



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE MEDICINA
BIOMEDICINA

**REMODELACIÓN DE LA METILACIÓN DEL DNA CORRELACIONADO CON
NIVELES SÉRICOS DE LÍPIDOS EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA
BARIÁTRICA**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
SÁNCHEZ HERNÁNDEZ ERNESTO CARLOS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LORENA SOFÍA OROZCO OROZCO
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM
COMITÉ TUTOR: DRA. HAYDEÉ ROSAS VARGAS
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM
DR. RENÉ DE JESUS CÁRDENAS VÁZQUEZ
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

CD. MX., AGOSTO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE MEDICINA
BIOMEDICINA

**REMODELACIÓN DE LA METILACIÓN DEL DNA CORRELACIONADO CON
NIVELES SÉRICOS DE LÍPIDOS EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA
BARIÁTRICA**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
SÁNCHEZ HERNÁNDEZ ERNESTO CARLOS

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LORENA SOFÍA OROZCO OROZCO
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM
COMITÉ TUTOR: DRA. HAYDEÉ ROSAS VARGAS
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM
DR. RENÉ DE JESUS CÁRDENAS VÁZQUEZ
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

MÉXICO, CD. MX., AGOSTO, 2017

Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 13 de marzo de 2017, aprobó el jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **SÁNCHEZ HERNÁNDEZ ERNESTO CARLOS** con número de cuenta **300200797**, con la tesis titulada **"REMODELACIÓN DE LA METILACIÓN DEL DNA CORRELACIONADO CON NIVELES SÉRICOS DE LÍPIDOS EN PACIENTES SOMETIDOS A CIRUGÍA BARIÁTRICA"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. LORENA SOFÍA OROZCO OROZCO**:

Presidente: DRA. MARCIA HIRIART URDANIVIA
Vocal: DRA. MARÍA GENOVEVA GONZÁLEZ MORÁN
Secretario: DRA. HAYDEÉ ROSAS VARGAS
Suplente: DRA. SELVA LUCÍA RIVAS ARANCIBIA
Suplente: DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd, Mx., a 13 de marzo de 2017

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme abierto las puertas de sus aulas, por darme el privilegio y el orgullo de pertenecer y haber estudiado en ella una maestría.

Durante los estudios de maestría goce de una beca otorgada por CONACYT (Número de becario 625050) para la realización de la presente tesis.

Al comité Tutorial que asesoró el desarrollo de esta tesis estuvo formado por:

Dr. Lorena Sofía Orozco Orozco Facultad de Medicina, UNAM

Dr. Haydeé Rosas Vargas Facultad de Medicina, UNAM

Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez Facultad de Ciencias, UNAM.

Agradecimientos a título personal

A la Dra. Lorena Orozco por aceptarme en su laboratorio y permitirme trabajar con su maravilloso grupo de trabajo. Muchas gracias por el apoyo y la confianza que me brindó para la realización de esta tesis y así culminar ésta, para alcanzar una meta. Muchas gracias por sus enseñanzas.

Al Dr. Federico Centeno Cruz por todas sus enseñanzas, apoyo y el entusiasmo que siempre puso en mi proyecto.

A los miembros de mi comité tutor: La Dra. Haydeé Rosas Vargas y el Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez. Muchas gracias por sus enseñanzas, sus atinadas observaciones, correcciones y recomendaciones para que este proyecto culminará.

Al Q.F.B Francisco Martin Barajas Olmos por la por el apoyo y orientación brindado durante la realización del presente proyecto.

A los amigos del laboratorio y del INMEGEN por compartir gratos momentos dentro y fuera del instituto (Miguel, Elaheh, Claudia, Paco, Berenice, Daniela García, Daniela Torres, Rigo, Angélica, Pedro, Marlen, Melisa, Alfredo, Jesús, Luis, Armando, Honorio, Javier, Julieta, Vanessa, Vianca, Guillermo, Rebeca, Monserrat, Diana, Alicia, Kathya, German, Jorge, Alejandrina, Polly, Beto, Ceci, Humberto, Monse, Humberto Malacatt, Juan, Tulia).

A mis padres y hermanos por apoyarme y animarme en todo momento, por sus consejos, por su paciencia, por creer en mí y que gracias a eso logre disfrutar y así terminar con esta etapa de mi vida.

Índice

Índice de Tablas	i
Índice de Figuras	ii
Abreviaturas	iii
Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
1.-Dislipidemias	2
1.1.-Clasificación de las dislipidemias	3
1.2.-Criterios diagnósticos	5
1.3.-Alteración del metabolismo de lípidos en obesidad	8
1.4.-Metabolismo y absorción de los lípidos	6
1.5.-Alteración del metabolismo de lípidos en los individuos con peso normal	10
2.-Características de los obesos metabólicamente sanos y los obesos no metabólicamente sanos.	11
3.-Genética de la dislipidemia.	13
3.1.-Estudios de asociación del genoma completo (GWAS)	13
4.-Epigenética de las enfermedades metabólicas	13
5.-Mecanismos epigenéticos	14
5.1.-Metilación del DNA.	15
5.2.-Papel de la metilación del DNA en los procesos biológicos.	16
5.3.-Represión transcripcional directa por 5mC	17
5.4.-Reclutamiento de complejos de proteínas	17
5.5.-Comunicación cruzada con histonas modificadas postraduccionalmente	18
5.6.-Metilación de DNA y ambiente	18
6.-Antecedentes	18
7.-Justificación	20
8.- Objetivo general	21
8.1 Objetivos particulares	21
9.- Metodología	21
9.1.- Características de la población de estudio	22
9.2.- Obtención de muestras	22
9.3.- Estudios bioquímicos	22
9.4.- Extracción de DNA	22
9.5.- Microarreglos de metilación	23
9.6.- Análisis de datos y enriquecimiento de vías	23
10.- Resultados	23
10.1.- Efecto de la cirugía bariátrica sobre los diferentes parámetros bioquímicos en las pacientes obesas	23
10.2.- Correlación entre niveles de metilación y parámetros clínicos	26
11.-Discusión	32
12.-Conclusiones	37
13.-Literatura citada	38

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación fenotípica de las dislipidemias	4
Tabla 2. Puntos de cohorte para los niveles normales de parámetros clínicos asociados a dislipidemias	5
Tabla 3. Resumen de los cambios en los parámetros clínicos, comparando t0 (día quirúrgico) con t6 (6 meses después de la operación)	24
Tabla 4. Datos clínicos y antropométricos de las pacientes en el presente estudio	24
Tabla 5. Tipos de dislipidemias encontradas en las 24 pacientes obesas	25
Tabla 6. Remodelación de los sitios CpG y número de genes en los que ocurre	26
Tabla 7. Enriquecimiento ontológico-funcional de genes cuya remodelación de sus patrones de metilación se asociaron a cambios en la concentración de colesterol	28
Tabla 8. Enriquecimiento ontológico-funcional de genes cuya remodelación de sus patrones de metilación se asociaron a cambios en la concentración de HDL	28
Tabla 9. Enriquecimiento ontológico-funcional de genes cuya remodelación de sus patrones de metilación se asociaron a cambios en la concentración de LDL	29
Tabla 10. Tabla 8. Enriquecimiento ontológico-funcional de genes cuya remodelación de sus patrones de metilación se asociaron a cambios en la concentración de TG	29

Índice de figuras

Figura 1.- Procesado de los lípidos de la dieta	6
Figura 2. Alteraciones en el metabolismo de los lípidos en condiciones de obesidad	9
Figura 3. Características de los individuos obesos, metabólicamente sanos y los individuos obesos con alteraciones metabólicas	12
Figura 4. Reacción en la que se modifica el DNA, por metilación	15
Figura 5. Principales efectos de la cirugía bariátrica en la pérdida de peso y en algunas de las comorbilidades	20
Figura 6. Niveles de los parámetros clínicos en individuos obesos no diabéticos antes y después de la cirugía T0 es el día de la cirugía y T6 son seis meses después de la operación	25
Figura 7. Niveles de los parámetros clínicos en individuos obesos diabéticos antes y después de la cirugía t0 es el día de la cirugía y T6 son seis meses después de la operación	26
Figura 8. Genes con correlación entre metilación y parámetros clínicos	27
Figura 9. Correlación de la remodelación de los patrones de metilación y los perfiles de lípidos (CT, HDL, LDL y TG)	31

Abreviaturas

5mC	5-metilcitosina
Apo	Apolipoproteínas
ASP/C3adesArg	Proteína estimuladora de la acilación
CETP	Proteína transferidora de esteres de colesterol
CGIs	Islas CpG (del inglés <i>islands CpG</i>)
CpG	Dinucleótido CpG (citosina unida mediante fosfato a guanina)
CT	Colesterol total
DNA	ácido desoxirribonucleico
DNMTs	DNA metiltransferasas
DNMT1	DNA metiltransferasa de mantenimiento
DNMTA	DNA metiltransferasa 3A (metiltransferasa <i>de novo</i>)
DNMTB	DNA metiltransferasa 3B (metiltransferasa <i>de novo</i>)
DT2	Diabetes Mellitus Tipo 2
FASN	ácido graso sintasa
FFA	ácidos grasos libres
GPIHBP1	proteína ligadora de HDL anclada por glicosilfosfatidilinosito
GWAS	estudios de asociación del genoma completo (del inglés <i>Genome-wide association study</i>)
Hb1Ac	Hemoglobina glucosilada
HDACs	desacetilasas de histonas
HSL	lipasa sensible a hormona (del inglés <i>hormone sensitive lipase</i>)
HDL	lipoproteínas de alta densidad
IDL	lipoproteínas de densidad intermedia
IL6	Interleucina 6
MBP	Proteína con dominio de unión a metil (del inglés <i>Methyl binding domain</i>)
MBPs	Proteína de unión a metil-CpG (del inglés <i>Methyl-CpG-binding domain protein</i>)
PAF	Factor activador plaquetario (del inglés <i>platelet activating factor</i>)
PC	Fosfatidilcolina
IMC	Índice de masa corporal
LCAT	Lecitina colesterol acil transferasa
LDL	lipoproteínas de baja densidad
LPL	lipoproteína lipasa
MAG	monoacilgliceroles
NPC1L1	<i>Niemann-Pick C1-like protein 1</i>
PCSK9	Proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9
PLTP	Proteína transferidora de fosfolípidos
RNA	Ácido ribonucleico
SAM	S-adenosilmetionina
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido o SNP (del inglés <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>)
RNA _m	Ácido ribonucleico mensajero
TNF	Factor de necrosis tumoral
TG	Triglicéridos
VLDL	Lipoproteína de baja densidad
WHO	World Health Organization
XCI	Inactivación del cromosoma X

Resumen

En las últimas décadas la obesidad se ha convertido en un padecimiento con características de pandemia, lo que aunado a su estrecha relación con diversas comorbilidades, como dislipidemias, diabetes mellitus tipos 2 (DT2), hipertensión y cáncer, ha convertido a ésta en un problema de salud pública. La obesidad y sus comorbilidades son enfermedades complejas donde se requiere la interacción de factores ambientales y genéticos para su origen. Sin embargo, a pesar de la alta heredabilidad de esta entidad y de las nuevas tecnologías genómicas para la identificación de las variantes genéticas responsables de la enfermedad, los factores genéticos identificados a la fecha sólo explican una pequeña parte de la variación del índice de masa corporal (IMC).

Recientemente se han propuesto a las modificaciones epigenéticas, como la metilación del DNA, como fuertes candidatos para explicar la variabilidad de las alteraciones metabólicas de la obesidad. Así, en este trabajo se analizó la correlación de la remodelación de la metilación con los niveles de los parámetros lipémicos y glucémicos en 24 muestras de tejido adiposo subcutáneo de pacientes obesas femeninas diabéticas y no diabéticas, antes y después de la cirugía bariátrica.

El análisis de la metilación del genoma completo se realizó con el microarreglo 450k (Illumina) antes y seis meses después de la cirugía y la correlación con los parámetros lipémicos y glucémicos se realizó a través de la prueba de Pearson. Se seleccionaron aquellos genes con sitios CpG que tuvieron correlaciones de Pearson con $r \geq +0.6$; $r \leq -0.6$ y $P < 0.050$. La alteración de la metilación de los genes relacionados con los parámetros clínicos asociados a dislipidemia fue principalmente hipermetilación. Algunos de los genes cuya remodelación de la metilación presentó la mayor correlación con la concentración de los niveles séricos de lípidos, después de 6 meses de cirugía bariátrica fueron *WNT10B*, *ADAM8*, *LPCAT1*, *ABCA6*, *APOE*, *PLTP*, *FOXO3*, *CDH1* y *CAPN5*. El enriquecimiento ontológico-funcional mostró que las vías principalmente que participan en las dislipidemias fueron la biosíntesis de lípidos y macromoléculas, en hiper LDL; muerte celular programada y regulación negativa de procesos biosintéticos, en hipercolesterolemia; adhesión focal, señalización de TGF β , señalización de WNT, interacción de receptores y matriz extracelular y desarrollo del cáncer, en hipo HDL y transporte de iones y aminoácidos, proliferación de células T, regulación de procesos metabólicos que involucran al fosfato, en hipertrigliceridemia.

La mayoría de las alteraciones de la metilación del DNA en el tejido adiposo fueron revertidas por la cirugía bariátrica, lo que indica que la metilación es un proceso dinámico, aunque no se puede determinar si las alteraciones en la metilación del DNA son una causa o consecuencia de la obesidad o sus comorbilidades. Las alteraciones epigenéticas encontradas en el tejido adiposo de pacientes obesas contribuye a la comprensión de la etiología de la dislipidemia e identifica nuevos objetivos para el desarrollo de terapias potenciales y nuevas estrategias para una mejor intervención de estos padecimientos.

Abstract

In recent decades, obesity has become a disease with characteristics of a pandemic, which, along with its close relationship with various comorbidities, such as dyslipidemias, Diabetes mellitus type 2 (DT2), hypertension and cancer, has made this a public health problem. Obesity and its comorbidities are complex diseases where the interaction of environmental and genetic factors for their origin is required. However, despite the high heritability of this entity and the new genomic technologies for the identification of the genetic variants responsible for the disease, the genetic factors identified to date only explain a small part of the variation of the Body mass index (BMI). Recently they have been proposed to the epigenetic modifications, like DNA methylation, as strong candidates to explain the variability of the metabolic alterations of the obesity. Thus, in this work the correlation of methylation remodeling with the levels of lipemic and glycemic parameters in 24 subcutaneous adipose tissue samples from diabetic and non-diabetic female obese patients, before and after bariatric surgery, was analyzed. The methylation analysis of the complete genome was performed with the microarray 450k (Illumina) before and six months after surgery and the correlation with the lipemic and glycemic parameters were performed through the Pearson test. Those genes with CpG sites that had Pearson's correlations with $r \geq + 0.6$ were selected; $R \leq -0.6$ and $P < 0.050$. The alteration of the methylation of genes related to the clinical parameters associated with dyslipidemia was mainly hypermethylation. Some of the genes whose methylation remodeling had the highest correlation with serum lipid levels, after 6 months of bariatric surgery were WNT10B, ADAM8, LPCAT1, ABCA6, APOE, PLTP, FOXO3, CDH1 and CAPN5. Ontological-functional enrichment showed that the pathways mainly involved in dyslipidemias were lipid and macromolecule biosynthesis, in hyper LDL; Programmed cell death and negative regulation of biosynthetic processes in hypercholesterolemia; Focal adhesion, TGF β signaling, WNT signaling, interaction of receptors and extracellular matrix and development of cancer, in hipo HDL and transport of ions and amino acids, T cell proliferation, regulation of metabolic processes involving phosphate, in hypertriglyceridemia.

Most alterations of DNA methylation in adipose tissue were reversed by bariatric surgery, indicating that methylation is a dynamic process, although it is not possible to determine if alterations in DNA methylation are a cause or consequence of obesity or its comorbidities. The epigenetic alterations found in the adipose tissue of obese patients contributes to the understanding of the etiology of dyslipidemia and identifies new objectives for the development of potential therapies and new strategies for a better intervention of these diseases.

Introducción

En México, al igual que en todo el mundo, ha ocurrido una transición epidemiológica, con una disminución progresiva de las entidades infecciosas y parasitarias y un incremento de enfermedades crónicas-degenerativas. Por su frecuencia y ritmo acelerado en el crecimiento de su prevalencia, ésta es la primera vez que nuestro país se enfrenta a un proceso que compromete la esperanza de vida de futuras generaciones. Según la última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2012), la prevalencia de sobrepeso y obesidad en México en adultos fue de 71.28% (que representan a 48.6 millones de personas). La prevalencia de obesidad (IMC ≥ 30 kg/m²) en este grupo fue de 32.4% y la de sobrepeso de 38.8%. La obesidad fue más prevalente en el sexo femenino (37.5%) que en el masculino (26.8%), al contrario del sobrepeso, donde el sexo masculino tuvo una prevalencia de 42.5 % y el femenino de 35.9%.

La obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (WHO, 2016). Según la NOM-008-SSA3-2010, para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad se debe de considerar el Índice de masa corporal (IMC) como criterio diagnóstico, el cual se obtiene dividiendo el peso en kilogramos, entre el cuadrado de la talla en metros. Por tanto, el IMC relaciona el peso y la talla del individuo y es un indicador de la obesidad y bajo peso.

En los pacientes obesos, es bien conocido el incremento de riesgo para padecer diabetes mellitus tipo 2 (DT2), intolerancia a la glucosa, hipertensión arterial (HTA), dislipidemia, osteoartrosis, apnea del sueño y otras comorbilidades (López F., y Herrera MF., 2008). Los obesos tienen menor calidad de vida y una menor esperanza de vida más que los individuos promedio.

La obesidad, junto con el sobrepeso, son ahora los factores de riesgo cardiovascular más prevalentes en personas con enfermedad coronaria establecida (López-Jiménez F, et al., 2004). De hecho, estudios epidemiológicos han demostrado que la obesidad se ha convertido en uno de los principales factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares, incluidas enfermedad coronaria, insuficiencia cardiaca, fibrilación auricular, arritmia ventricular y muerte súbita (Catenacci VA, et al., 2009). El incremento en el riesgo cardiovascular a través de estas entidades, está relacionado con factores metabólicos asociados a la concentración de lípidos en suero, como el incremento en la concentración de triglicéridos (TG), altos niveles de colesterol total (CT) y de LDL (lipoproteína de baja densidad) y bajos niveles de colesterol HDL (c-HDL: lipoproteína de alta densidad), etc.

