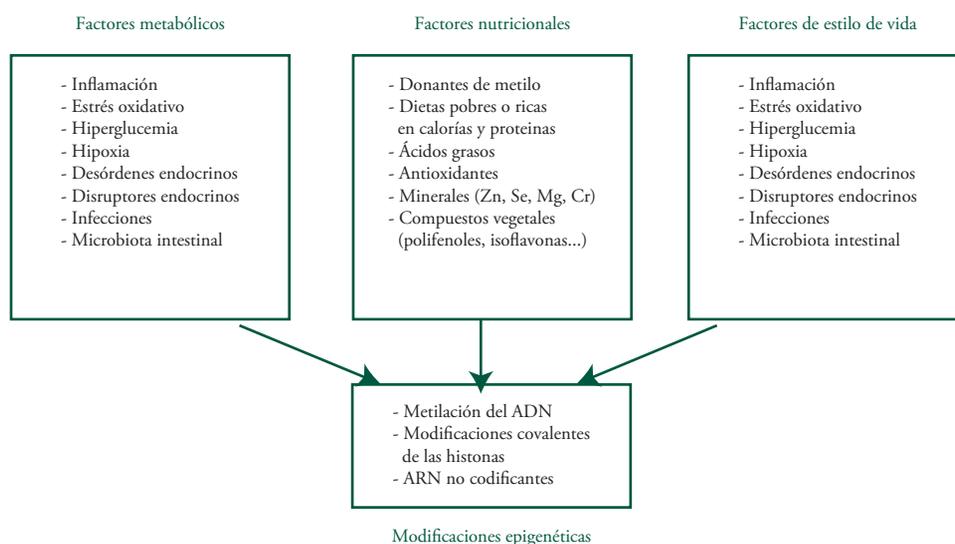
8. Epigenética y nutrición

Entre los compuestos presentes en los alimentos que han sido vinculados a la aparición de modificaciones epigenéticas, están los grupos dadores de metilo (ácido fólico, metionina, colina, betaína, vitamina B12...), la ingesta excesiva o deficiente de calorías y proteínas, las dietas ricas en grasa, los ácidos grasos de cadena corta (butirato, acetato y propionato), algunos minerales y vitaminas antioxidantes (vitaminas A, E y C), así como diversos compuestos de origen vegetal, como distintos polifenoles, catequinas, isoflavonas o isotiocianatos (Milagro, 2013). Hasta ahora, la mayor parte de los estudios se han centrado en los grupos donantes de metilos, en particular en los compuestos que intervienen en el ciclo de la metionina: metionina, folato, colina, biotina y vitaminas B2, B6 y B12. Estos nutrientes o compuestos son básicos para regular los niveles de metilación del ADN y de las histonas, siendo la S-adenosín-metionina o SAM la molécula encargada de ceder un grupo metilo a estas macromoléculas. De hecho, una dieta deficiente en grupos donantes de metilo se considera un buen modelo de esteatosis hepática en roedores, que pueden acabar desarrollando cirrosis y hepatocarcinoma, mientras que la suplementación con esas mismas moléculas parece revertir la esteatosis mediante cambios en la metilación de genes clave como la ácido graso sintasa (Cordero, 2013).