Dislipidemias

Las dislipidemias son alteraciones genéticas o adquiridas que comprometen la síntesis o degradación de las lipoproteínas conduciendo a un aumento del CT plasmático, de los TG o de ambos a la vez, que suele corresponder a un aumento del colesterol-LDL, a un incremento del

colesterol VLDL (lipoproteína de muy baja densidad) y/o una disminución del c-HDL (González, A., 2011).

Nuestro país cuenta con tres encuestas nacionales (1994, 2000 y 2006) en las que se han medido la concentración de los lípidos sanguíneos en los adultos mayores de 20 años. La hipoalfalipoproteinemia es la dislipidemia más común (población total 60.5%, hombres 68.1%, mujeres 53.9%). Esta anomalía es más frecuente en el sur del país, en individuos con sobrepeso o diabetes. La prevalencia encontrada en México es una de las más altas de las informadas en encuestas con cobertura nacional; la tasa no se ha modificado en el periodo comprendido por las encuestas.

La hipercolesterolemia es la segunda anomalía más frecuente (población total 43.6%, hombres 39.3%, mujeres 47.2%). El número de casos ha aumentado, en especial, entre las mujeres mayores de 50 años. Su prevalencia es mayor en el norte y el centro del país. La prevalencia de la hipertrigliceridemia es 31.5% y es más común en los hombres, en las personas con obesidad o diabetes. La prevalencia de hipertrigliceridemia es proporcional a la edad y es mayor en los hombres (36.9% vs 26.9%). (Aguilar CA, Melgarejo Hernández MA, et al. 2016).

Clasificación de las dislipidemias

La clasificación de Fredrickson divide a las hiperlipidemias en seis grupos (I, IIa, IIb, III, IV y V) considerando tanto el tipo de lípidos como de lipoproteínas alterados. Básicamente, ésta es una clasificación fenotípica que ofrece una aproximación a la alteración metabólica de la dislipidemia (Tabla. 1). Una clasificación más práctica distribuye a las dislipidemias en primarias o secundarias, de acuerdo con su origen. Las dislipidemias primarias son de origen hereditario, ocasionadas por mutaciones específicas y se sospechan cuando existen antecedentes familiares de dislipidemia o enfermedades ateroscleróticas prematuras y cuando éstas se manifiestan a temprana edad (Beers MH, et al., 2007). Las principales dislipidemias primarias son hipercolesterolemia familiar, hiperlipemia familiar combinada, hipercolesterolemia poligénica, hipertrigliceridemia familiar e hipoalfalipoproteinemia (González A., 2011).

Tabla 1. Clasificación de Fredrickson de las dislipidemias		
Fenotipo	Lipoproteínas elevadas	Lípidos elevados
Tipo I	Quilomicrones	Triglicéridos
Tipo II a	LDL	Colesterol
Tipo II b	LDL y VLDL	Colesterol y triglicéridos
Tipo III	IDL	Colesterol y triglicéridos
Tipo IV	VLDL	Triglicéridos
Tipo V	Quilomicrones y VLDL	Triglicéridos

La forma más simple y práctica de clasificar las dislipidemias es la que refleja el tipo de alteración lipídica predominante:

-Hipercolesterolemia: predomina la elevación de colesterol.

-Hipertrigliceridemia: predomina la elevación de TG.

-DLP mixta o combinada: elevación de colesterol y TG.

-Hipoalfalipoproteinemia: disminución del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (González, A., 2011).

Las formas secundarias constituyen la mayoría de los casos de dislipidemia en adultos. La causa más frecuente es el estilo de vida sedentario, con ingesta elevada de grasas saturadas y colesterol (como las contenidas en mantecas de origen animal, la carne de cerdo y otras); otras causas son la DT2, el consumo excesivo de alcohol, la insuficiencia renal crónica, el hipotiroidismo, la cirrosis hepática primaria y algunos fármacos como las tiacidas, retinoides, antirretrovirales, estrógenos, progestágenos y glucocorticoides (Miguel, P., 2009).

El aumento de los TG en sangre, unido a bajos valores de colesterol HDL, es la dislipidemia más frecuente en la práctica médica (Millán J, et al., 2009). La hipertrigliceridemia se produce por un aumento de la formación hepática de las VLDL, sobre todo por exceso de grasa visceral o un déficit de eliminación de estas partículas (Ros E, Laguna JC., 2006).

Criterios diagnósticos

Siguiendo las recomendaciones de la NOM-037-SSA2-2012 (Tabla. 2), que son los mismos que recomiendan las guías internacionales, se considera como caso probable de dislipidemia cuando se encuentran niveles séricos de CT >200 mg/dL, LDL >100 mg/dL, TG >150 mg/dL y c-HDL <50 mg/dL en mujeres y <40 mg/dL en hombres:

Tabla 2. Puntos de cohorte para los niveles normales de parámetros clínicos asociados a dislipidemias.

Parámetro	Recomendable
Colesterol total	<200 mg/dL
LDL	<100 mg/dL
Triglicéridos	<150 mg/dL
c-HDL	>50 mg/dL

Metabolismo y absorción de los lípidos

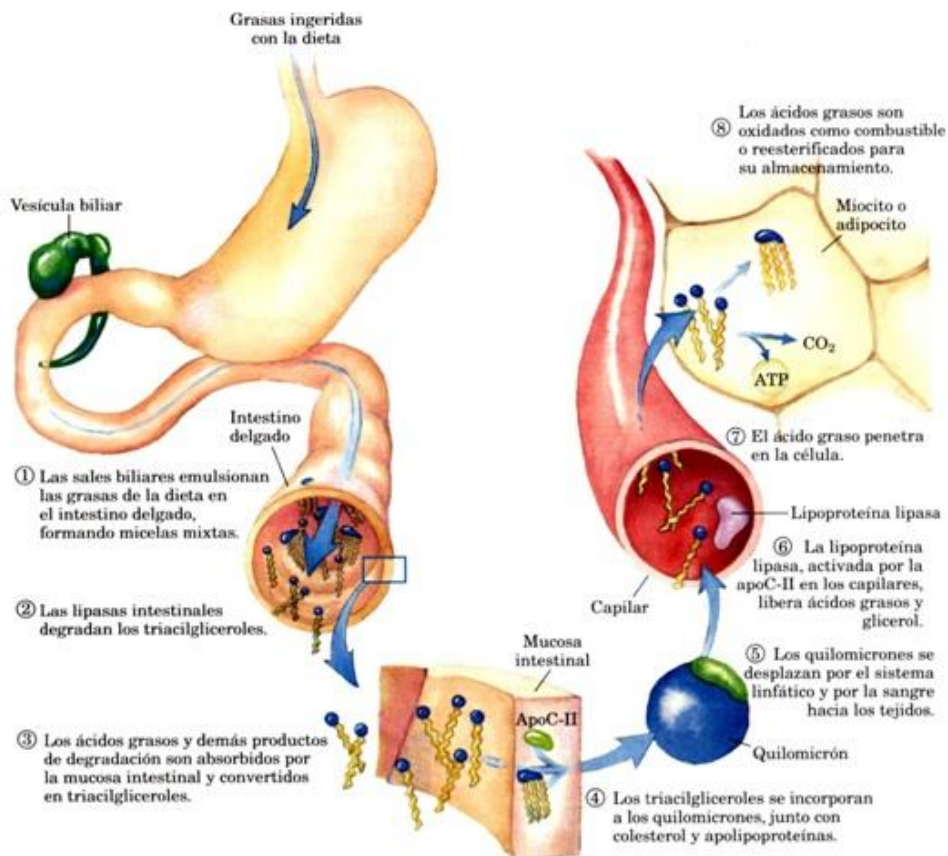


Figura 1. Procesado de los lípidos de la dieta. La digestión y absorción de los lípidos de la dieta tiene lugar en el intestino delgado y los ácidos grasos liberados de los triglicéridos son empaquetados y enviados a los tejidos muscular y adiposo. Tomado de Lehninger AL, Nelson DL, 2006 Principios de Bioquímica: 4ª. Ed, Ediciones Omega, Barcelona.

Metabolismo y absorción de los lípidos

Numerosos procesos metabólicos participan en la captación, transporte y almacenamiento de los lípidos. Después de una comida que contiene grasas, los TG son lipolizados dentro el lumen intestinal hacia ácidos grasos libres (FFA) y monoacilgliceroles (MAG) y son captados por los enterocitos por difusión pasiva o a través de transportadores específicos como CD36. El colesterol es captado por los enterocitos, por medio del transportador específico de colesterol *Niemann-Pick C1 Like 1 protein* (NPC1L1) (Altman, SW, et al., 2004). Una vez en el enterocito, el colesterol es transformado en ésteres de colesterol, mientras los FFA y los MAG son ensamblados en TG de nuevo. Finalmente, los ésteres de colesterol y los TG son empaquetados junto con los fosfolípidos y apolipoproteína apo B48 para formar quilomicrones (Pan, X., y Hussain, M., 2011).

Después del ensamblaje, los quilomicrones son secretados al sistema linfático y finalmente entran a la circulación vía el conducto torácico (Figura 1). El hígado sintetiza lipoproteínas ricas en TG llamadas VLDL, esta lipoproteína aumenta cuando de la comida derivan TG y FFA y estos llegan al hígado. El ensamblaje de las VLDL es casi idéntico a la síntesis de quilomicrones, la apoB 100 es

la proteína estructural de las VLDL y sus remanentes como las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y las LDL (Klop, B., et al., 2012). El hígado humano carece del complejo de edición del mRNA, necesario para traducir apoB48, en lugar de apoB100. Una modificación post-transcripcional, de edición del mRNA en una base, induce la detención prematura de la transcripción, por la generación de un codón de paro que produce la isoforma corta ApoB48 (Innearity, TL, et al., 1987).

Los quilomicrones y las VLDL entregan FFA al corazón, al músculo esquelético y al tejido adiposo, para el gasto energético y almacenamiento. La lipólisis adecuada de las lipoproteínas ricas en TG es necesaria para que los FFA sean liberados en la circulación. Este proceso es regulado por diversas enzimas y proteínas que intervienen como cofactores. La lipoproteína lipasa (LPL) es la enzima principal para la lipólisis en los TG en la circulación y se expresa fuertemente en los tejidos que requieren grandes cantidades de FFA como el corazón, el músculo esquelético y el tejido adiposo (Goldberg, IJ., et al 2009). La LPL funciona como estación de acoplamiento para los quilomicrones y VLDL por su adherencia al endotelio por medio de la proteína 1 de unión de alta densidad anclada a glucosil-fosfatidilinositol (GPIHBP1), la cual está presente sobre el lado luminal del endotelio (Dallinga-Thie, GM., et al., 2010). La cantidad de FFA liberado de los quilomicrones y las VLDL depende de la actividad de la LPL, la cual es estimulada por la insulina (Karpe, F., et al., 2011).

En contraste, APOC3 es un inhibidor de LPL, pero también de la lipasa hepática. Las concentraciones plasmáticas de APOC3 correlacionan positivamente con los TG plasmáticos (Ool, Em, 2008). Además, los quilomicrones compiten con las VLDL endógenos por la acción de la LPL (Brunzell, JD, et al., 2015). Los FFA liberados son ávidamente tomados por los adipocitos y re sintetizados hacia TG dentro del citoplasma, donde la proteína estimuladora de la acilación (ASP)/C3adesArg desempeña un papel importante (Baldo, et al., 1993). El receptor carroñero CD36 es el transportador de FFA mejor caracterizado, es abundante en el músculo, tejido adiposo y endotelio capilar. La insulina y las contracciones musculares incrementan la expresión de CD36, facilitando la incorporación de FFA (Abumrad, NA, et al., 2012).

El aumento de la insulina después de comer es uno de los mecanismos regulatorios más importantes para el almacenamiento de lípidos. El incremento postprandial de insulina resulta en la inhibición efectiva de la lipasa sensible a hormona (HSL), la cual es la enzima clave en la hidrólisis de lípidos intracelulares. A pesar de la absorción de FFA por los adipocitos y miocitos, una proporción de FFA permanece en el compartimiento plasmático (“derrame”), donde los FFA se unen a la albumina y son transportados al hígado (Evans, K; et al., 2002). Cuando concentración de FFA para el gasto energético es insuficiente, como en el estado de ayuno, los FFA puede ser movilizados por el tejido adiposo para la oxidación y producir energía en los tejidos que lo demanden, como el tejido muscular de corazón. La insulina es también un importante regulador de la movilización de FFA del tejido adiposo (Karpe, F., et al., 2011). Por lo tanto, la resistencia a la insulina tiene un mayor impacto sobre el metabolismo de lipoproteínas ricas en TG y FFA.

Eventualmente, los quilomicrones y las VLDL reducen su diámetro durante el proceso de lipólisis para formar quilomicrones remanentes y LDL densas, respectivamente. Los remanentes de los quilomicrones son captados por el hígado, por medio de muchas vías que incluyen apo E, lipasa hepática y el receptor de LDL (Mahley, RW., y Ji, ZS, 1999). En contraste, las LDL son principalmente tomadas por el hígado por el receptor LDL, el cual es reciclado y retransportado de regreso a la superficie de la célula. El reciclaje del receptor LDL es regulado por la proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9). Durante este proceso, es sometido a degradación lisosomal, cuando PCSK9 se une al receptor LDL, pero es reciclado de regreso a la superficie de los hepatocitos en la ausencia de PCSK9. La neutralización de PCSK9 incrementa el total de la capacidad de unión de los hepatocitos, lo que conlleva la reducción en la concentración de C-LDL (Raal, F; et al., 2012).

Por otra parte, en lo que se refiere al metabolismo de TG y LDL, los enterocitos y hepatocitos participan dentro del transporte reverso del colesterol para la síntesis de HDL. Las HDL promueven la captación de colesterol de tejidos periféricos, incluyendo la pared arterial y el regreso de colesterol al hígado.

Los enterocitos y hepatocitos sintetizan apo A-1, la cual es la proteína estructural de HDL. Las HDL nacientes adquieren colesterol libre de los tejidos periféricos. Posteriormente, el colesterol dentro de las HDL es modificado en ésteres de colesterol por la enzima asociada a HDL, la lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT) (Abumrad, NA, et al., 2012).

Dentro de la circulación, las partículas HDL también son enriquecidas con ésteres de colesterol por la acción de la proteína transferidora de ésteres de colesterol (CETP) y la proteína transferidora de fosfolípidos (PLTP). En este proceso las HDL adquieren TG de lipoproteínas ricas en TG a cambio de ésteres de colesterol como una consecuencia directa de la acción de CETP. En el hígado, la lipasa hepática hidroliza las HDL asociadas a TG, mientras que los fosfolípidos inducen la formación de partículas HDL más pequeñas, las cuales pueden contribuir de nuevo con el transporte reverso del colesterol. Por tanto, el metabolismo lipídico es altamente dinámico y depende de numerosos factores incluyendo el estado posprandial, concentración de lipoproteínas ricas en TG, niveles de HDL y su función, gasto energético, niveles de insulina y sensibilidad y función del tejido adiposo.

Alteración del metabolismo de lípidos en obesidad

La característica distintiva de la dislipidemia en la obesidad es la concentración elevada de TG tanto en ayuno como posprandial, en combinación de la preponderancia de LDL densas y pequeñas y baja concentración de HDL (Figura 2). La hipertrigliceridemia puede ser la principal causa de otras anormalidades lipídicas, ya que conlleva a un retraso en la remoción de lipoproteínas ricas en TG (Capell, WH., et al., 1996) y la formación de LDL pequeñas y densas (Hokanson, et al., 1995).

La lipólisis de las lipoproteínas ricas en TG está dañada en la obesidad por la reducción de los niveles de expresión de RNAm de LPL en el tejido adiposo (Clemente-Postigo, et al., 2011), la

reducción en la actividad LPL en el músculo esquelético y la competición de la lipólisis entre las VLDL y los quilomicrones. El incremento de la lipemia postprandial que conlleva a niveles elevados de FFA, resulta en desprendimiento de LPL de su superficie endotelial (Peterson, J. et al., 1990). La LPL puede permanecer unida a VLDL e IDL contribuyendo al agotamiento de TG. El intercambio de los TG de estos remanentes por ésteres de colesterol de HDL por CETP con la acción concertada de la lipasa hepática, permite por último la formación de LDL pequeñas y densas. En presencia de hipertrigliceridemia, el contenido de éster de colesterol en las LDL disminuye, mientras el contenido de TG de LDL incrementa por la actividad de CETP. Sin embargo, el incremento de TG contenido en las LDL es hidrolizado por la lipasa hepática, lo cual permite a la formación de LDL pequeñas y densas. El desarrollo de LDL pequeñas y densas se debe principalmente al incremento en las concentraciones de TG y no depende de la grasa corporal total (Tchernof, A., et al., 1996). Las LDL pequeñas y densas son lentamente metabolizadas, con cinco días de permanencia, lo cual potencia su aterogenicidad.

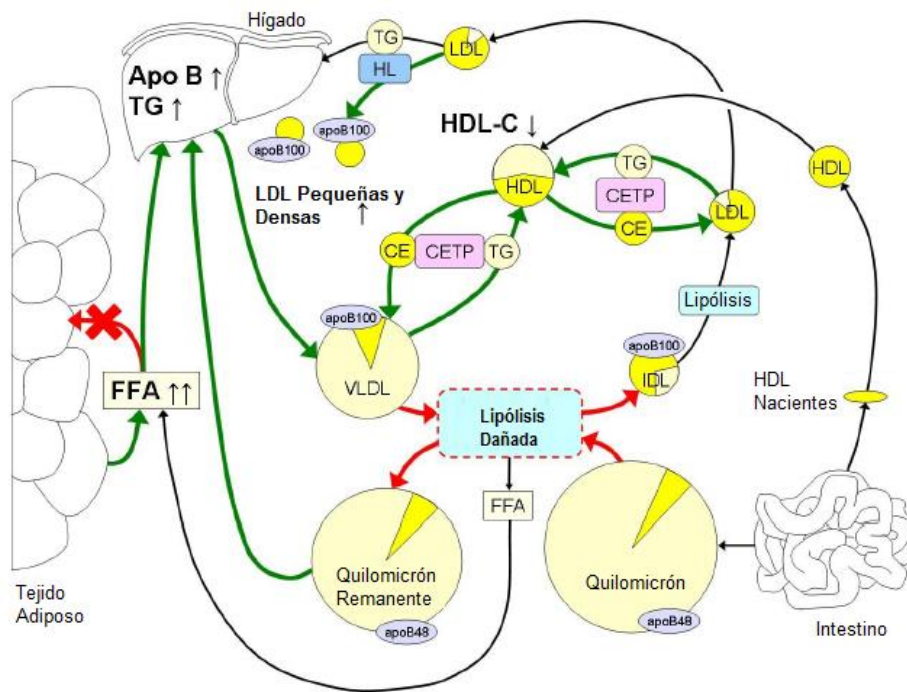


Figura 2. Alteraciones en el metabolismo de los lípidos en condiciones de obesidad. La característica distintiva de la dislipidemia en la obesidad es la hipertrigliceridemia en parte debido al incremento en el flujo de ácidos grasos libres (FFA) al hígado, lo que permite la acumulación hepática de triglicéridos. Lo anterior descrito conlleva a que las concentraciones de HDL-C disminuyan y una reducción en el contenido de TG en las LDL. El color intenso amarillo representa colesterol, mientras el color amarillo claro representa el contenido de TG dentro de las diferentes lipoproteínas. La obesidad induce el incremento en procesos metabólicos como los marcados en flechas verdes, mientras las vías que reducen su actividad debido a esta patología son marcadas con flechas rojas. Imagen tomada y modificada de: Klob, B., et al., (2013). Dyslipidemia in Obesity: Mechanisms and Potential Targets. *Nutrients*, 5, 5: 1222

Los quilomicrones remanentes y las LDL pueden migrar y ser atrapadas en el espacio subendotelial donde pueden ser captados por los monocitos/macrófagos. Las LDL pequeñas y densas tienen una afinidad incrementada por los proteoglicanos arteriales, lo que trae como consecuencia una retención subendotelial aumentada de esta lipoproteína. Sin embargo, los

remanentes subendoteliales de los quilomicrones y VLDL no necesitan ser modificados para permitir la captación por receptores carroñeros de macrófagos en contraste a las LDL nativas. Se ha descrito que las LDL pequeñas y densas son más susceptibles a la oxidación, en parte debido a la menor liberación de colesterol libre y contenido antioxidativo. El tamaño de la lipoproteína es un factor limitante para la migración a través del endotelio y las partículas LDL migran más fácilmente que los quilomicrones remanentes, pero el número de partículas que migran no se traduce necesariamente en más deposición de colesterol y los quilomicrones remanentes contienen aproximadamente 40 veces más colesterol por partícula que LDL. Alternativamente, los restos LPL, enriquecidos de quilomicrones y VLDL, pueden ser transportados a los tejidos donde la interacción con proteoglicanos y receptores de lipoproteínas pueden ser parcialmente removidos. Este proceso toma lugar en el hígado y actúa como un mecanismo antiaterogénico, pero puede tomar lugar en otros tejidos donde el colesterol no puede ser removido eficientemente, permitiendo la acumulación de colesterol y por tanto el inicio de la placa aterosclerótica (Packard, C.J., 2003).

Estudios utilizando isótopos estables, han mostrado un decremento en el catabolismo de los quilomicrones remanentes en sujetos obesos, donde la relación cintura-cadera ha destacado como un mejor predictor para la tasa catabólica fraccional. El daño en el mecanismo de eliminación de lipoproteínas remanentes está asociado a concentraciones elevadas de apo C-III en la situación de obesidad. Niveles elevados de apo C-III en la obesidad pueden ser explicados por la transcripción estimulada por glucosa. Además, se ha descrito que los niveles plasmáticos de apo C-III correlacionan con la glucosa en ayuno y postprandial, en individuos obesos. Finalmente, la expresión del receptor LDL esta reducida en la obesidad (Taskinen, MR et al., 2011; Caron, S et al., 2011 y Mamo, J.C., et al., 2001).

Alteración del metabolismo de lípidos en los individuos con peso normal

El exceso de grasa corporal no siempre está asociado con anormalidades del IMC, el incremento de la acumulación de grasa ectópica, particularmente en el hígado, pueden ser un factor de riesgo directamente asociado con la progresión de la enfermedad.

Esto está apoyado por las cantidades menores de grasa intrahepática que se ha encontrado en individuos obesos metabólicamente sanos, comparados con aquellos obesos con perfiles metabólicos adversos (Thomas EL, et al, 2012). Adicionalmente, en una cohorte de 8,090 individuos japoneses sin diabetes, se encontró un incremento en el factor de riesgo en comparación con los controles sanos con peso normal (Heianza Y, et al 2014). Cuando compararon con obesos, los individuos con peso normal pero que padecen dislipidemia muestran un perfil metabólico similar, en ambos se aprecian anormalidades en los lípidos, citocinas inflamatorias y resistencia a la insulina (Kwon B.J., et al., 2013 y Giannini S, et al 2012), lo que apoyaría la noción que el incremento en la adiposidad por sí solo no puede explicar completamente el perfil metabólico dañado y la mortalidad incrementada.

Al igual que con los individuos con obesidad y dislipidemia, en muchos de los estudios en individuos con dislipidemia sin obesidad se identifica una dislipidemia caracterizada por niveles

incrementados de CT, TG y LDL, mientras que los niveles de HDL se encuentran por debajo de recomendado (Katsuki A, et al; 2006 y Hyun YJ et al., 2008).


La inducción de citocinas inflamatorias y el estrés oxidativo ha sido ligada a la propagación de un metabolismo disfuncional en individuos con peso normal. También se han encontrado cambios en los niveles de adiponectinas, IL6 y TNFalfa en mujeres no obesas pero que presentan dislipidemias (Katsuki A, et al; 2006).

Los pacientes con peso normal pero que presentan dislipidemias y los pacientes con hígado graso sin obesidad, comparten un perfil metabólico similar. Además, las lesiones hepáticas se desarrollan independientemente de la obesidad y el grado de dislipidemia parece comparable (Højland Ipsen D, Tveden-Nyborg P, Lykkesfeldt J., 2016).

Características de los obesos metabólicamente sanos y los obesos no metabólicamente sanos

En la última década se han descrito dos fenotipos de obesos, los metabólicamente sanos y los no metabólicamente sanos, los cuales se asocian a diferentes comorbilidades, aunque la principal característica distintiva entre estos fenotipos es la mayor presencia y la localización de tejido adiposo.

La grasa visceral excesiva, característica distintiva de los obesos no metabólicamente sanos, predispone al “síndrome metabólico” asociado con resistencia a la insulina, diabetes, enfermedad cardiovascular y por supuesto dislipidemia (Figura 3). El otro escenario ocurre en algunos individuos con un estado metabólico sano, asociado con una preponderancia de grasa subcutánea, sensibilidad normal a la insulina, ausencia de diabetes y riesgo reducido de enfermedades cardiovasculares (Wildman RP, et al 2008). Es posible que los depósitos subcutáneos, provean un “albergue” seguro para los lípidos potencialmente tóxicos en los individuos obesos, lo cual mejoraría la salud metabólica y cardiovascular (Unger, RH y Sherer, PE; 2010).



Obesos metabólicamente sanos	Obesos no metabólicamente sanos
Grasa subcutánea > Grasa visceral. Masa muscular incrementada Hiperinsulinemia Sensibilidad normal a la insulina Concentración normal de azúcar sanguínea. Riesgo cardiovascular medio	Grasa visceral > Grasa subcutánea Pérdida de masa muscular (sarcopenia) Hiperinsulinemia Diabetes Dislipidemia Inflamación Alto riesgo cardiovascular Alto riesgo de cáncer

Figura 3. Características de los individuos obesos, metabólicamente sanos y los individuos obesos con alteraciones metabólicas. Imagen tomada de: Ahima R y Lazar MA. (2013) Physiology. The health risk of obesity--better metrics imperative. Science. Aug 23;341(6148):857.

Genética de la dislipidemia

Las dislipidemias comprenden un grupo de desórdenes heterogéneos, donde dentro de una población dada, una pequeña proporción padece dislipidemia por mutaciones en un solo gen. Muchos de estos defectos han sido identificados y su descubrimiento ha permitido mejorar el conocimiento del metabolismo lipídico.

Las formas más comunes de dislipidemias son de origen multifactorial, donde la interacción entre los genes y el ambiente contribuyen a su patogénesis (Khor y Goh, 2010). Los niveles de lípidos en el plasma, presentan una heredabilidad que varía del 40-60%. Los GWAS (estudios de asociación del genoma completo) han identificado más de 157 regiones génicas asociadas a dislipidemias. Sin embargo, las variantes detectadas por estudios de asociación explican sólo una modesta proporción de la heredabilidad, es decir, la fracción del total de la varianza en los fenotipos lipídicos plasmáticos (Tada H, et al., 2014).

Las dislipidemias humanas, causadas por el efecto acumulativo de variantes comunes o polimorfismos de muchos genes, son entendidas como la consecuencia de un estado de susceptibilidad genética que es debido a la herencia de múltiples alelos de susceptibilidad (marcados por un polimorfismo de un solo nucleótido o SNP).

A menudo, la susceptibilidad genética es insuficiente para forzar la expresión de los fenotipos y se requieren factores adicionales como la dieta, peso alto al nacer o la inactividad física para que un individuo genéticamente susceptible exprese un fenotipo (Kuivenhoven JA y Hegele RA, 2014).

Estudios de asociación del genoma completo (GWAS)

Estos estudios se basan en el análisis genético de grandes tamaños de muestra que comprenden casos y controles para la genotipificación de miles de SNP distribuidos por todo el genoma (libre de hipótesis) por medio de microarreglos de DNA. Los resultados del proyecto HapMap sobre las frecuencias genotípicas y estructura haplotípica han permitido la selección de los “tag” SNPs (SNPs etiqueta) que permiten capturar la mayor parte de la variabilidad genética común existente en el genoma humano (WTCCC Collaborators, 2007).

La lista más actualizada de loci asociados con niveles plasmáticos de lípidos fue reportada por Willey et al., la cual añadió 62 loci a los 95 loci reportados en 2010, dando un total de 157 loci (Global Lipids Genetics Consortium, 2013). El número total de sujetos en este metanálisis fue de 190,000 individuos pertenecientes a diferentes grupos étnicos. Interesantemente, 65 de los 157 loci que fueron descubiertos, mostraron asociación significativa con los niveles de lípidos, como por ejemplo, *CETP*, *TRIB1*, *FADS1*, *FADS2*, *FADS3* y *APOA1*. Por otro lado, 92 loci mostraron asociación exclusiva con un solo tipo de lípido, (Kuivenhoven JA y Hegele RA, 2014).

A pesar del poder estadístico y el gran número de loci, el efecto del tamaño de los nuevos loci es muy modesto: los nuevos loci añadidos a los GWAS sólo explican alrededor del 2% de la variación en las lipoproteínas plasmáticas, lo cual incrementa a un 15%, sumando los loci previamente reportados (Kuivenhoven JA y Hegele RA, 2014).

Estas observaciones han llevado a la pregunta general de cómo explicar la heredabilidad faltante o heredabilidad pérdida (“*missing heritability*” en inglés) (Manolio et al., 2009). Es posible que este fenómeno se deba a: la presencia variantes genéticas raras, la utilización de modelos de un solo efecto (marcador) ignorando el resto del genoma, efectos de epistasis y complejidad de rutas biológicas, variaciones estructurales en el genoma como las variaciones en el número de copias (CNVs del inglés “*copy number variation*”), falta de información familiar, datos colectados inadecuadamente (genealogías faltantes o definición de fenotipo no sistemática) y epigenética o factores de regulación de la secuencia del genoma (González-Recio, O., et al., 2012).

Epigenética de las enfermedades metabólicas

Ante la evidencia del papel que juegan los factores ambientales en el desarrollo de estas patologías, en los últimos años se está investigando la importancia de los procesos epigenéticos. La epigenética se define como aquellas modificaciones heredables que influyen en la expresión de los genes pero que no dependen directamente de la secuencia del DNA (Cordero P., et al., 2010). La epigenética es el mecanismo de interacción entre los factores genéticos y ambientales, como la alimentación en las diferentes etapas de vida del individuo, actividad física, contaminantes, etc. Su naturaleza reversible abre la puerta no sólo para comprender, sino también para tratar

enfermedades de origen poligénico y multifactorial, como son la obesidad, la DT2, síndrome metabólico e hipertensión (Benton MC et al., 2015).

Es así como la epigenética, puede explicar en parte, de la “heredabilidad perdida” de las enfermedades complejas y porque los efectos en la regulación, proveen un papel funcional para algunos de los loci intergénicos asociados con la enfermedad. Se ha señalado que los mecanismos epigenéticos son uno de los mediadores principales de la relación gen-ambiente, por ejemplo la dieta es un factor que puede modular la metilación del DNA y se ha reportado que diversos suplementos, como el ácido fólico, los polifenoles o la curcumina, pueden modificar el estado de metilación de varios genes relacionados a la salud metabólica, además de que también se ha reportado que las modificaciones en estilos de vida, sobre todo a través de ejercicio y reducción de peso, pueden modificar los patrones de metilación de DNA en tejidos muscular y adiposo.

Por otra parte, se ha asociado la exposición a estados adversos en etapas tempranas de la vida o vía intrauterina, con la alteración en la metilación de DNA y este fenómeno se ha propuesto como una explicación a la memoria metabólica. En un estudio donde se incluyó una cohorte de holandeses que estuvieron expuestos en etapa uterina a la hambruna del invierno del final de la segunda guerra mundial, se logró documentar un incremento en la incidencia de diabetes, obesidad y de la relación de LDL/HDL, comparados con sus hermanos que no estuvieron expuestos. Aún más, se ha demostrado que estos individuos presentan alteraciones en la metilación de DNA de genes como *IGFR*, *IL10*, *LEP*, *ABCA1*, *GNASAS* y *MEG3* (Tobi EW, et al., 2009). Por otra parte, estudios en roedores han mostrado que la restricción nutricional materna puede inducir, en la descendencia e incluso en la segunda generación, alteraciones en la metilación del DNA de las regiones promotoras de varios genes claves en la regulación metabólica, tales como *Ppar- α* y *Lxr* (Burdge et al, 2007; van Straten et al., 2010), por otra parte, dieta rica en grasas ha mostrado alteraciones en metilación de *Dat*, *Mor* y *Penk* (Vucetic et al., 2010).

Mecanismos epigenéticos

Los principales mecanismos epigenéticos son la metilación del DNA, modificaciones covalentes postraduccionales de proteínas histonas y el silenciamiento de genes mediado por RNA. Diferentes tipos de modificaciones epigenéticas están estrechamente vinculadas y actúan a menudo en una forma de auto refuerzo en la regulación de diferentes procesos celulares (Vaissière T. et al., 2008).

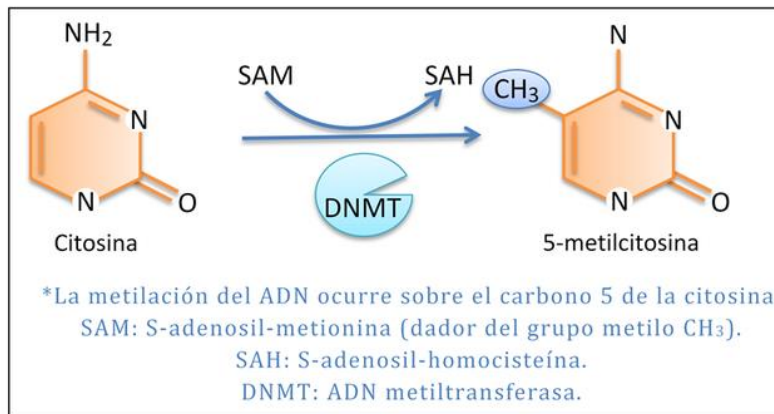


Figura 4. Reacción en la que se modifica el DNA por metilación. Las citosinas son convertidas a 5-metilcitosina (5mC) por la DNA metiltransferasa (DNMT), mediante la transferencia de un grupo metilo de la S-adenosil-metionina (SAM), que se convertirá a S-adenosil-homocisteína (SAH). Liyanage VR, et al., (2014).

La metilación del DNA

La metilación del DNA es una modificación epigenética que ejerce su acción en procesos biológicos tales como la impronta génica, reprogramación y estabilidad, diferenciación celular, inactivación del cromosoma X (XCI), silenciamiento de los transposones, corte y empalme del RNA y reparación del DNA (Ndlovu, M.N.; Denis, H., et al 2011; Laurent, L-, et al 2010 y Guo, J.U., et al., 2011). En eucariontes, la metilación ocurre en el quinto carbono de la citosina (considerada por muchos autores como la “Quinta Base”) del dinucleótido CpG. La familia de enzimas conocida como DNA metiltransferasas (DNMTs) son las responsables de la adición covalente del grupo metilo, de las cuales el grupo donador del metilo generalmente es la S-adenosil-metionina (SAM) (figura 4). La DNMT1 se encuentra tanto en células diferenciadas como en células sin diferenciar y contribuye al mantenimiento de la metilación del DNA durante la replicación celular, cuando ambas hebras de DNA son separadas y copiadas. La DNMT1 se unen preferencialmente al DNA hemimetilado y copia la metilación del DNA de la hebra parental a la hebra recién replicada (Auclair, G.; Weber, M., 2012 y Dahl, C., et al., 2011). Es por esto que la marcas epigenéticas son heredables, el modelo clásico de metilación del DNA, establece a la DNMT1 como la enzima que transfiere los patrones epigenéticos previamente establecidos de la hebra parental hacia las hebras hijas, por tanto, la herencia ocurre y subsecuentemente se mantiene (Ehrlich, M.; Lacey, M, et al., 2013) y cuando la enzima DNMT1 está ausente en el núcleo celular, ocurre la llamada “desmetilación pasiva” (Kohli, R.M.; Zhang, Y., 2013). Las DNMTs de *novo* son la DNMT3A, DNMT3B y el cofactor DNMT3L (siglas del inglés DNA *methyltransferase-like protein*), las cuales metilan el DNA durante la embriogénesis y en las células diferenciadas y están altamente expresadas en las células troncales embrionarias. DNMT3B desempeña un papel esencial para la embriogénesis temprana, mientras DNMT3A es fundamental en la embriogénesis tardía y se encuentra en las células diferenciadas. La enzima DNMT3L carece de dominio catalítico y se propone que su participación es como cofactor, permitiendo la metilación *de novo* por DNMT3A y DNMT3B (Auclair, G.; Weber, M., 2012). Las enzimas DNMT3A/B se encuentran altamente expresadas en las células somáticas

mientras que el cofactor DNMT3L no. Esto sugiere que DNMT3L dirige la metilación *de novo*, por la activación de DNMT3A/B durante la embriogénesis, sólo en este periodo DNMT3L se expresa y entonces DNMT3B estimula a DNMT3A. Una vez estimulada, las enzimas DNMT3A/B se anclan así mismas a los nucleosomas con metilación de DNA, que se dice promueve la estabilidad de la proteína (Jones, P.A; Liang, G., et al., 2009 y Sharma, S.; et al., 2011).