Ciertamente, las dietas desequilibradas pueden originar cambios epigenéticos que pueden contribuir al desarrollo de complicaciones metabólicas. Por ejemplo, un estudio observó que, en humanos, la ingesta de una dieta rica en grasa de forma aguda indujo cambios en la metilación de 6.508 genes en el músculo esquelético (Jacobsen, 2012). Sin embargo, otro de los puntos más interesantes de la nutriepigenética es saber si esos cambios pueden ser revertidos por dietas saludables. En el caso del estudio mencionado, los cambios observados no fueron significativamente revertidos tras 6-8 semanas de dieta normocalórica, sugiriendo que la reversibilidad de las marcas epigenética puede ser lenta y que la acumulación de modificaciones puede con el tiempo influir en los niveles de expresión de los genes. Este hecho podría estar detrás del conocido como efecto «yo-yo», que se caracteriza por una dificultad cada vez mayor a adelgazar tras cada episodio de tratamiento hipocalórico. Una prueba de la reversibilidad de algunas de las marcas epigenéticas se ha descrito en un estudio en ratas, en las que se ha observado que la ingesta de una dieta hipercalórica durante 20 semanas alteraba, en el tejido adiposo visceral, la metilación de varios sitios CpG situados en el promotor del gen de la leptina (Uriarte, 2013). Cuando la dieta hipercalórica fue sustituida por una dieta normocalórica y las ratas dejaron de ganar aceleradamente peso (10 semanas), se revirtieron los niveles de metilación de algunos de los sitios CpG del promotor de la leptina. Este estudio confirma la posible reversibilidad de los cambios fenotípicos y epigenéticos inducidos por la ingesta de dieta hipercalórica, aunque se necesitaría un seguimiento más largo y pormenorizado para asegurar que se pueden llegar a alcanzar los niveles de metilación de antes de la dieta hipercalórica en todos los genes.

Los factores nutricionales que influyen en la modificación de las marcas epigenéticas, junto con los metabólicos y los de estilo de vida, se representan en la Figura 2.

Figura 2. Factores metabólicos, nutricionales y de estilo de vida que han sido asociados con cambios epigenéticos



9. ¿Hacia la terapia epigenética?

Las marcas epigenéticas, al contrario que los polimorfismos genéticos, no son permanentemente estables, sino que, dependen en gran medida de los factores ambientales y pueden ser parcialmente revertidas por ellos. En consecuencia, la restauración del escenario epigenético «normal» está siendo objeto de numerosas investigaciones y ha dado lugar a importantes avances en la detección, tratamiento y pronóstico del cáncer (Ho, 2013). Por ello, y a semejanza del cáncer, uno de los principales fines a largo plazo en las investigaciones sobre la obesidad y la diabetes es el desarrollo de medicamentos o tratamientos relacionados con la dieta, capaces de retrasar los cambios epigenéticos e incluso revertirlos. Por el momento no hay estudios publicados que hayan analizado el efecto de inhibidores o activadores de los enzimas que modifican las marcas de las histonas (como los inhibidores de HDAC). Sin embargo, con respecto a la dieta, se están haciendo intentos de crear una «dieta epigenética». La dieta epigenética introduce compuestos bioactivos tales como el sulforafano, la curcumina, el galato de epigallocatequina y el resveratrol, pero también ácido fólico, vitamina B12, colina, cinc, selenio y diversos polifenoles que se cree participan en la extensión de la esperanza de vida y ralentizan la progresión de las enfermedades relacionadas con la edad, como las enfermedades cardiovasculares, el cáncer o la obesidad. La restricción calórica parece actuar de un modo similar a la «dieta epigenética», modificando los mecanismos epigenéticos (modificación de las histonas, metilación del ADN y modulación de la expresión de los microARN) y frenando el proceso de envejecimiento (Martin, 2013). Definitivamente, es necesario realizar estudios más profundos y mejor diseñados en relación a la «dieta epigenética» para poder establecer si es posible llevarla a cabo y si realmente tiene un efecto protector actuando a través de la modulación de los procesos epigenéticos. Los próximos años verán sin duda importantes avances en este campo, aunque probablemente sean necesarios muchos años de intervención dietética y de seguimiento para poder establecer nuevos paradigmas en torno a este tema. Por supuesto, la época de la vida en que se consume la dieta así como las posibles interacciones con la secuencia genética y con otros factores ambientales, como el estrés o la actividad física, serán factores clave y, dada su complejidad, pueden dificultar los avances, pero el desarrollo incesante de las tecnologías ómicas y el descenso de su coste ayudarán en gran medida a tales menesteres.

Dado que la magnitud del cambio epigenético producido por los factores dietéticos y ambientales es pequeña y acumulativa, a que existen muchos factores involucrados, y a que aparecen numerosas interacciones entre ellos y con la edad, la mayor dificultad en los próximos años va a encontrarse en la identificación de la importancia individual de cada uno de dichos factores, así como en determinar su importancia real cuando actúan de manera sinérgica o antagónica con cada uno de los demás factores.