La hipometilación de los nucleosomas no permite el anclaje de DNMT3A/B, este complejo al estar libre es rápidamente degradado. Se dice que este proceso protege al genoma de la metilación *de novo* aleatoria. La unión selectiva del DNMT3A/B sugeriría un rol regulatorio en el mantenimiento de la metilación del DNA (Jones, P.A; Liang, G., et al., 2009). La DNMT1 copia los patrones de metilación en el rápidamente replicado DNA hemi-metilado. Si está incompleto, el nucleosoma al que se ancló el complejo DNMT3A/B será “corregido”, de esta forma propagando el estado de metilación heredable (Sharma, S., et al., 2011).

Se calcula que hay aproximadamente 28 millones de dinucleótidos CpG en el genoma de los mamíferos, aunque no se distribuyen uniformemente. Típicamente, el genoma carece de dinucleótidos CpG excepto por las regiones con la frecuencia esperada de sitios llamados “islas CpG” (CGIs) (Stirzaker C, et al., 2014, Gardiner- Garden y Frommer, M 1987).

Las CGIs son secuencias cortas, de 500 a 2000 pb, intercaladas en el DNA genómico enriquecido por el dinucleótido 5'-CpG-3', el cual es el sustrato para la metilación por las DNA metiltransferasas, estos dinucleótidos se caracterizan por un alto contenido de G+C y CpG (Deaton AM y Bird A, 2011; Feeltus F et al., 2006). Las islas CpG cubren aproximadamente el 0.7% del genoma humano, pero contienen un 7% de los dinucleótidos CpG, así mientras que aproximadamente el 60 al 90% de todas las secuencias CpG dispersas en el genoma humano están metiladas, las islas CpG están generalmente no metiladas en el tejido normal. Aproximadamente el 70% de los promotores de los genes están asociados con una CGI, lo cual evidencia que las CGIs actúan como promotores y por lo tanto son estructuras reguladoras importantes donde la metilación del DNA juega un papel regulador. La mayoría, sino es que todas las CGIs son sitios de iniciación de la transcripción (Deaton AM y Bird A, 2011).

Papel de la metilación del DNA en los procesos biológicos

Entre los ejemplos de estos procesos regulados por metilación de DNA se incluye la expresión génica (activación transcripcional y represión), mecanismos de maduración del RNA, organización del genoma, impronta e inactivación del cromosoma X (XCI).

Los mecanismos por los que la metilación de DNA regula la expresión génica son: 1) impedimento directo de la activación transcripcional; (2) reclutamiento de complejos proteicos represores y (3) comunicación cruzada con histonas modificadas postraduccionalmente. Estos mecanismos obtienen mayor complejidad porque involucran el incremento de una mayor compactación del nucleosoma, la prevención de la unión de factores de transcripción, reclutamiento de proteínas con unión a grupos metilo (MBPs), y prevención de la unión de complejos remodeladores de la cromatina.

Represión transcripcional directa por 5mC

La metilación del DNA (5mC) en las regiones promotores de los genes pueden resultar en represión transcripcional por medio de la prevención de la unión de factores de transcripción, debido a impedimento estérico y una incrementada compactación de la cromatina. Muchos sitios de unión de factores de transcripción albergan CpGs dentro de ellos (por ejemplo, CREB/ATF, E2F, c-MYC and NF- κ B) y la metilación de estos sitios CpGs oculta sus sitios de unión (Baron, B., 2012).

Se ha demostrado que existe una correlación entre la metilación del DNA y la dinámica del nucleosoma. La metilación del DNA influye en muchos aspectos de la dinámica del nucleosoma, incluyendo el posicionamiento del nucleosoma, estabilidad y estructura (Collings, C.K, et al., 2013). El DNA nucleosomal está metilado en una periodicidad de 10 bp. La metilación en el DNA nucleosomal es más alta que en el DNA que lo rodea, por lo tanto, el posicionamiento del nucleosoma influye en la metilación de las secuencias del DNA flanqueante (Chodavarapu, R.K., et al 2010). En el caso de la estructura del nucleosoma, en incremento en la metilación permite una mayor compactación del DNA que rodea el nucleosoma (Lee, J.Y.; Lee, T.H., 2012). La metilación del DNA permite compactar y volver más rígido al nucleosoma, lo que conlleva a volver la cromatina más compacta (Choy, J.S., et al., 2010).

Por estas razones, el tratamiento con agentes desmetiladores del DNA o inhibidores de la metilación tales como 5-aza-2'-deoxicitidina (Decitabina), 5-azacitidina y Zebularina da como resultado una cromatina más abierta, lo cual permite una mayor actividad transcripcional (Yang, X., et al., 2012).

Reclutamiento de complejos de proteínas

El reclutamiento de complejos de proteínas de unión al DNA, incluyendo MBPs (proteína de unión a DNA metilado), complejos co-represores y factores remodeladores de la cromatina, es un mecanismo bien conocido para la represión génica mediada por metilación del DNA. Una vez reclutadas a la cromatina, estos complejos proteicos son capaces de mediar la represión génica independiente o en concierto con histonas modificadas postraduccionalmente. El reclutamiento de las MBPs, tales como MeCP2 y otras proteínas, las cuales contienen MBD (dominio de unión a metil-CpG), es un mecanismo bien establecido de la represión transcripcional o silenciamiento por metilación del DNA (Zachariah, R.M.; Rastegar, M, 2012). Las MBPs pueden reclutar complejos co-represores, los cuales contienen proteínas represoras tales como HDACs y SIN3 (Hashimoto, H et al, 2012).

Comunicación cruzada con histonas modificadas postraduccionalmente

La comunicación cruzada entre la metilación del DNA y las histonas modificadas por procesos postraducionales puede ocurrir de dos maneras. Primero, la metilación del DNA establecida por las DNMTs permite el reclutamiento de MBPs y otras proteínas regulatorias transcripcionales. Estas proteínas pueden reclutar a los “escritores” de histonas modificadas postraduccionalmente seguido por el reclutamiento de “los lectores” y/o “borradores”. Después, las histonas modificadas postraduccionalmente pueden reclutar escritores metiladores (tales como la DNMT3) para establecer la metilación del DNA (Liyanage, V.R.B., et al 2012).

Metilación de DNA y ambiente

Un hecho de extraordinaria importancia en relación con las marcas epigenéticas es que, al contrario que los polimorfismos genéticos, no son permanentes. Así, diversos factores ambientales, como el estrés, la dieta o el ejercicio físico, y otros relacionados con la obesidad, como la hiperglucemia, el estrés oxidativo, la hipoxia o la inflamación, modulan los cambios epigenéticos y contribuyen a su plasticidad a lo largo de la vida. Finalmente, otros factores originados por la actividad humana, como algunos metales pesados, pesticidas y químicos ambientales, también parecen actuar a través de procesos epigenéticos (Berger, NA, 2014).

Metilación de DNA y obesidad

Estudios recientes muestran que las dietas ricas en grasa y azúcar, así como la obesidad, se asocian con cambios en los patrones de metilación del DNA que afecta a la región promotora de distintos genes implicados en la homeostasis energética en hígado, como la ácido graso sintasa (FASN) y NDUFB618 (Lomba A, et al., 2010).

No sólo la ganancia de peso puede estar influenciada por factores epigenéticos, también la pérdida de peso y la restricción energética implican cambios en las marcas epigenéticas, como demostraron Bouchard y colaboradores (Bouchard L, et al., 2010).

En el caso de la obesidad, se han descrito patrones específicos epigenéticos y se sabe que estos patrones pueden establecerse durante etapas tempranas del desarrollo y programar el riesgo de la obesidad y sus comorbilidades durante la vida adulta. Además, estudios recientes muestran que los perfiles de metilación del DNA son remodelados después de tratamiento de pérdida de peso (Cordero P, Li J, Oben JA., 2015).

Antecedentes

Diversos procedimientos han demostrado que inducir una pérdida significativa de peso a largo plazo tiene un gran impacto, tanto en el control de las comorbilidades como en la mejoría de la calidad de vida y se ha documentado que la pérdida de entre 5 y 10% del peso corporal, resulta en mejoría importante tanto del riesgo de muerte como de las comorbilidades (López, Federico y Herrera, Miguel F. 2008). La cirugía bariátrica ha mostrado ser el método más efectivo

para el tratamiento de la obesidad extrema. El impacto de la cirugía bariátrica sobre las comorbilidades ha sido ampliamente estudiado [López, Federico y Herrera, Miguel F. (2008)]. Estrictamente, el término “cirugía bariátrica” es aplicado a todos los procedimientos quirúrgicos cuyo blanco sea reducir el exceso de peso (Fried, M. *et al.*, 2014). Se ha reportado que las anormalidades en los lípidos sanguíneos también pueden mejorar por efecto de la cirugía bariátrica. La dislipidemia, en general mejora en el 85% de los individuos intervenidos quirúrgicamente para reducir su IMC y resultados de mejoría sobre el 95% se han observado con las técnicas malabsortivas. Con estos procedimientos se ha reportado que existe una disminución del CT, TG, colesterol LDL y un aumento del colesterol HDL (Papapietro, K., 2012).

En un estudio donde se evaluó la metilación del DNA en el músculo esquelético proveniente de pacientes obesos antes y después de la cirugía bariátrica, la obesidad se encontró asociada con la expresión alterada de un subconjunto de genes relacionados a procesos metabólicos y función mitocondrial. Después de la pérdida de peso, la expresión de la mayoría de estos genes se normalizaron y alcanzaron niveles observados en individuos sanos con peso normal. Usando secuenciación por bisulfito, demostraron que la metilación del promotor de los genes *PGC-1a* y *PDK4* alterada, es restaurada a niveles normales después de la cirugía bariátrica (Barres R, et al., 2013).

En otro estudio, realizado por Benton y colaboradores en el 2015, analizaron la metilación del DNA en tejido adiposo obtenido de mujeres obesas antes y después de la cirugía bariátrica y pérdida significativa de peso. En total, se analizaron 485,577 sitios CpG, antes y después de la pérdida de peso, en tejido adiposo subcutáneo y el tejido adiposo visceral. Un análisis pareado reveló diferencias significativas en la metilación de DNA, en el tejido visceral y tejido adiposo subcutáneo. La mayoría de los CpGs son hipermetilados antes de la pérdida de peso y se observa un incremento en la metilación en la región 3'UTR y los cuerpos de los genes asociados a las regiones de los promotores. La diferenciación de la metilación es encontrada dentro de genes asociados con la obesidad, regulación epigenética y desarrollo, como son *CETP*, *FOXP2*, *HDAC4*, *DNMT3B*, *KCNQ1* y *HOX*. Por otra parte, se identificó una correlación entre los cambios en la metilación y los niveles séricos de glucosa en ayuno, estos cambios ocurrieron en los genes *HDAC4*, *SLC37A3* y *DENND1C* en el tejido adiposo subcutáneo (Benton MC., et al., 2015).

Se ha comenzado evaluar la relación que existe entre el estado de metilación de algunos genes con los perfiles lipídicos, como es el caso de *ABCA1*, cuyo estado de metilación correlaciona con las concentraciones séricas de HDL (Guay SP et al., 2012). Sin embargo, aunque se ha evaluado la participación de la metilación del DNA en el riesgo a desarrollar dislipidemias, la información aún es escasa, por lo que es necesario conocer más profundamente la participación de la regulación epigenética de una mayor cantidad de genes en el desarrollo de las dislipidemias. Más aún, aunque se ha reportado que las anormalidades en los lípidos sanguíneos pueden mejorar por efecto de la cirugía bariátrica (figura 5), no existe información sobre la relación entre la remodelación de la metilación de DNA por la pérdida de peso y la mejoría clínica de los pacientes después de cirugía bariátrica. En el presente proyecto se analizarán los patrones de metilación que correlacionan con los niveles séricos de lípidos en pacientes obesos que son sometidos a cirugía

bariátrica, para identificar las marcas epigenéticas que puedan ser utilizadas como predictores tempranos de riesgo metabólico, y desarrollar tratamientos farmacológicos o relacionados con la dieta y el estilo de vida que sean capaces de retrasar dichos cambios epigenéticos e incluso de revertirlos.

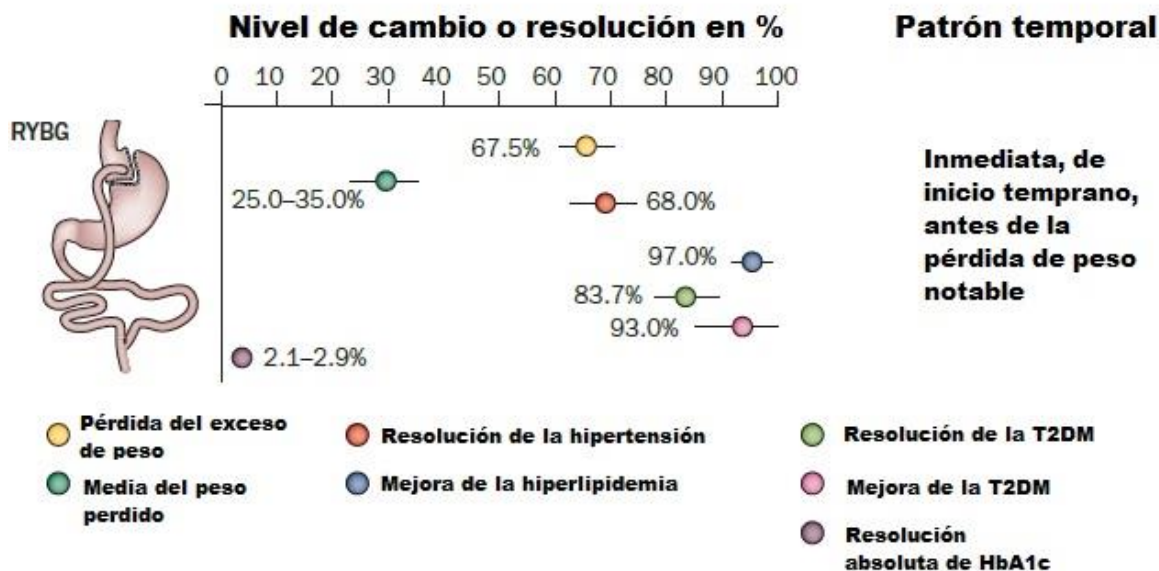


Figura 5. Principales efectos de la cirugía bariátrica en la pérdida de peso y en algunas de las comorbilidades. Imagen tomada y modificada de Fried, M. *et al.* (2014) Interdisciplinary European guidelines on metabolic and bariatric surgery. *Obes. Surg.* 24:3.

Justificación

Los cambios en el estilo de vida, caracterizados por un aumento en el consumo de hidratos de carbono simples, grasas y una reducción de la actividad física, han dado como resultado un incremento en los índices de enfermedades metabólicas. Aunado a esto, existen factores genéticos que incrementan el riesgo de obesidad y sus comorbilidades, como las dislipidemias, aunque hasta el momento, estos factores sólo explican una proporción muy baja de la variabilidad clínica que presentan los pacientes. Recientemente, se ha descrito a los factores epigenéticos como un punto de interacción entre los factores ambientales y genéticos; de hecho se ha demostrado una correlación entre las marcas epigenéticas, sobre todo metilación de DNA, y el estilo de vida. Además, actualmente se ha descrito que estas marcas epigenéticas pueden modificarse mediante intervenciones que mejoran la salud metabólica, sobre todo mediante la reducción de peso. Por otra parte, la cirugía bariátrica ha mostrado ser una solución en la mejoría de salud de los individuos con obesidad mórbida donde otras estrategias han fracasado, diversos reportes han demostrado que hay mejoría de diversos parámetros clínicos, entre ellos los niveles de lípidos séricos, aunque aún no se conoce el papel que juega la remodelación epigenética en este

fenómeno, por lo que es importante conocer los perfiles de metilación de un grupo de los individuos antes y después de la cirugía y la correlación que tiene con la disminución de peso y los cambios que ocurren en los distintos parámetros bioquímicos. Esto, sin duda, permitirá contribuir al conocimiento de los perfiles de metilación de los genes involucrados en las diversas enfermedades metabólicas, sobre todo aquellas relacionadas a la dislipidemia, lo que llevará a una mejor comprensión de la etiopatogenia de estas enfermedades metabólicas y permitirá mejorar los planes de intervención en estos pacientes.

Objetivo general

Identificar los genes que sufren remodelación del estado de metilación relacionado con dislipidemias en pacientes con pérdida de peso por cirugía bariátrica.

Objetivos particulares

- Determinar si los perfiles de lípidos mejoran después de la cirugía bariátrica en pacientes obesos.
- Identificar los patrones de metilación relacionados con dislipidemia en pacientes obesos.
- Identificar si existe correlación entre la remodelación de los patrones de metilación y la mejoría de perfiles de lípidos en pacientes obesos, después de 6 meses de cirugía bariátrica.
- Identificar los genes que remodelan sus patrones de metilación y conocer las vías implicadas en la dislipidemia en pacientes obesos.

Metodología

Estrategia experimental

Se trata de un estudio prospectivo, comparativo, no randomizado realizado en pacientes sometidos a cirugía bariátrica para manejo de obesidad.

En este estudio se incluyeron 24 pacientes del sexo femenino, mayores de 18 años, seleccionadas para cirugía bariátrica por obesidad mórbida ($IMC \geq 40 \text{ kg/m}^2$) o por obesidad tipo II ($IMC \geq 35 \text{ kg/m}^2$) asociada a comorbilidades. Los pacientes fueron seleccionados después de 6 meses de intervención en su estilo de vida, en la Clínica Integral de Cirugía y Enfermedades Metabólicas del Hospital General de Tláhuac de la Secretaría de Salud de la Ciudad de México.

Los pacientes fueron divididos en diabéticos y no diabéticos, pareados por edad e IMC al momento de la cirugía. De cada paciente se tomaron dos biopsias de tejido adiposo subcutáneo periumbilical, una durante la cirugía y otra 6 meses después. Se tomó una muestra de 5 mL de sangre para conocer los parámetros bioquímicos de los pacientes. Para cada uno de los parámetros bioquímicos de dislipidemias se obtuvieron los valores séricos, el día de la cirugía y 6 meses después y se correlacionaron con el cambio en el valor de metilación del genoma completo (microarreglos 450k). La correlación se realizó a través de prueba de Pearson, se obtuvo una lista de genes con sitios CpG que tuvieron correlaciones de Pearson con $r \geq +0.6$; $r \leq -0.6$ y $P < 0.050$.

Características de la población de estudio:

Criterios de inclusión

Pacientes femeninas, mexicanas mayores de 18 años con obesidad tipo II y III con y sin diagnóstico clínico de diabetes, que cuenten con historia clínica completa que incluya datos demográficos antropométricos y clínicos, así como los análisis de laboratorio.

Aspectos Éticos

Este proyecto fue aprobado por los Comités de Investigación y Ética del INMEGEN y de la Secretaría de Salud de la Ciudad de México y todos los participantes firmaron un consentimiento informado.

Definiciones operacionales:

- 1) Obesidad tipo II y III (índice de masa corporal, IMC ≥ 35 Kg/m²),
- 2) Diabéticos (glucosa en ayuno >125 mg/dl) y
- 3) No diabéticos (glucosa en ayuno <100 mg/dl)

Obtención de muestras

De los 24 individuos se obtuvieron dos tipos de muestras antes y 6 meses después de la cirugía:

- 1) 20 gr de tejido adiposo subcutáneo, que se extrajo durante el procedimiento quirúrgico. Una porción del tejido fue colocado inmediatamente en una solución de RNeasy (Ambion) para preservar la integridad de los ácidos nucleicos e inmediatamente fueron congelados y almacenados a -70°C .
- 2) 25 mL de sangre periférica utilizando diferentes anticoagulantes para los estudios bioquímicos de laboratorio.

Estudios bioquímicos

Con las muestras obtenidas se construyó una “seroteca” para estudios posteriores. Se les realizó 12 determinaciones bioquímicas en suero (glucosa, hemoglobina glucosilada [HbA1c], insulina, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol total, TG, colesterol HDL, colesterol LDL, apolipoproteína A1, apolipoproteína B). Utilizando el analizador Alere Cholestech LDX®

Extracción de DNA

El DNA fue extraído de aproximadamente 100 mg de tejido adiposo subcutáneo. La extracción de DNA del tejido adiposo se realizó utilizando el QIAamp® DNA Mini Kit, siguiendo el protocolo establecido por el proveedor (QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook 02/2015). La cuantificación del DNA se realizó en un espectrofotómetro y la integridad se verificó por electroforesis en geles de agarosa al 1%.

Microarreglos de metilación

La conversión de bisulfito del DNA genómico se realizó con el kit EZ DNA methylation (Zymo Research) siguiendo las recomendaciones para el ensayo Illumina Infinium. Las muestras de DNA convertida con bisulfito se colocaron en placas de 96 columnas para la desulfonación y purificación. El DNA genómico convertido con bisulfito fue analizado usando el microarreglo Infinium HumanMethylation450 BeadChip Kit de Illumina. El array cubre más de 480,000 sitios CpG cubriendo 99% de los genes RefSeq humanos a una resolución de un nucleótido. El procesamiento de los microarreglos y el análisis de datos se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante. La adquisición y procesamiento de imágenes se realizó en un scanner Illumina iScan. Los datos se obtuvieron usando el software Bead Studio v3.0. Los valores de metilación para cada locus CpG se expresó como un valor beta (β), representando una continua medición de 0 (completamente desmetilado) a 1 (completamente metilado).

Análisis de datos y enriquecimiento de vías

Todos los análisis de datos de los microarreglos fueron realizados usando el programa R versión 3.2.2. Para el análisis de enriquecimiento se utilizó el servidor *online* DAVID Bioinformatics Resources 6.7. Después de haber identificado los grupos de genes que sufrieron cambios en sus patrones de metilación que estuvieron asociados a los parámetros clínicos, se analizó el comportamiento global de los datos, se exportaron los identificadores de los genes pertenecientes de los diferentes grupos encontrados, los grupos de genes a partir de cada parámetro clínico. Mediante términos de la ontología GO (*Gene Ontology*) se exploró si los genes de un grupo están enriquecidos en términos GO correspondientes a ciertos procesos biológicos, en relación a los genes que sufrieron cambio en los patrones de metilación respecto a todo el genoma.

Resultados

Efecto de la cirugía bariátrica sobre los diferentes parámetros bioquímicos en las pacientes obesas.

Para conocer el efecto de la cirugía bariátrica sobre los niveles séricos de los lípidos y glucémicos de las 24 pacientes incluidas en este estudio, se compararon los valores obtenidos el día de la cirugía (tiempo 0) con aquellos obtenidos 6 meses después (Tabla 1). Estos datos se obtuvieron de los expedientes clínicos de las pacientes y de las muestras de sangre que fueron proporcionadas por el hospital.

La edad media del grupo de pacientes fue de 41 ± 6 años. Al tiempo 0 todas las pacientes mostraron parámetros bioquímicos alterados, sin embargo, las 24 pacientes disminuyeron significativamente su IMC 6 meses después de la cirugía y paralelamente presentaron una mejoría en todos los parámetros bioquímicos, aunque en algunas pacientes los parámetros como colesterol HDL, colesterol LDL y HbA1c permanecieron alterados (tabla 3). El IMC promedio de las pacientes antes

de la cirugía fue de $38.9 \pm 3.9 \text{ kg/m}^2$, mientras que éste fue de $30 \pm 3.8 \text{ kg/m}^2$, 6 meses después de la intervención quirúrgica.

Tabla 3. Resumen de los cambios en los parámetros clínicos, comparando t0 (día quirúrgico) con t6 (6 meses después de la operación).

Datos clínicos y antropométricos de las pacientes en el presente estudio (n= 24)				
Parámetros	t0	Individuos con parámetros alterados	t6	Individuos con parámetros alterados
IMC (Kg/m^2)	38.9 ± 3.9		30 ± 3.8	
Glucosa (mg/dL)	170 ± 31	3	84.7 ± 6	0
Hb1Ac (%)	5.4 ± 0.3	4	5.3 ± 0.3	2
Colesterol T. (mg/dL)	170 ± 31	4	156 ± 22	0
TG (mg/dL)	131.6 ± 50	6	93 ± 25	0
LDL (mg/dL)	111 ± 27	12	93 ± 19	7
HDL (mg/dL)	40.5 ± 6	21	50 ± 7	14

***Se presenta los promedios calculados a partir de los 24 pacientes con la desviación estándar. Está marcado con rojo el número de individuos con algún parámetro asociado a dislipidemia.

Para determinar si la presencia de DT2 en las pacientes sometidas a cirugía bariátrica tenía alguna influencia en la mejoría de los parámetros bioquímicos, estos se compararon entre los grupos de pacientes obesas con diabetes (OBD) y pacientes obesas no diabéticas (OBND), antes (t0) y después de la cirugía (t6). Los individuos OBND mostraron una mayor mejoría que las pacientes OBD. Las HDL y el IMC son los parámetros que muestran mayor diferencia entre las pacientes OBD y OBND, antes y 6 meses después de la cirugía.

Tabla 4. Datos clínicos y antropométricos de las pacientes en el presente estudio. Las 24 pacientes obesas, se muestran por separado, 12 obesas que fueron diagnosticadas con diabetes y 12 obesas no lo fueron

Rasgo	OBD			OBND		
	T0	T6	Valor de P	T0	T6	Valor de P
IMC (kg/m^2)	38.5 ± 4	29 ± 4	0.01	39 ± 4	30 ± 4.5	0.01
Glucosa (mg/dL)	94 ± 39	85 ± 6	1.00	84 ± 10	85 ± 6	1.00
Hb1Ac (%)	5.5 ± 0.3	5.4 ± 0.4	1.00	5.4 ± 0.3	5.2 ± 0.2	1.00
Colesterol Total (mg/dL)	169 ± 32	157 ± 24	0.34	170 ± 30	156 ± 21.5	0.14
Triglicéridos (mg/dL)	128 ± 37.5	95 ± 21	0.01	135 ± 62	91 ± 30	0.01
LDL (mg/dL)	108 ± 26	93 ± 19	0.02	115 ± 29	92 ± 20	0.02
HDL (mg/dL)	41 ± 7.6	49 ± 8.5	0.01	40 ± 5	50.31 ± 5.75	0.01

El análisis del tipo de dislipidemia mostró una mayor frecuencia de hipertrigliceridemia e hipoalfalipoproteinemia (Tabla 5), en concordancia con lo reportado en la literatura. Entre los pacientes OBD se encontraron 8 (66%) pacientes que no alcanzaron los parámetros normales de Colesterol-HDL después de la cirugía, mientras que entre los pacientes OBND se encontraron sólo 6 (50%).

Tabla 5. Tipos de dislipidemias encontradas en las 24 pacientes obesas

Tipo de dislipidemia	Hipercolesterolemia		Hipertrigliceridemia		Hipoalfalipoproteinemia	
	T0	T6	T0	T6	T0	T6
OBND	2	0	4	0	12	6
OBD	2	0	2	0	9	8

Para determinar si el efecto de la cirugía después de 6 meses en pacientes obesas es estadísticamente significativo, se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas de Wilcoxon y se determinó el valor de p, comparando los valores de los parámetros bioquímicos y de IMC entre el T0 y el T6. Los resultados se muestran en las gráficas de boxplot de las figuras 6 y 7. Los cambios fueron significativos en todos los parámetros, excepto para los niveles de CT, esto ocurrió tanto en las pacientes OBD como OBND.

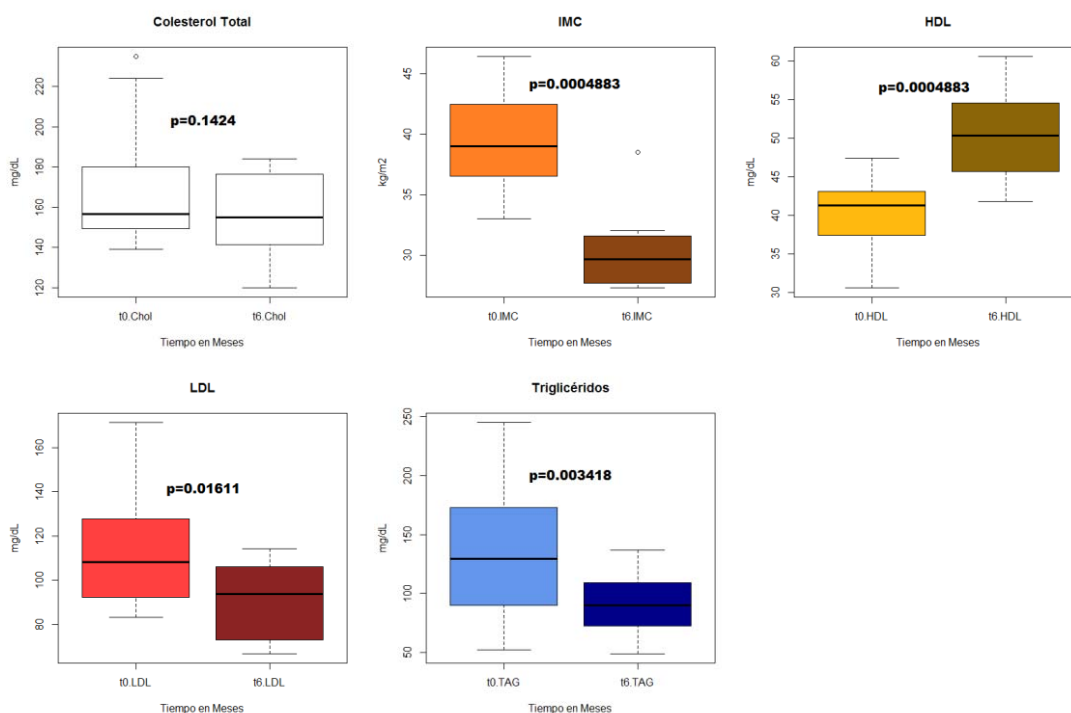


Figura 6. Comparación de los parámetros clínicos y bioquímicos en las pacientes obesas no diabéticas antes (T0) y después de la cirugía (T6).

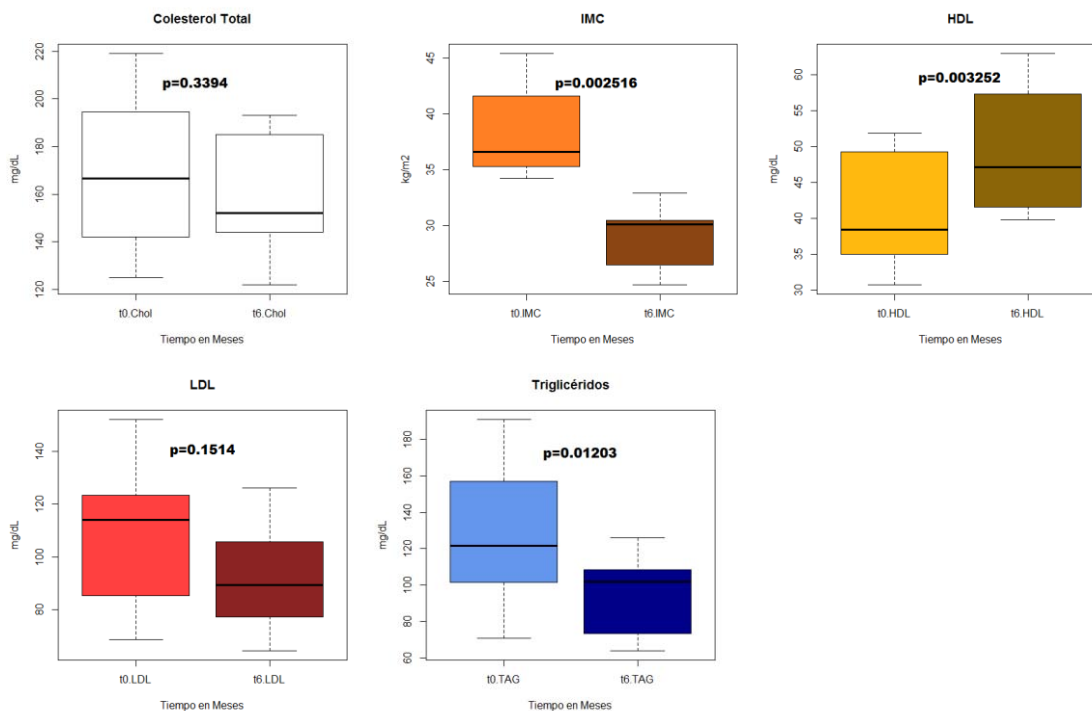


Figura 7. Niveles de los parámetros clínicos en individuos obesos diabéticos antes y después de la cirugía t0 es el día de la cirugía y T6 son seis meses después de la operación.

Correlación entre niveles de metilación y parámetros clínicos

Los niveles de metilación del tejido adiposo subcutáneo de cada paciente fueron obtenidos con microarreglos 450K de Illumina y expresados como niveles beta. Cada uno de los parámetros bioquímicos de dislipidemias obtenidos el día de la cirugía y 6 meses después se correlacionó con el cambio en el valor de metilación del genoma completo a través de prueba de Pearson. Se obtuvieron listas de genes con sitios CpG que tuvieron correlaciones con $r \geq +0.6$; $r \leq -0.6$ y $P < 0.05$. Se puede apreciar que el parámetro en el cual un mayor número de genes sufrió cambios en la metilación fue el colesterol HDL y el que menos presentó estos cambios fueron los TG (Tabla 6).

Tabla 6. Remodelación de los sitios CpG y número de genes en los que ocurre.

Parámetro	No. de sitios CpG remodelados	No. de Genes
Colesterol	78	54
HDL	837	606
LDL	114	91
TG	51	38

Una vez identificados los genes cuyo estado de metilación sufrió una remodelación que correlaciona con los cambios en los parámetros clínicos, se investigaron los genes que se compartieron entre los distintos parámetros. En los diagramas de Venn de la figura 8, se observa que la remodelación de la metilación de algunos genes fue común para los parámetros asociados a dislipidemias entre sí y la disminución del IMC. Así, por ejemplo el gen *NFIX* sufrió remodelación de la metilación después de la cirugía y correlacionó con la mejoría de los niveles séricos tanto de colesterol HDL como de CT, IMC y colesterol LDL; mientras que los genes *ZFYVE28* y *EMILIN3* con los de TG, CT y colesterol LDL, los genes *SLCO2B1*, *DBNDD1*, *AIFM3*, *GDF1*, *SLFN14*, *NUPR1*, *MFSD2A*, *LY6H*, *PRSS36* y *FOXO3* con LDL y CT, el gen *NR5A2* con colesterol HDL y colesterol LDL, los genes *KIAA1671* con colesterol HDL y CT y el gen *ATL1* con CT y TG (Fig. 8a). Si se toman en consideración los genes cuya remodelación de la metilación fue común entre la disminución del IMC y los parámetros asociados a dislipidemias, el número de genes incrementa de manera importante. En la figura 8b se observa el número de genes cuya remodelación de la metilación después de la cirugía fue común entre el IMC y las diferentes dislipidemias. Por otra parte, se muestra el número de genes cuyo cambio en la metilación no estuvo relacionado directamente con la reducción de peso.

Figura 8. Genes con correlación entre metilación y parámetros clínicos

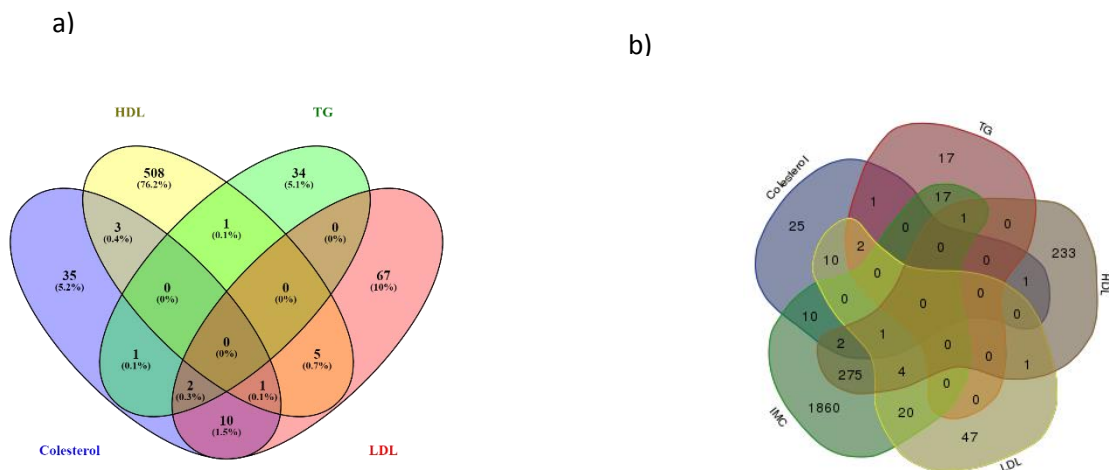


Figura 8. A) Remodelación de la metilación de algunos genes fue común para los parámetros asociados a dislipidemias entre sí, donde HDL comparte más genes. B) Introduciendo IMC, en este parámetro se encuentran más genes en común que sufrieron cambios en sus patrones de metilación, como es el caso de *NFIX* que de manera interesante se comparte con cuatro de los cinco parámetros (Colesterol, HDL, IMC y LDL).