Referencias bibliográficas

- BEGUM, G.; STEVENS, A.; SMITH, E. B.; CONNOR, K.; CHALLIS, J. R.; BLOOMFIELD, F. y WHITE, A. (2012): «Epigenetic changes in fetal hypothalamic energy regulating pathways are associated with maternal undernutrition and twinning»; *FASEB J.* (26); pp. 1694-1703.
- BRADFIELD, J. P.; TAAL, H. R.; TIMPSON, N. J.; SCHERAG, A.; LECOEUR, C.; WARRINGTON, N. M.; HYPONEN, E.; HOLST, C.; VALCARCEL, B.; THIERING, E.; SALEM, R. M.; SCHUMACHER, F. R.; COUSMINER, D. L.; SLEIMAN, P. M.; ZHAO, J.; BERKOWITZ, R. I.; VIMALLESWARAN, K. S.; JARICK, I.; PENNELL, C. E.; EVANS, D. M.; ST POURCAIN, B.; BERRY, D. J.; MOOK-KANAMORI, D. O.; HOFMAN, A.; RIVADENEIRA, F.; UITTERLINDEN, A. G.; VAN DUIJN, C. M.; VAN DER VALK, R. J.; DE JONGSTE, J. C.; POSTMA, D. S.; BOOMSMA, D. I.; GAUDERMAN, W. J.; HASSANEIN, M. T.; LINDGREN, C. M.; MÄGI, R.; BOREHAM, C. A.; NEVILLE, C. E.; MORENO, L. A.; ELLIOTT, P.; POUTA, A.; HARTIKAINEN, A. L.; LI, M.; RAITAKARI, O.; LEHTIMÄKI, T.; ERIKSSON, J. G.; PALOTIE, A.; DALLONGEVILLE, J.; DAS, S.; DELOUKAS, P.; MCMAHON, G.; RING, S. M.; KEMP, J. P.; BUXTON, J. L.; BLAKEMORE, A. I.; BUSTAMANTE, M.; GUXENS, M.; HIRSCHHORN, J. N.; GILLMAN, M. W.; KREINER-MØLLER, E.; BISGAARD, H.; GILLILAND, F. D.; HEINRICH, J.; WHEELER, E.; BARROSO, I.; O'RAHILLY, S.; MEIRHAEGHE, A.; SØRENSEN, T. I.; POWER, C.; PALMER, L. J.; HINNEY, A.; WIDEN, E.; FAROOQI, I. S.; MCCARTHY, M. I.; FROGUEL, P.; MEYRE, D.; HEBEBRAND, J.; JARVELIN, M. R.; JADDOE, V. W.; SMITH, G. D.; HAKONARSON, H.; GRANT, S. F. y EARLY GROWTH GENETICS CONSORTIUM. (2012): «A genome-wide association meta-analysis identifies new childhood obesity loci»; *Nat Genet.* (44); pp. 526-531.
- BURDGE, G. C.; HOILE, S. P. y LILLYCROP, K. A. (2012): «Epigenetics: are there implications for personalised nutrition?»; *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* (15); pp. 442-447.
- BYGREN, L. O.; TINGHÖG, P.; CARSTENSEN, J.; EDVINSSON, S.; KAATI, G.; PEMBREY, M. E. y SJÖSTRÖM, M. (2014): «Change in paternal grandmothers' early food supply influenced cardiovascular mortality of the female grandchildren»; *BMC Genet.* (15); pp. 12.
- CARONE, B. R.; FAUQUIER, L.; HABIB, N.; SHEA, J. M.; HART, C. E.; LI, R.; BOCK, C.; LI, C.; GU, H.; ZAMORE, P. D.; MEISSNER, A.; WENG, Z.; HOFMANN, H. A.; FRIEDMAN, N. y RANDO, O. J. (2010): «Paternally induced transgenerational environmental reprogramming of metabolic gene expression in mammals»; *Cell.* (143); pp. 1084-1096.
- CHOI, S. W.; CLAYCOMBE, K. J.; MARTÍNEZ, J. A.; FRISO, S. y SCHALINSKE, K. L. (2013): «Nutritional epigenomics: a portal to disease prevention»; *Adv Nutr.* (4); pp. 530-532.
- CORDERO, P.; GÓMEZ-URIZ, A. M.; CAMPION, J.; MILAGRO, F. I. y MARTÍNEZ, J. A. (2013): «Dietary supplementation with methyl donors reduces fatty liver and modifies the fatty acid synthase DNA methylation profile in rats fed an obesogenic diet»; *Genes Nutr.* (8); pp. 105-113.

- COSGROVE, M. S.; BOEKE, J. D. y WOLBERGER, C. (2004): «Regulated nucleosome mobility and the histone code»; *Nat Struct Mol Biol.* (11); pp. 1037-1043.
- DICK, K. J.; NELSON, C. P.; TSAPROUNI, L.; SANDLING, J. K.; AÏSSI, D.; WAHL, S.; MEDURI, E.; MORANGE, P. E.; GAGNON, F.; GRALLERT, H.; WALDENBERGER, M.; PETERS, A.; ERDMANN, J.; HENGSTENBERG, C.; CAMBIEN, F.; GOODALL, A. H.; OUWEHAND, W. H.; SCHUNKERT, H.; THOMPSON, J. R.; SPECTOR, T. D.; GIEGER, C.; TRÉGOUËT, D. A.; DELOUKAS, P. y SAMANI, N. J. (2014): «DNA methylation and body-mass index: a genome-wide analysis»; *Lancet.* (383); pp. 1990-1998.
- DUNN, G. A. y Bale, T. L. (2011): «Maternal high-fat diet effects on third-generation female body size via the paternal lineage»; *Endocrinology* (152); pp. 2228-2236.
- EL HAJJ, N.; SCHNEIDER, E.; LEHNEN, H. y HAAF, T. (2014): «Epigenetics and life-long consequences of an adverse nutritional and diabetic intrauterine environment»; *Reproduction.* (148); pp. R111-120.
- ESTELLER, M. (2002): «CpG island hypermethylation and tumor suppressor genes: a booming present, a brighter future»; *Oncogene* (21); pp. 5427-5440.
- ESTELLER, M. (2008): «Epigenetics in cancer»; *N Engl J Med.* (358); pp. 1148-1159.
- FENG, B.; RUIZ, M. A. y CHAKRABARTI, S. (2013): «Oxidative-stress-induced epigenetic changes in chronic diabetic complications»; *Can J Physiol Pharmacol.* (91); pp. 213-220.
- GHEORGHE, C. P.; GOYAL, R.; MITTAL, A. y LONGO, L. D. (2010): «Gene expression in the placenta: maternal stress and epigenetic responses»; *Int J Dev Biol.* (54); pp. 507-523.
- GONI, L.; MILAGRO, F. I.; CUERVO, M. y MARTÍNEZ, J. A. (2014): «Single-nucleotide polymorphisms and DNA methylation markers associated with central obesity and regulation of body weight»; *Nutr Rev.* (72); pp. 673-6690.
- HALE, P. J., LÓPEZ-YÚNEZ, A. M. y CHEN, J. Y. (2012): «Genome-wide meta-analysis of genetic susceptible genes for Type 2 Diabetes»; *BMC Syst Biol.* (6); pp. S16.
- HEIJMANS, B. T.; TOBI, E. W.; STEIN, A. D.; PUTTER, H.; BLAUW, G. J.; SUSSER, E. S.; SLAGBOOM, P. E. y LUMEY, L. H. (2008): «Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans»; *Proc Natl Acad Sci U S A.* (105); pp. 17046-17049.
- HO, A. S.; TURCAN, S. y CHAN, T. A. (2013): «Epigenetic therapy: use of agents targeting deacetylation and methylation in cancer management»; *Onco Targets Ther.* (6); pp. 223-232.
- HULSMANS, M. y HOLVOET, P. (2013): «MicroRNAs as early biomarkers in obesity and related metabolic and cardiovascular diseases»; *Curr Pharm Des.* (19); pp. 5704-5717.
- IVERSEN, L. B.; STRANDBERG-LARSEN, K.; PRESCOTT, E.; SCHNOHR, P. y ROD, N. H. (2012): «Psychosocial risk factors, weight changes and risk of obesity: the Copenhagen City Heart Study»; *Eur J Epidemiol.* (27); pp. 119-130.