Posteriormente, para conocer los procesos biológicos (vías de señalización, rutas metabólicas y enfermedades) relacionados con el conjunto de genes cuya metilación se altera en las dislipidemias, se llevó a cabo un análisis de enriquecimiento ontológico-funcional utilizando el servidor en línea DAVID Database.

En el caso del **CT**, se encontró que el conjunto de genes asociados se encontraban relacionados con diferentes procesos, como muerte celular programada y regulación negativa de procesos biosintéticos, entre otros (Tabla 7).

Tabla 7. Enriquecimiento ontológico-funcional de genes con alteración de la metilación asociada a cambios en la concentración de colesterol

Término	Valor de p	Genes involucrados
Regulación positiva y muerte celular programada	0.01	<i>CDKN1A, ABR, AIFM3, NUPR1, AKAP13, FOXO3, VAV2</i>
Regulación de la vía de señalización de Rho	0.03	<i>ABR, AKAP13, VAV2</i>
Regulación negativa de la biosíntesis de macromoléculas	0.05	<i>NR1H2, AES, TRIM33, GATAD2A, CUX2</i>

La **HDL** correlaciona con la metilación alterada de genes implicados en vías relacionadas con adhesión focal, señalización de TGF β , señalización de WNT, interacción de receptores y matriz extracelular y desarrollo del cáncer (**tabla 8**).

Tabla 8. Enriquecimiento ontológico-funcional de genes cuya remodelación de sus patrones de metilación se asociaron a cambios en la concentración de **HDL**

Termino	Valor de p	Genes involucrados
Adhesión focal	0.01	<i>EGFR, LAMB4, FLT1, FLT4, ITGB7, VEGFA, COL6A3, COL3A1, COL1A2, PIP5K1C, MYLK2, LAMC2, COL1A1, RAPGEF1, COL5A1, PARVA</i>
Vía de señalización de TGF β	0.01	<i>INHBE, GDF6, PPP2CA, CREBBP, TGFB3, SMAD3, RPS6KB2, SMURF2, DCN</i>
Vía de señalización de WNT	0.01	<i>CSNK1A1, TBL1XR1, WNT7B, CHD8, NKD1, CTBP2, PPP2CA, CREBBP, SMAD3, LEF1, DAAM2, FZD7</i>
Interacciones de receptores de matriz extracelular	0.01	<i>LAMB4, ITGB7, COL6A3, COL3A1, COL1A2, LAMC2, COL1A1, COL5A1</i>
Vías que participan en el desarrollo del cáncer	0.01	<i>EGFR, CTBP2, CREBBP, TGFB3, SMAD3, LEF1, GLI2, FZD7, CDK2, LAMB4, WNT7B, RASSF5, ETS1, VEGFA, TGFA, LAMC2, FGF2</i>

Las vías que se encontraron relacionadas a los genes con cambios en los patrones de metilación asociados a **LDL** fueron aquellas implicadas en la regulación de la comunicación celular,

regulación de la transcripción, regulación de la expresión génica, biosíntesis de lípidos y biosíntesis de macromoléculas (Tabla 9).

Tabla 9. Enriquecimiento ontológico-funcional de genes cuya remodelación de sus patrones de metilación se asociaron a cambios en la concentración de **LDL**

Termino	Valor de P	Genes involucrados
Regulación negativa de la comunicación celular	0.02	<i>KCNQ4, ACHE, SMAD7, ZFYVE28, CYP26B1, DGKZ, TRIB1</i>
Regulación positiva de la transcripción dependiente de DNA	0.02	<i>BARX2, NCOA4, MAML2, TEAD3, MAML3, FOXO3, NR5A2, PBX2, TLX1</i>
Transcripción	0.02	<i>NACC1, SMAD7, MAML2, ESR1, NR3C2, NFIX, BANP, TEAD3, FOXO3, CBFA2T3, ZNF16, BARX2, OLIG3, NCOA4, POU2F2, MAML3, NR5A2, PBX2, NCOR2</i>
Regulación positiva de compuestos de la síntesis compuestos nitrogenados	0.01	<i>BARX2, NCOA4, MAML2, TEAD3, MAML3, FOXO3, NR5A2, PBX2, TLX1</i>
Procesos biosintéticos de lípidos	0.04	<i>CYB5R1, GDF1, PTGS1, PIGV, ELOVL6</i>
Proliferación celular	0.02	<i>PRKD1, ACHE, S100B, PGF, CBFA2T3, OCA2, LRPAP1</i>
Regulación positiva de procesos biosintéticos	0.02	<i>BARX2, NCOA4, MAML2, TEAD3, MAML3, FOXO3, NR5A2, PBX2, TLX1</i>

Por último, en los **TG** las vías encontradas se encuentran implicadas en el transporte de iones y aminoácidos, proliferación de células T, regulación de procesos metabólicos que implican al fosfato (Tabla 10).

Tabla 10. Enriquecimiento ontológico-funcional de genes cuya remodelación de sus patrones de metilación se asociaron a cambios en la concentración de TG

Termino	Valor de P	Genes
Transporte de iones	0.01	<i>IBTK, SLC11A1, CACNA1H, CACNA1C</i>
Transporte de L-aminoácidos	0.04	<i>SLC11A1, SLC43A1</i>
Proliferación de células T	0.05	<i>SLC11A1, CD86</i>
Regulación de la fosforilación	0.05	<i>IBTK, SLC11A1, PRKAR1B, ZFYVE28</i>
Regulación de procesos metabólicos que involucran fosfato	0.05	<i>IBTK, SLC11A1, PRKAR1B, ZFYVE28</i>

De las listas de genes, se seleccionaron aquellos con las mejores correlaciones de Pearson, para establecer la relación entre el valor Beta (valor continuo de 0 a 1, donde 1 será totalmente metilado y 0 no metilado) y los niveles séricos de los parámetros de dislipidemia en cada uno de los pacientes, en los dos tiempos (T0 y T6) en los que se tomó la muestra. En la figura 9 se muestran los genes cuya remodelación de la metilación presentó la mayor correlación con la concentración de los niveles séricos de lípidos, después de 6 meses de cirugía bariátrica.

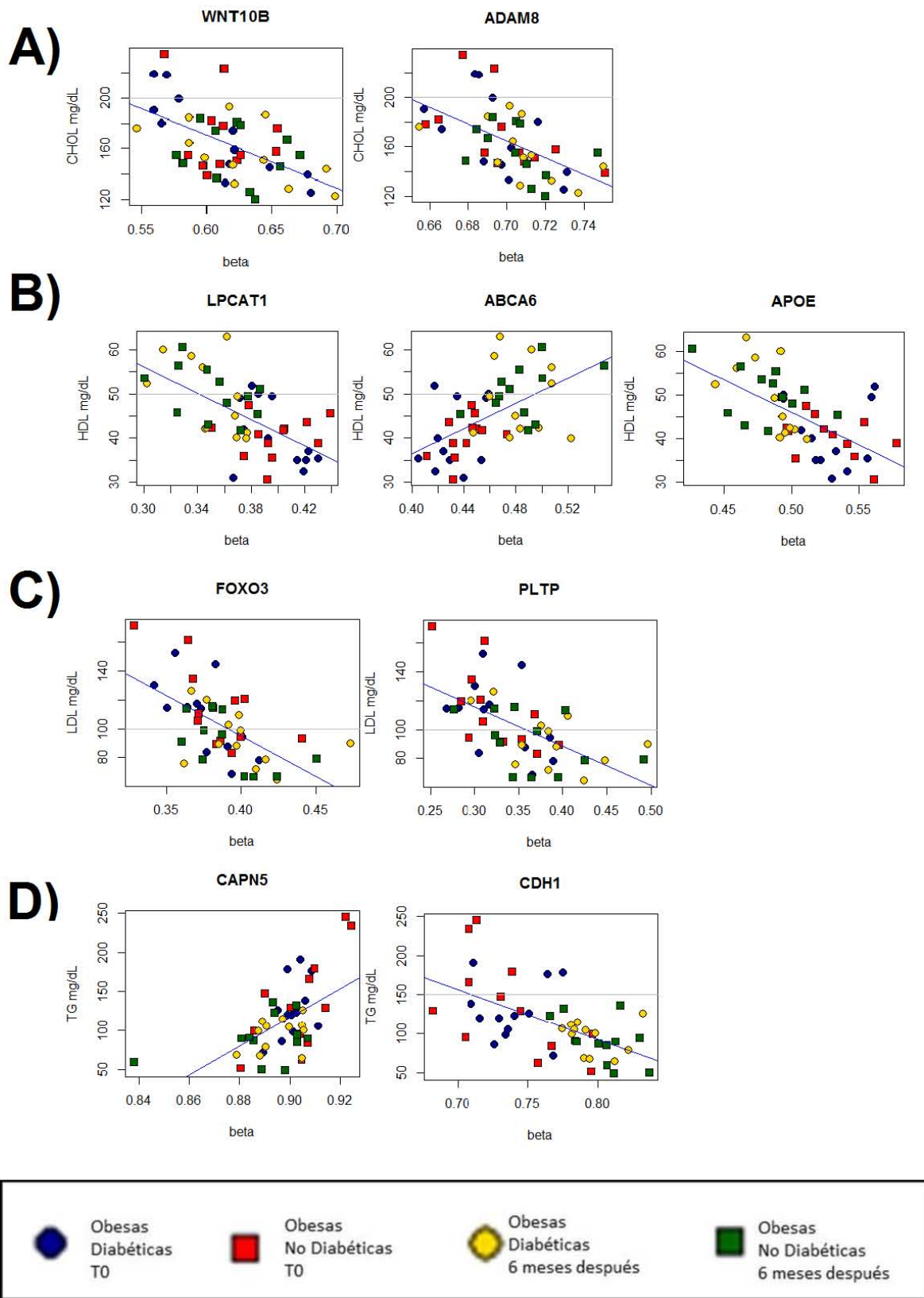


Figura 9. Correlación de la remodelación de los patrones de metilación y los perfiles de lípidos (Chol, HDL, LDL y TG) después de 6 meses de cirugía bariátrica. En la figura podemos observar los principales genes con metilación alterada y su correlación con dislipidemias.

WNT10B, *ADAM8*, *LPCAT1*, *ABCA6*, *APOE*, *PLTP*, *FOXO3*, *CDH1* y *CAPN5* fueron algunos de los genes cuya alteración de sus patrones de metilación y su remodelación después de la cirugía bariátrica correlacionó con los niveles séricos de lípidos. El gráfico describe una correlación negativa entre los niveles de CT y los valores beta de los genes *WNT10B* y *ADAM8*, es decir, que a menor metilación serán mayores los valores de CT y viceversa. Así, en el grupo de pacientes que no han sido operadas y presentan altos niveles séricos de CT, estos genes se encontraron hipometilados, mientras que en las pacientes intervenidas quirúrgicamente y cuyos niveles de CT disminuyeron, estos genes mostraron una hipermetilación.

La correlación del valor beta de metilación de los genes *LPCAT1*, *ABCA6* y *APOE* y los niveles de colesterol HDL también fue negativa. Lo que se observa en el gráfico es que existe una disminución en la concentración de colesterol HDL a mayor metilación de estos genes. Las pacientes en el tiempo 0 presentan mayor metilación y menores niveles de colesterol HDL, mientras que las pacientes intervenidas quirúrgicamente presentan una menor metilación de estos genes y mejoran (incrementan) sus niveles de colesterol HDL. Por otra parte, los genes *PLTP* y *FOXO3* se encontraron hipometilados en el grupo de pacientes sin cirugía y con niveles séricos elevados de colesterol LDL. Se observó una correlación negativa entre la concentración de colesterol LDL y el valor de Beta. Es decir, estos genes se encuentran hipometilados en las pacientes que aún no han sido operadas, e hipermetilados en las pacientes que ya fueron operadas, donde la gran mayoría mejoran, reduciéndose la concentración de colesterol LDL en suero.

En el mismo sentido, antes de la cirugía se encontró una correlación de la hipometilación del gen *CDH1* con niveles elevados de TG en suero, la cual fue remodelada con los niveles de TG 6 meses después de la cirugía bariátrica. Después de la cirugía se observó una mejoría total de la hipertrigliceridemia en todas las pacientes, encontrando sus niveles de TG por debajo de 150 mg/dL. De manera interesante, a diferencia de todos los ejemplos mencionados arriba, la metilación del gen que codifica para la calpaína 5 (*CAPN5*), correlacionó directamente con los niveles de TG, es decir, antes de la cirugía se encontró una correlación de la hipermetilación del gen con la presencia de hipertrigliceridemia, mientras que después de la cirugía observó una menor metilación y los niveles de TG se normalizaron.

Discusión

La obesidad se encuentra estrechamente relacionada con complicaciones metabólicas, incluyendo la resistencia a la insulina, la DT2 y las dislipidemias. Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado una correlación directa entre el incremento del IMC y la alteración en los niveles de glucosa, colesterol total, colesterol LDL, TG y colesterol HDL (Denke MA, et al., 1993 y Nieves DJ et al., 2003). De hecho, varios estudios han analizado los cambios en los niveles de glucosa y de las subfracciones lipídicas después de la cirugía bariátrica y la mayoría de ellos reportan una

inmediata remisión de la hiperglucemia y la hiperlipidemia, como el estudio realizado por el grupo de Garcia, en el 2012, donde el seguimiento de 128 pacientes sometidos a cirugía bariátrica (by pass gástrico), muestra reducción del colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos y aumento en colesterol HDL (Garcia-Marirrodiga, et al., 2012).

A través de estudios de asociación en todo el genoma (GWAS), se han identificado una serie de genes de susceptibilidad para la obesidad y las alteraciones metabólicas relacionadas, sin embargo, todos ellos explican solamente una proporción pequeña de la heredabilidad de estos fenotipos y la mayor parte de los genes responsables aún permanecen desconocidos.

La adaptación metabólica a la adiposidad se encuentra acompañada de cambios importantes en la expresión génica, por lo que las modificaciones epigenéticas, como la metilación del DNA y las modificaciones de histonas, son fuertes candidatos para explicar la variabilidad de las alteraciones metabólicas de la obesidad. La metilación del DNA ha sido tradicionalmente relacionada con la represión de la expresión de los genes y aunque las alteraciones en la metilación del DNA de tejido adiposo se han relacionado con el incremento del IMC y la DT2, su relación con las dislipidemias aún no se encuentra explorada del todo. Generalmente, el análisis de las diferencias en la metilación del DNA en los tejido resulta complicada, ya que ésta es tejido específica y es dependiente del género, de la edad y hasta del medio ambiente, por lo que puede diferir aún entre el mismo tejido si proviene de diferente individuo. Para disminuir el efecto de la variabilidad en los patrones de la metilación en pacientes obesas y correlacionarlo con los parámetros bioquímicos, en este trabajo se tomaron muestras de tejido adiposo subcutáneo de pacientes obesas femeninas, antes y seis meses después de la cirugía bariátrica y se analizó la correlación de la remodelación de la metilación con los niveles de los parámetros lipémicos y glucémicos. Así, en este trabajo se muestra el análisis del metiloma de tejido adiposo antes y 6 meses después de cirugía bariátrica en pacientes femeninas mexicanas. Los resultados mostrados aquí ayudarán a profundizar sobre los mecanismos relacionados con la dislipidemia en pacientes obesas.

En el presente estudio, se muestra el efecto de la cirugía sobre la mejoría del IMC, pero también sobre los perfiles de lípidos (triglicéridos, colesterol LDL, colesterol HDL y colesterol total) y glucémicos. Si se toma en cuenta la presencia de diabetes, se encuentran diferencias en cuanto a las mejorías en las pacientes. Los parámetros asociados a dislipidemia, presentan mayores cambios en los pacientes sin diabetes.

Muchos de los cambios en la metilación del DNA se encontraron asociados a la reducción del IMC después de la cirugía. Sin embargo, sólo una fracción de los genes que sufrieron remodelación de la metilación se relacionó, tanto con la mejoría de parámetros clínicos lipémicos y glicémicos como con la mejoría en el IMC, sugiriendo que la alteración en la metilación de DNA puede ser parte del vínculo directo entre la obesidad y las dislipidemias (*drivers*). Por otra parte, los cambios en la metilación que correlacionan exclusivamente con cambios en los niveles séricos de lípidos, glucosa e IMC pueden ser consecuencia sólo del cambio en el parámetro relacionado. Alternativamente, los cambios en la metilación no relacionados con el IMC, podrían estar implicados en los mecanismos que se han propuesto para la mejoría de parámetros clínicos en pacientes sometidos a cirugía bariátrica, sobre todo la mejoría de los niveles de HDL, que se ha sugerido como

resultado de los cambios anatómicos creados por el procedimiento, independientemente de la reducción de peso (Rader DJ., 2006; Qin X y Tso P., 2005). De hecho, la mayor cantidad de genes cuya remodelación de sus patrones de metilación se asociaron a cambios en la concentración de parámetros asociados a dislipidemias, estuvieron relacionados con colesterol HDL. Cabe resaltar que 23 de las 24 pacientes presentaron este parámetro alterado y casi la mitad de ellas presentaron valores normales, seis meses después de la cirugía.

En este estudio se muestran como ejemplo alguno de los genes como *LPL*, *WNT10B*, *ADAM8*, *LPCAT1*, *ABCA6*, *APOE*, *PLTP*, *FOXO3*, *CDH1* y *CAPN5*, cuya alteración de sus patrones de metilación y su remodelación después de la cirugía bariátrica correlacionaron con los niveles séricos de lípidos. El gen *LPL* codifica para la enzima lipoproteína lipasa la cual hidroliza las moléculas grasas transportadas por las lipoproteínas, lo que directamente influye en la mejoría de los niveles de colesterol HDL y colesterol LDL. La actividad de *LPL* se ha relacionado también con la reducción de peso y estabilización posterior a la cirugía bariátrica, lo que directamente influye en la mejoría de los niveles de colesterol HDL y colesterol LDL (Dattilo AM, et al., 1992 y Yatsuya H, et al., 2011).

La pérdida de peso generalmente optimiza la actividad de la *LPL*, particularmente una vez que el peso se estabiliza, pero, durante la restricción calórica aguda, la concentración de esta enzima disminuye un 50 por ciento. Debido a la actividad de la *LPL* provee precursores de HDL a través de la lipólisis de lipoproteínas ricas en triglicéridos, los niveles bajan durante la pérdida activa de peso lo que obstaculiza la transferencia de constituyentes a HDL y por tanto se reduce la concentración de colesterol HDL (Dattilo AM, et al, 1992 y Taskinen MR, et al., 1979). De manera inversa, cuando la pérdida de peso se estabiliza, se da un incremento en actividad de la *LPL* y mejora la transferencia de lípidos y apolipoproteínas (Dattilo AM, et al., 1992 y Yatsuya H, et al., 2011). Un estudio reveló que muchos de los genes expresados y las vías en el tejido adiposo, algunos relacionados con el metabolismo de HDL, cambiaron recíprocamente durante la fase aguda de pérdida de peso y después de la estabilización. Los autores concluyeron que la pérdida aguda de peso y el mantenimiento del peso deben ser visto como dos eventos biológicos distintos (Hamsten A, et al., 2005). Otros estudios también han reportado que la reducción de peso induce una disminución en la actividad plasmática de *CETP* y *PLTP* después de la cirugía bariátrica (McLaughlin T, et al., 2005 y Kolovou GD, et al., 2008). *PLTP* en los resultados de este trabajo, mostró cambios en sus patrones de metilación siendo hipermetilado, después de la operación y esto estuvo asociado con una mejoría en los niveles de LDL. *PLTP* participa en la transferencia de fosfolípidos a HDL, lo cual cambia el tamaño de las HDL. Además, la transferencia de fosfolípidos hacia la superficie de las partículas de HDL lo que resulta en la disociación de apo A-I. El resultado de estos eventos es un catabolismo acelerado de las partículas HDL que fueron remodeladas (Rye KA, y Barker PJ, et al., 2014).

Dentro de los mecanismos que afectarían las concentraciones de colesterol HDL que son independientes de la pérdida de peso, serían mecanismos asociados con el tracto gastrointestinal. El *by pass* gástrico es más efectivo para el aumento de colesterol HDL, a comparación de los

demás tipos de cirugía bariátrica, como resultado de los cambios anatómicos creados por cada procedimiento quirúrgico en el impacto subsecuente en colesterol HDL. De hecho los intestinos son considerados una fuente importante en la formación de HDL (Rader DJ., 2006). El intestino delgado contribuye a la síntesis de apo A-I, A-II y A-IV, los principales constituyentes de las HDL. Es posible que en los humanos el 100% de apo A-IV sea producido en los intestinos (Qin X y Tso P., 2005), en el by pass gástrico se conserva la parte proximal del intestino el yeyuno y también no disminuye la expresión de ABCA1 en los enterocitos (Rader DJ., 2006).

En el presente trabajo se encontraron cambios en los niveles de metilación de genes importantes para el metabolismo de lípidos, como *PLPT*, *LPCAT1* y *APOE*, con una correlación directa con cambios en los niveles de lípidos séricos. Estos cambios epigenéticos podrían tener una participación directa en las alteraciones metabólicas relacionadas a la obesidad, ya que la actividad de moléculas tan importantes como ApoE, pueden verse alteradas por esta remodelación de la metilación. Se ha visto que la función de este gen es importante para disminuir las concentraciones de Colesterol total, además de que se ha reportado que existe una disminución en la concentración de HDL si este gen esta hipermetilado. Esto podría deberse a que la presencia de lipoproteínas con alto contenido en colesterol (principalmente VLDL y LDL) facilitarían su disminución por la interacción con la CETP. La CETP posee la capacidad de intercambiar colesterol esterificado por triglicéridos entre las distintas lipoproteínas con apo B y, entre otras acciones, contribuyen a la formación de las LDL pequeñas y densas, subfracción de LDL con elevado potencial aterogénico.

Además, se ha reportado que la reducción de peso induce una disminución en la actividad plasmática de CETP y PLTP después de la cirugía bariátrica (McLaughlin T, et al., 2005 y Kolovou GD, et al., 2008), lo que va en el mismo sentido del cambio en la metilación de PLTP, que se reporta en este trabajo, el cual se encuentra asociado con mejoría de los niveles de LDL. PLTP participa en la transferencia de fosfolípidos a HDL, lo cual cambia el tamaño de las HDL. Además, la transferencia de fosfolípidos hacia la superficie de las partículas de HDL resulta en la disociación de apo A-I. El resultado de estos eventos puede ser un catabolismo acelerado de las partículas HDL (Rye KA, y Barker PJ, et al., 2014). Por otra parte, la expresión de *LPCAT1* y la actividad enzimática están significativamente inhibidas cuando se presenta estrés metabólico como en el caso de la diabetes y obesidad. Es posible que en las pacientes obesas antes de la cirugía la expresión de este gen esté disminuída, ya que en este trabajo se encontró en un estado hipermetilado. La diabetes y la obesidad están asociados con el incremento en los niveles de especies reactivas de oxígeno e inflamación, lo cual estimula el remodelamiento de PC (fosfatidilcolina) y PAF (factor activador plaquetario). Durante ese remodelamiento, la PC oxidada es hidrolizada por la fosfolipasa A2 citoplasmática, mientras que PAF es hidrolizada por la PAF acetilhidrolasa (PAF-AH), produciendo lisofosfatidilcolina y liso-PAF que puede ser convertido en fosfatidilcolina y acil-fosfatidilcolina, un análogo no inflamatorio de PAF, el cual es catalizado por *LPCAT1* (Cheng L, Han X y Shi Y, 2009).

Por otra parte, se ha señalado que la alteración en la diferenciación del adipocito puede estar implicada en la disfunción del tejido adiposo en la obesidad. En este trabajo también se encontró

remodelación en la metilación de genes directamente implicados en la diferenciación del adipocito, como *WNT10B*, que codifica para una proteína que preferencialmente activa a las vías dependientes de β -catenina y funciona como un inhibidor de la adipogénesis (Fuster JJ et al., 2015). Diversas investigaciones han demostrado que el daño o la interrupción de la vía WNT/ β -catenina conlleva a una adipogénesis espontánea e indican que la restricción endógena de WNT no permite la diferenciación del preadipocito, la expresión de *WNT10B* es mayor en el preadipocito y disminuye rápidamente después de que es inducida su diferenciación (Gesta S, et al., 2007). La sobreexpresión de *WNT10B* en los preadipocitos 3T3-L1 estabiliza a β -catenina y bloquea la adipogénesis. De manera aún más convincente, anti-suero *WNT10B* a cultivos de línea celular 3T3-L1, promueve la diferenciación del preadipocito (Krishnan V, et al. 2006). La expansión del tejido adiposo blanco se ha visto asociada a la resistencia a la insulina. En diversos estudios se ha visto que algunos pacientes obesos mórbidos (cerca del 20%), son metabólicamente sanos. Estos obesos presentan un nivel alto en la sensibilidad de la insulina, una menor cantidad de tejido adiposo visceral y un incremento en el número de adipocitos.

Por otra parte, se encontraron fuertes correlaciones entre los parámetros clínicos y los cambios en la metilación de genes que no se encuentran implicados directamente en la relación entre la obesidad y las dislipidemias, como *ADAM8*, *ABCA6*, *CAPN5* y *FOXO3*.

El gen *ADAM8*, Desintegrina y Metaloproteínasa 8, codifica para una proteína fuertemente expresada en linaje de monocitos. Este gen se sobreexpresa en el tejido adiposo blanco ratones que fueron sometidos a dietas altas en grasas (Xu H, et al., 2003). En las pacientes no operadas este gen se encuentra hipometilado y en las pacientes que ya fueron sometidas a cirugía bariátrica se encuentra hipermetilado, por esto se podría suponer que existe una disminución en la expresión de esta proteína lo que conllevaría a una menor actividad inflamatoria.

ABCA6 pertenece a una gran familia de transportadores, este gen se expresa mayormente en los macrófagos donde intervienen en la externalización de lípidos. En este trabajo, la metilación de este gen se encontró asociada a una disminución en la concentración de colesterol HDL y su hipometilación con una gran mejoría en las concentraciones de esta lipoproteína, lo cual disminuye los riesgos cardiovasculares, esta situación se observó en las pacientes que fueron sometidas a cirugía bariátrica, tanto diabéticas como no diabéticas.

Por otra parte, la familia de las calpaínas comprende un grupo heterogéneo de cisteína proteasas con un patrón de expresión amplio que incluye múltiples isoformas, ubicuas y tejido específicas. Las calpaínas están involucradas en una gran variedad de procesos celulares regulados por calcio, tales como señales de transducción, proliferación celular, diferenciación y apoptosis (Saez ME, et al., 2006). De manera interesante, algunos reportes han descrito la actividad proteolítica de las calpaínas sobre los miembros de PPAR. El grupo de Sáez (Sáez ME, et al., 2008) reportaron que la interacción entre la calpaina 5 (*CAPN5*) y *PPARD* reduce el riesgo de obesidad. *PPARD* se ha demostrado que tiene un papel crítico en la regulación del metabolismo energético. La activación de este gen resulta en el incremento en la expresión de genes involucrados en el almacenamiento de lípidos, oxidación de ácidos grasos (Leibowitz MD, et al; 2000). En nuestras pacientes se observó

una correlación positiva entre la metilación y los niveles de triglicéridos encontrándose más aumentada en las pacientes obesas no intervenidas, en estas pacientes *CAPN5* se encontraría más metilado lo que podría conllevar a un menor nivel en su expresión disminuyendo así su actividad.

La familia de factores de transcripción “cabeza de tenedor” FoxOs están muy conservados evolutivamente y se regulan por vía de señalización de la insulina. Los FoxOs tienen diversas funciones en diferenciación, proliferación y sobrevivencia celular. En dietas con restricción calórica o hambruna, los FoxOs están en el núcleo, activos transcripcionalmente e incrementan la ingesta de alimentos y causan la degradación de músculo esquelético para la producción de glucosa. Sin embargo, incluso con resistencia a la insulina los FoxOs son activos y están asociados a diabetes tipo 2 e hiperlipidemia (Nakae J, et al., 2007). Un gran número de estudios colocan a FoxO3 en el mantenimiento cardiovascular y homeostasis metabólica. Aunque algunos datos son controversiales existen algunas evidencias en las que FoxO3 regula decisiones de vida muerte en respuesta a estrés celular (Beal, F et al., 2015).

Conclusiones

- Aunque en las enfermedades metabólicas existen cambios modestos en el metiloma, estos son clínicamente relevantes.
- Los perfiles séricos de lípidos se normalizan después de la cirugía bariátrica en todas las pacientes obesas sin diabetes, mientras que sólo mejoran en pacientes obesas con diabetes.
- Existe remodelación de los patrones de metilación en las pacientes obesas, después de la cirugía bariátrica, lo que indica que la metilación es un proceso dinámico.
- Existe remodelación de los patrones de metilación en las pacientes obesas, después de cirugía bariátrica. La mayoría de los genes de este trabajo, mostraron cambios en sus patrones de metilación siendo la hipermetilación, después de la operación. El enriquecimiento ontológico-funcional mostró que las vías principalmente involucradas en las dislipidemias fueron la biosíntesis de lípidos y macromoléculas, muerte celular programada y regulación negativa de procesos biosintéticos, adhesión focal, señalización de TGF β , señalización de WNT, interacción de receptores y matriz extracelular y desarrollo del cáncer, transporte de iones y aminoácidos, proliferación de células T y regulación de procesos metabólicos que involucran al fosfato.

Literatura citada

Abumrad, N.A.; Davidson, N.O. (2012). Role of the gut in lipid homeostasis. *Physiol. Rev*, 92, 1061–1085.

Aguilar Salinas CA, Melgarejo Hernández MA, et al. (2016). *MENSAJE BIOQUÍMICO*, VOL. XL

Ahima R y Lazar MA. (2013) *Physiology*. The health risk of obesity--better metrics imperative. *Science*. Aug 23;341(6148):857.

Altmann, S.W.; Davis, H.R., Jr.; Zhu, L.J.; Yao, X.; Hoos, L.M.; Tetzloff, G.; Iyer, S.P.; Maguire, M.; Golovko, A.; Zeng, M.; et al. (2004). Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science*, 303, 1201–1204.

Auclair, G.; Weber, M. (2012). Mechanisms of DNA methylation and demethylation in mammals. *Biochimie*, 94, 2202–2211.

Baldo, A.; Sniderman, A.D.; St-Luce, S.; Avramoglu, R.K.; Maslowska, M.; Hoang, B; Monge, J.C; Bell, A.; Mulay, S.; Cianflone, K. (1993). The adipsin-acylation stimulating protein system and regulation of intracellular triglyceride synthesis. *J. Clin. Invest.*, 92, 1543–1547.

Baron, B. (2012). Breaking the Silence: The Interplay Between Transcription Factors and DNA Methylation. In *Methylation—From DNA, RNA and Histones to Diseases and Treatment*; Dricu, P.A., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, 2010;70:101-41

Barres R, et al., (2013). Weight loss after gastric bypass surgery in human obesity remodels promoter methylation. *Cell Rep*. 2013, 25;3(4):1020-7

Beers MH, Porter RS, Jones TV, Kaplan JL, Berkwitz M (eds.). (2007). *El Manual Merck de Diagnóstico y Tratamiento*. Madrid: Elsevier.

Benton MC, et al., (2015). An analysis of DNA methylation in human adipose tissue reveals differential modification of obesity genes before and after gastric bypass and weight loss. *Genome Biol*. 2015,22;16:8.

Berger NA (2014) Obesity and cancer pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 1311:57–76

Berrington de Gonzalez et al. (2010), *N. Engl. J. Med.* 363, 2211

Bestor T, Laudano A, Mattaliano R, Ingram V. (1988). Cloning and sequencing of a cDNA encoding DNA methyltransferase of mouse cells. The carboxyl-terminal domain of the mammalian enzymes is related to bacterial restriction methyltransferases. *J. Mol. Biol.* 203(4),971–983

Boal F, et al.(2015). Apelin regulates FoxO3 translocation to mediate cardioprotective responses to myocardial injury and obesity. *Sci Rep*. Nov 6;5:16104.

Bouchard L, Rabasa-Lhoret R, Faraj M, Lavoie ME, Mill J, Pérusse L, et al. (2010). Differential epigenomic and transcriptomic responses in subcutaneous adipose tissue between low and high responders to caloric restriction. *Am J Clin Nutr* 91: 309-320.

Brunzell, J.D.; Hazzard, W.R.; Porte, D., Jr.; Bierman, E.L. (1973). Evidence for a common, saturable, triglyceride removal mechanism for chylomicrons and very low density lipoproteins in man. *J. Clin. Invest.*, 52, 1578–1585.

Buchwald H, Avidor Y, Braunwald E, et al. (2004). Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* ; 292:1724–37.

- Burdge GC, Slater-Jefferies J, Torrens C, Phillips ES, Hanson MA, Lillycrop KA. (2007). Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. *Br J Nutr* 97:435–439
- Cachefo A, Boucher P, Dusserre E, Bouletreau P, Beylot M, Chambrier C. (2003). Stimulation of
- Capell, W.H.; Zambon, A.; Austin, M.A.; Brunzell, J.D.; Hokanson, J.E. (1996). Compositional differences of LDL particles in normal subjects with LDL subclass phenotype A and LDL subclass phenotype B. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol*, 16, 1040–1046.
- Carnethon, M. R., et al., (2012). JAMA 308, 581 Erratum: J. Am. Med. Assoc. 2012 308(20):2085.
- Caron, S.; Verrijken, A.; Mertens, I.; Samanez, C.H.; Mautino, G.; Haas, J.T.; Duran-Sandoval, D.; Prawitt, J.; Francque, S.; Vallez, E.; et al. (2011). Transcriptional activation of apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*, 31, 513–519.
- Catenacci VA, Hill JO, Wyatt H.R. (2009) The obesity epidemic. *Clin Chest Med.*;30:415-44.
- Chodavarapu, R.K.; Feng, S.; Bernatavichute, Y.V.; Chen, P.Y.; Stroud, H.; Yu, Y.; Hetzel, J.A.; Kuo, F.; Kim, J.; Cokus, S.J.; et al. (2010). Relationship between nucleosome positioning and DNA methylation. *Nature*, 466, 388–392.
- Choy, J.S.; Wei, S.; Lee, J.Y.; Tan, S.; Chu, S.; Lee, T.H. (2010). DNA methylation increases nucleosome compaction and rigidity. *J. Am. Chem. Soc*, 132, 1782–1783.
- Chuen Khor and Denise Li-Meng Goh (2010). Strategies for identifying the genetic basis of dyslipidemia: genome-wide association studies vs. the resequencing
- Clemente-Postigo, M.; Queipo-Ortuno, M.I.; Fernandez-Garcia, D.; Gomez-Huelgas, R.; Tinahones, F.J.; Cardona, F. (2011). Adipose tissue gene expression of factors related to lipid processing in obesity. *PLoS One*, 6,
- Collings, C.K.; Waddell, P.J.; (2013). Anderson, J.N. Effects of DNA methylation on nucleosome stability. *Nucl. Acids Res*, 41, 2918–2931.
- Cordero P, Milagro FI, Campion J, Martínez JA. (2010). Epigenética nutricional: una pieza clave en el rompecabezas de la obesidad. *Rev Esp Obes* 8, 10-20.
- Cordero P, Li J, Oben JA. (2015). Epigenetics of obesity: beyond the genome sequence. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015 Jul;18(4):361-6
- Córdova-Villalobos JA, Barriguete-Meléndez JA, Lara-Esqueda A, Barquera S, Rosas-Peralt M, Hernández-Ávila M et al, Qin X, Tso P. (2005). The role of apolipoprotein AIV on the control of food intake. *Curr Drug Targets*;6:145–51.
- Dahl, C.; Grønbaek, K.; Guldborg, P. (2011). Advances in DNA methylation: 5 hydroxymethylcytosine revisited. *Clin. Chim. Acta*, 412, 831–836.
- Dallinga-Thie, G.M.; Franssen, R.; Mooij, H.L.; Visser, M.E.; Hassing, H.C.; Peelman, F.; Kastelein, J.J.; Peterfy, M.; Nieuwdorp, M. (2010). The metabolism of triglyceride-rich lipoproteins revisited: new players, new insight. *Atherosclerosis*, 211, 1–8.
- Dattilo AM, Kris-Etherton PM. (1992). Effects of weight reduction on blood lipids and lipoproteins: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*;56: 320–8. [44]
- Deaton Aimée M. and Bird Adrian. (2011). CpG islands and the regulation of transcription. *Genes & Development*, 25: 1010-1022.