- JACOBSEN, S. C.; BRØNS, C.; BORK-JENSEN, J.; RIBEL-MADSEN, R.; YANG, B.; LARA, E.; HALL, E.; CALVANESE, V.; NILSSON, E.; JØRGENSEN, S. W.; MANDRUP, S.; LING, C.; FERNANDEZ, A. F.; FRAGA, M. F.; POULSEN, P. y VAAG, A. (2012): «Effects of short-term high-fat overfeeding on genome-wide DNA methylation in the skeletal muscle of healthy young men»; *Diabetologia* (55); pp. 3341-3349.
- KEATING, S. T. y EL-OSTA, A. (2012): «Chromatin modifications associated with diabetes»; *J Cardiovasc Transl Res* (5); pp. 399-412.
- MARTIN, S. L.; HARDY, T. M. y TOLLEFSBOL, T. O. (2013): «Medicinal chemistry of the epigenetic diet and caloric restriction»; *Curr Med Chem.* (20); pp. 4050-4059.
- MARTÍNEZ, J. A.; MILAGRO, F. I.; CLAYCOMBE, K. J. y SCHALINSKE, K.L. (2014): «Epigenetics in adipose tissue, obesity, weight loss, and diabetes»; *Adv Nutr.* (5); pp. 71-81.
- MILAGRO, F. I.; MIRANDA, J.; PORTILLO, M. P.; FERNANDEZ-QUINTELA, A.; CAMPIÓN, J.; MARTÍNEZ, J. A. (2013): «High-throughput sequencing of microRNAs in peripheral blood mononuclear cells: identification of potential weight loss biomarkers»; *PLoS One.* (8); pp. e54319.
- MILAGRO, F. I.; MANSEGO, M. L.; DE MIGUEL, C. y MARTÍNEZ, J. A. (2013): «Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: progresses and perspectives»; *Mol Aspects Med.* (34); pp. 782-812.
- NG, S. F.; LIN, R. C.; LAYBUTT, D. R.; BARRES, R.; OWENS, J. A. y MORRIS, M. J. (2010): «Chronic high-fat diet in fathers programs β -cell dysfunction in female rat offspring»; *Nature.* (467); pp. 963-966.
- NORHEIM, F.; GJELSTAD, I. M.; HJORTH, M.; VINKNES, K. J.; LANGLEITE, T. M.; HOLEN, T.; JENSEN, J.; DALEN, K. T.; KARLSEN, A. S.; KIELLAND, A.; RUSTAN, A. C. y DREVON, C. A. (2012): «Molecular nutrition research: the modern way of performing nutritional science»; *Nutrients.* (4); pp. 1898-1944.
- PAINTER, R. C.; OSMOND, C.; GLUCKMAN, P.; HANSON, M.; PHILLIPS, D. I. y ROSEBOOM, T. J. (2008): «Transgenerational effects of prenatal exposure to the Dutch famine on neonatal adiposity and health in later life»; *BJOG.* (115); pp. 1243-1249.
- PAUL, D. S. y BECK, S. (2014): «Advances in epigenome-wide association studies for common diseases»; *Trends Mol Med.* (20); pp. 541-543.
- REMELY, M.; AUMUELLER, E.; JAHN, D.; HIPPE, B.; BRATH, H. y HASLBERGER, A. G. (2014): «Microbiota and epigenetic regulation of inflammatory mediators in type 2 diabetes and obesity»; *Benef Microbes.* (5); pp. 33-43.
- ROSS, S. A. y DAVIS, C. D. (2014): «The emerging role of microRNAs and nutrition in modulating health and disease»; *Annu Rev Nutr.* (34); pp. 305-336.