- Denke MA, Sempos CT, Grundy SM (1993). Excess body weight: an underrecognized contributor to high blood cholesterol levels in White American men. *Arch Intern Med*;153:1093–103.
- Ehrlich, M.; Lacey, M. (2013) .Epigenetic Alterations in Oncogenesis; Karpf, A.R., Ed.; Springer New York: New York, NY, USA, 2013; Volume 754, pp. 31–56.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012.
- Evans, K.; Burdge, G.C.; Wootton, S.A.; Clark, M.L.; Frayn, K.N. (2002). Regulation of dietary fatty acid entrapment in subcutaneous adipose tissue and skeletal muscle. *Diabetes*, 51, 2684–2690.
- Feltus F. Alex, Lee Evak., Costella Joseph F., Plass Christoph, Vertino Paula M. (2006). DNA motifs associated with aberrant CpG island methylation. *Genomics*, 87: 572-579.
- Fernández, T y Pirola, C.J. (2015). Epigenética y Síndrome Metabólico. *Rev. argent. endocrinol. metab.*, vol.52, n.1, pp. 35-44. ISSN 1851-3034.
- Flegal, B. K. Kit, H. Orpana, B. I.(2013) Graubard, *JAMA* 309, 71
- Franssen, R.; Monajemi, H.; Stroes, E.S.; Kastelein, J.J. (2011). Obesity and dyslipidemia. *Med. Clin. North. Am.*, 95, 893–902.
- Fried, M. et al. (2014) Interdisciplinary European guidelines on metabolic and bariatric surgery. *Obes. Surg.* 24, 42–55.
- Garcia-Marirrodiga I, Amaya-Romero C, Ruiz-Diaz GP, Fernández S, Ballesta-López C, Pou JM, Romeo JH, Vilahur G, Vilhur G, Badimon L, Ybarra J. (2012) Evolution of lipid profiles after bariatric surgery. *Obes Surg.* Apr;22(4):609-16
- Gardiner-Garden M, Frommer M. (1987). CpG islands in vertebrate genomes. *J. Mol. Biol.* 196(2), 261–282
- Giannini S, Bardini G, Dicembrini I, Monami M, Rotella CM, Mannucci E. (2012). Lipid levels in obese and nonobese subjects as predictors of fasting and postload glucose metabolism. *J Clin Lipidol* 2012;6:132-138.
- Goldberg, I.J.; Eckel, R.H.; Abumrad, N.A. (2009). Regulation of fatty acid uptake into tissues: lipoprotein lipase- and CD36-mediated pathways. *J. Lipid Res.*, 50, S86–S90.
- Goldstein, J.L.; Brown, M.S. (2009). The LDL receptor. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 29, 431–438.
- González, A. (2011) Dislipidemias y Factores de Riesgo Cardiovascular. Sociedad Mexicana para el Estudio de la Hipertensión Arterial. Sociedad Mexicana de Hipertensión.
- Guay SP et al., (2012). ABCA1 gene promoter DNA methylation is associated with HDL particle profile and coronary artery disease in familial hypercholesterolemia. *Epigenetics*. May;7(5):464-72.
- Guo, J.U.; Su, Y.; Zhong, C.; (2011). Ming, G.; Song, H. Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain. *Cell*, 145, 423–434.
- Hallgrimsson, B.; Hall, B.K.(2011). *Epigenetics: Linking Genotype and Phenotype in Development and Evolution*; University of California Press: Oakland, CA, USA
- Hamsten A, Silveira A, Boquist S, et al. (2005). The apolipoprotein CI content of triglyceride-rich lipoproteins independently predicts early atherosclerosis in healthy middle-aged men. *J Am Coll Cardiol.*;45:1013–7.

Hashimoto, H.; Liu, Y.; Upadhyay, A.K.; Chang, Y.; Howerton, S.B.; Vertino, P.M.; Zhang, X.; Cheng, X. (2012). Recognition and potential mechanisms for replication and erasure of cytosine hydroxymethylation. *Nucl. Acids Res*, 40, 4841–4849.

Hashimoto, H.; Vertino, P.M.; Cheng, X. (2010). Molecular coupling of DNA methylation and histone methylation. *Epigenomics*, 2, 657–669.

Heianza Y, Arase Y, Tsuji H, et al. (2014). Metabolically healthy obesity, presence or absence of fatty liver, and risk of type 2 diabetes in Japanese individuals: Toranomon Hospital Health Management Center Study 20 (TOPICS 20). *J Clin Endocrinol Metab*;99:2952-2960.

Højland Ipsen D1, Tveden-Nyborg P1, Lykkesfeldt J1. (2016). Normal weight dyslipidemia: Is it all about the liver? *Obesity (Silver Spring)*. Mar;24(3):556-67

Hokanson, J.E.; Krauss, R.M.; Albers, J.J.; Austin, M.A.; Brunzell, J.D. (1995). LDL physical and chemical properties in familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 15, 452–459.

Hughes, V. (2013). The big fat truth. *Nature*. 2013 May 23;497(7450):428-30

Hutter MM, Schirmer BD, Jones DB, et al. (2011). First report from the American College of Surgeons Bariatric Surgery Center Network: laparoscopic sleeve gastrectomy has morbidity and effectiveness positioned between the band and the bypass. *Ann Surg*; 254: 410–20.

Hyun YJ, Koh SJ, Chae JS, et al. (2008). Atherogenicity of LDL and unfavorable adipokine profile in metabolically obese, normal-weight woman. *Obesity*;16: 784-789.

Innerarity, T.L.; Young, S.G.; Poksay, K.S.; Mahley, R.W.; Smith, R.S.; Milne, R.W.; Marcel, Y.L.; Weisgraber, K.H. (1987). Structural relationship of human apolipoprotein B48 to apolipoprotein B100. *J. Clin. Invest.*, 80, 1794–1798.

Hussain MM. (2012). The impact of phospholipid transfer protein (PLTP) on lipoprotein metabolism. *Nutr Metab (Lond)*. Aug 16;9(1):75 *Nutr Metab (Lond)*. Aug 16;9(1):75

Jones, P.A; Liang, G. (2009). Rethinking how DNA methylation patterns are maintained. *Nat. Rev. Genet*, 10, 805–811.

Karpe, F.; Dickmann, J.R.; Frayn, K.N. (2011). Fatty acids, obesity, and insulin resistance: Time for a reevaluation. *Diabetes*, 60, 2441–2449.

Katsuki A, Suematsu M, Gabazza EC, et al. (2006). Increased oxidative stress is associated with decreased circulating levels of adiponectin in Japanese metabolically obese, normal weight men with normal glucose tolerance. *Diabetes Res Clin Pract*;73:310-314.

Klop, B.; Jukema, J.W.; Rabelink, T.J.; Castro Cabezas, M. (2012). A physician's guide for the management of hypertriglyceridemia: The etiology of hypertriglyceridemia determines treatment strategy. *Panminerva Med*, 54, 91–103.

Kohli, R.M.; Zhang, Y. (2013) TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature*, 502, 472–479.

Kokkinos, P., et al., (2012). Physical Activity, Health Benefits, and Mortality Risk *Diabetes Care* 35, 1021

Kolovou GD, Kostakou PM, Anagnostopoulou KK, et al. (2008). Therapeutic effects of fibrates in postprandial lipemia. *Am J Cardiovasc Drugs*; 8:243–55.

- Krakauer, J. C. Krakauer.(2012). A new body shape index predicts mortality hazard independently of body mass index. *PLoS One*. 2012;7(7):e39504
- Krishnan V, et al. (2006). Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J. Clin. Invest*; 116:1202–1209.
- Kuivenhoven JA1, Hegele RA2. (2010) Mining the genome for lipid genes. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Oct;1842(10):1993-2009
- Kullberg J, Sundbom M, Haenni A, et al. (2011) Gastric bypass promotes more lipid mobilization than a similar weight loss induced by low-calorie diet. *J Obes*; 2011:959601.
- Kwon BJ, Kim DW, Her SH, et al. (2013). Metabolically obese status with normal weight is associated with both the prevalence and severity of angiographic coronary artery disease. *Metabolism*; 62, 952-960.
- Laurent, L.; Wong, E.; Li, G.; Huynh, T.; Tsirigos, A.; Ong, C.T.; Low, H.M.; Kin Sung, K.W.; Rigoutsos, I.; Loring, J.; Wei, C.-L. (2010) Dynamic changes in the human methylome during differentiation. *Genome Res*, 20, 320–331.
- Lee, J.Y.; Lee, T.H. (2012) Effects of DNA methylation on the structure of nucleosomes. *J. Am. Chem. Soc.*, 134, 173–175.
- Leibowitz MD, Fievet C, Hennuyer N, Peinado-Onsurbe J, Duez H, Bergera J, Cullinan CA, Sparrow CP, Baffic J, Berger GD, Santini C, Marquis RW, Tolman RL, Smith RG, Moller DE, Auwerx J. (2000). Activation of PPARdelta alters lipid metabolism in db/db mice. *FEBS letters*, 473(3):333-336.
- Liyanaage, V.R.B.; Zachariah, R.M.; Delcuve, G.P.; Davie, J.R.; Rastegar, M. New. (2012). *Developments in Chromatin Research: An Epigenetic Perspective*; Simpson, N.M., Stewart, V.J., Eds.; Nova Science Publishers: Hauppauge, NY, USA, ; pp. 29–58.
- Lomba A, Martínez JA, García-Díaz DF, Paternain L, Marti A, Campión J, et al. (2010). Weight gain induced by an isocaloric paired high fat diet: a nutriepigenetic study on FASN and NDUFB6 gene promoters. *Mol Genet Metab* 101: 273-2
- López, F., y Herrera, Miguel F. (2008). El papel actual del tratamiento quirúrgico. ¿Puede la cirugía curar enfermedades metabólicas? *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex*, vol.65, n.6, pp. 568-578.
- López-Jiménez F, Jacobsen SJ, Reeder GS, Weston SA, Meverden RA, Roger V.L. (2004). Prevalence and secular trends of excess body weight and impact on outcomes after myocardial infarction in the community. *Chest*;125:1205-12
- Mahley, R.W.; Ji, Z.S. (1999). Remnant lipoprotein metabolism: key pathways involving cell-surface heparan sulfate proteoglycans and apolipoprotein E. *J. Lipid Res* 40(1):1-16.
- Mamo, J.C.; Watts, G.F.; Barrett, P.H.; Smith, D.; James, A.P.; Pal, S. (2001). Postprandial dyslipidemia in men with visceral obesity: An effect of reduced LDL receptor expression? *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*, 281, E626–E632.
- Manolio T.A, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, McCarthy MI, Ramos EM, Cardon LR, Chakravarti A, Cho JH, Guttmacher AE, Kong A, Kruglyak L, Mardis E, Rotimi CN, Slatkin M, Valle D, Whittemore AS, Boehnke M, Clark AG, Eichler EE, Gibson G, Haines JL, Mackay TF, McCarroll SA, Visscher PM. (2009) Finding the missing heritability. *Nature* 461, 747-753

- Maunakea, A.K.; Chepelev, I.; Cui, K.; Zhao, K. (2013). Intragenic DNA methylation modulates alternative splicing by recruiting MeCP2 to promote exon recognition. *Cell Res.*, 23, 1256–1269.
- Millán J, Pintó X, Muñoz A, Zúñiga M, Rubiés-Prat J, Pallardo LF, et al. (2009). Lipoprotein ratios: Physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vasc Health Risk Manag.*;5:757-65.
- Nakae J1, Oki M, Cao Y. (2008). The FoxO transcription factors and metabolic regulation. *FEBS Lett.* Jan 9;582(1):54-67
- Ndlovu, M.N.; Denis, H.; Fuks, F. (2011). Exposing the DNA methylome iceberg. *Trends Biochem. Sci.*, 36, 381–387.
- Nieves DJ, Cnop M, Retzlaff B, et al. (2010). The atherogenic lipoprotein profile associated with obesity and insulin resistance is largely attributable to intra-abdominal fat. *Diabetes.*;52:172–9. of extremes. *Curr Opin Lipidol.* 2010 Apr;21(2):123-7
- Ooi, E.M.; Barrett, P.H.; Chan, D.C.; Watts, G.F. (2008). Apolipoprotein C-III: Understanding an emerging cardiovascular risk factor. *Clin. Sci. (Lond.)*, 114, 611–624.
- Packard, C.J. (2003). Triacylglycerol-rich lipoproteins and the generation of small, dense low-density lipoprotein. *Biochem. Soc. Trans.*, 31, 1066–1069.
- Pan, X.; Hussain, M.M. (2011). Gut triglyceride production. *Biochim. Biophys. Acta*, 1821, 727–735.
- Papapietro, K. (2012). Cirugía para la obesidad: efectos generales, beneficios y riesgos. *Revista Médica Clínica Las Condes*, Volume 23, Issue 2:189-195
- Peterson, J.; Bihain, B.E.; Bengtsson-Olivecrona, G.; Deckelbaum, R.J.; Carpentier, Y.A.; Olivecrona, T. (1990) Fatty acid control of lipoprotein lipase: a link between energy metabolism and lipid transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 909–913.
- Unger RH1, Scherer PE. (2010). Gluttony, sloth and the metabolic syndrome: a roadmap to lipotoxicity. *Trends Endocrinol Metab.* 2010 Jun;21(6):345-52
- Raal, F.; Scott, R.; Somaratne, R.; Bridges, I.; Li, G.; Wasserman, S.M.; Stein, E.A. (2012). Low-density lipoprotein cholesterol-lowering effects of AMG 145, a monoclonal antibody to proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 serine protease in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia: The reduction of LDL-C with PCSK9 inhibition in heterozygous familial hypercholesterolemia disorder (RUTHERFORD) randomized trial. *Circulation*, 126, 2408–2417.
- Rader DJ. (2006). Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies. *JClin Invest*; 116:3090–100.
- Ros E, Laguna JC. (2006). Tratamiento de la hipertrigliceridemia: fibratos frente a ácidos grasos omega-3. *Rev Esp Cardiol.* 2006;6(Suppl):52D-61D.
- Rose, N.R.; Klose, R.J. (2014). Understanding the relationship between DNA and histone lysine methylation. *Biochim. Biophys. Acta*,
- Ross SE1, Hemati N, Longo KA, Bennett CN, Lucas PC, Erickson RL, MacDougald OA. (2000). Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science.* 289:950–953.
- Rye KA, Barter PJ. (2014). Regulation of high-density lipoprotein metabolism. *CircRes*2014;114:143–56.
- Saez ME, Ramirez-Lorca R, Moron FJ, Ruiz A. (2006). The therapeutic potential of the calpain family: new aspects. *Drug Discov Today*, 11(19-20):917-923.

Sáez ME1, Grilo A, Morón FJ, Manzano L, Martínez-Larrad MT, González-Pérez A, Serrano-Hernando J, Ruiz A, Ramírez-Lorca R, Serrano-Ríos M. (2008). Interaction between Calpain 5, Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and Peroxisome proliferator-activated receptor-delta genes: a polygenic approach to obesity. *Cardiovasc Diabetol*. Jul 25;7:23 *Cardiovasc Diabetol*. Jul 25;7:23

Sawan Carla, Vaissière Thomas, Murr Rabih, Herceg Zdenko. (2008). Epigenetic drivers and genetic passengers on the road to cancer. *Mutation Research*, 642: 1-13.

Sharma, S.; de Carvalho, D.D.; Jeong, S.; Jones, P.A.; Liang, G. (2011). Nucleosomes containing methylated DNA stabilize DNA methyltransferases 3A/3B and ensure faithful epigenetic inheritance. *PLoS Genet.*, 7, e1001286.

Stirzaker C, Taberlay PC, Statham AL, Clark SJ. (2014). Mining cancer methylomes: prospects and challenges. *Trends Genet*. 30(2), 75–84

Tada H1, Won HH1, Melander O1, Yang J1, Peloso GM1, Kathiresan S2. (2014). Multiple associated variants increase the heritability explained for plasma lipids and coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Genet*. Oct;7(5):583-7

Taskinen MR, Nikkilä EA. (1979). Effects of caloric restriction on lipid metabolism in man: changes of tissue lipoprotein lipase activities and of serum lipoproteins. *Atherosclerosis*; 32:289–99

Taskinen, M.R.; Adiels, M.; Westerbacka, J.; Soderlund, S.; Kahri, J.; Lundbom, N.; Lundbom, J.; Hakkarainen, A.; Olofsson, S.O.; Orho-Melander, M.; et al. (2011) Dual metabolic defects are required to produce hypertriglyceridemia in obese subjects. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2011, 31, 2144–2150.

Tchernof, A.; Lamarche, B.; Prud'Homme, D.; Nadeau, A.; Moorjani, S.; Labrie, F.; Lupien, P.J.; Despres, J.P. (1996). The dense LDL phenotype. Association with plasma lipoprotein levels, visceral obesity, and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care*, 19, 629–637.

Thomas EL, Frost G, Taylor-Robinson SD, Bell JD. (2012). Excess body fat in obese and normal-weight subjects. *Nutr Res Rev*;25:150-161.

Tobi EW1, Lumey LH, Talens RP, Kremer D, Putter H, Stein AD, Slagboom PE, Heijmans BT (2009) DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Hum Mol Genet*. 1;18(21):4046-53

Tseng, C. H (2013). *Atherosclerosis* 226, 186 Vaissière T., Sawan C., Herceg Z. (2008). Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. *Mutation Research*, 659: 40-48.

van Straten EM, Bloks VW, Huijkman NC, Baller JF, van Meer H, Lütjohann D, Kuipers F, Plösch T. (2010). The liver X-receptor gene promoter is hypermethylated in a mouse model of prenatal protein restriction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 298:R275–R282

Villalobos, J., (2008) Las enfermedades crónicas no transmisibles en México sinopsis epidemiológica y prevención integral. *Salud Pública de México.*; 50 (5): 419-427.

Vucetic Z, Kimmel J, Totoki K, Hollenbeck E, Reyes TM. (2010). Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes. *Endocrinology* 151:4756–4764.

Waterland RA, Michels KB. (2007). Epigenetic epidemiology of the developmental origins hypothesis. *Annu Rev Nutr*; 27:363–388.

Whitlock et al G. (2009). Prospective Studies Collaboration, *Lancet* 373, 1083

WHO. WHO | Overweight and obesity.

http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight/en/index.html. (Consultado el día 11 de enero de 2016).

Wildman et al., (2008) Arch. Intern. Med. 168, 1617

WTCCC Collaborators (2007). Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. Nature. 447:661–78.

Yang, X.; Noshmehr, H.; Han, H.; Andreu-Vieyra, C.; Liang, G.; Jones, P.A. (2012) Gene reactivation by 5-aza-2'-deoxycytidine-induced demethylation requires SRCAP-mediated H2A.Z insertion to establish nucleosome depleted regions. PLoS Genet, 8, e1002604.

Zachariah, R.M.; Rastegar, M. (2012). Linking epigenetics to human disease and Rett syndrome: The emerging novel and challenging concepts in MeCP2 research. Neural Plast. 415825.

Zhu, M. (2007). Candidate Gene identification approach: Progress and Challenges. Int. J. Biol. Sci. 3 (7) 420-427