

# **Factores sociodemográficos, clínicos y metilación global del ADN asociados con obesidad en pacientes pediátricos.**

## **Estudiante**

Juan Manuel Alfaro Velásquez, M.D.

## **Director de Tesis**

Rodrigo Antonio Urrego Álvarez, PhD

## **Comité tutorial**

Piedad Matilde Agudelo Flórez, PhD  
Elsa María Vásquez Trespacios, PhD  
Rodrigo Antonio Urrego Álvarez, PhD

**Línea de Investigación Patología  
Grupo Ciencias Básicas  
Doctorado en Ciencias de la Salud  
Escuela de Graduados  
Universidad CES**

**Medellín**

2021

## Tabla de Contenido

Dedicatoria.....	4
Agradecimientos.....	5
Resumen.....	6
Formulación del problema.....	9
Justificación.....	12
Pregunta de investigación.....	13
Marco teórico de aproximación al tema.....	14
Introducción.....	14
Factores clínicos asociados a obesidad pediátrica.....	14
Factores sociodemográficos asociados a obesidad pediátrica.....	16
Epigenética.....	17
Metilación del ADN.....	17
Modificación de las histonas.....	20
ARN no codificantes.....	21
Metilación del ADN y obesidad pediátrica.....	21
Metilación del ADN y obesidad por enfermedad de impronta.....	22
Metilación del ADN y ambiente feto neonatal.....	23
Metilación del ADN y medio ambiente posnatal.....	26
Glosario.....	32
Objetivos.....	36
Objetivo general.....	36
Objetivos específicos.....	36
Artículo de revisión.....	42
Capítulo 1. Caracterizar factores clínicos, sociodemográficos del nacimiento y los cambios en la composición corporal de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica entre julio 1 de 2008 a junio 30 de 2018 (Clínica CES de la ciudad de Medellín Colombia) .....	55

Capítulo 2. Evaluación de metilación global del ADN en el desarrollo de obesidad infantil, mediante microarreglos de metilación .....	67
Capítulo 3. Variables durante el desarrollo de obesidad pediátrica y aportes a un modelo predictivo .....	94
Discusión general .....	115
Conclusiones.....	119
Perspectivas.....	123
Indicadores de producción unidas a ejecución de la tesis doctoral.....	124
Anexos.....	134

## **Dedicatoria**

A la paciencia y la perseverancia, condiciones necesarias en el desarrollo de tesis doctorales; ambas, consideradas virtudes, son resultado de mis principios, mis lazos familiares y mi profesión.

A mi madre, toda la tesis (humildad, sencillez y silencio); a mi padre, todo el trabajo (método, lectura y análisis); a mi esposa Margarita e hijos quienes amorosamente siempre preguntaron por mi bienestar y dieron sosiego en la ansiedad, paciencia en el fracaso, olvido en las desavenencias y refugio en la tormenta.

A mi profesión de educador que me permitirá seguir viviendo como tal.

Sumo dedicatoria al departamento de Pediatría y Puericultura de la Universidad de Antioquia, a la Universidad CES, a la Clínica CES, a mis docentes de la infancia, a la Escuela de Graduados de la Universidad CES, a mi coordinadora de programa Dra. Piedad Agudelo, a mi tutor Dr. Rodrigo Urrego, a mi cotutora Dra. Elsa María Vásquez, al amor por la naturaleza y a mí práctica médica, silente compañera.

Por último, dedicatoria especial al Dr. Ricardo Posada Saldarriaga, MD., amigo, paciente colaborador y alma de la Facultad de Medicina de la Universidad CES.

## **Agradecimientos**

A mis amigos y alumnos durante el desempeño como Endocrinólogo Pediatra.

A los pacientes de la Clínica CES.

A mis compañeros de trabajo en la Facultad de Medicina de la Universidad CES y en el Departamento de Pediatría y Puericultura de la Universidad de Antioquia.

A la Dra. Viviana Torres y su amor a la enseñanza.

A la Dra. Nélide Rodríguez por su invaluable colaboración.

A la Escuela de Graduados de la Universidad CES por su ayuda económica.

A mis amigos y compañeros de doctorado, Cecilia y León Darío.

A la Dra. Carolina Henao Ochoa, MD., por su soporte incondicional.

A la enfermera jefe Paula Acevedo de la Clínica CES.

A la Dra. Laura Jaramillo E, MD., por su paciencia.

A los revisores de tesis por su colaboración.

## Resumen

La obesidad es un desorden inflamatorio crónico que depende de un balance equivocado entre el exceso de energía y su gasto, secundaria a errores en la interacción del individuo con el medio ambiente y relacionada con mayor riesgo de muerte temprana en la vida adulta. En niños hace parte de las enfermedades crónicas no transmisibles y se considera problema de salud creciente por sus comorbilidades; su enfoque clínico y de salud pública la sitúa como enfermedad y como factor de riesgo. En Colombia la prevalencia de obesidad infantil está en incremento a relacionar con nuevas dinámicas derivadas de la industrialización, la urbanización y la tecnificación de la sociedad.

El objetivo fue reconocer algunos factores sociodemográficos y clínicos en obesidad infantil y desarrollar conocimiento sobre el metiloma obesogénico considerando en su origen influencias ambientales, además de evaluar características de morbilidad gestacional y de peso al nacer. Se hace seguimiento al cambio del índice de masa corporal de niños menores de 18 años. Se comparó metiloma entre obesos y no obesos.

Se hizo caracterización descriptiva de los antecedentes gestacionales de las madres incluyendo el registro del peso al nacer y la edad gestacional, información recolectada en formulario diligenciado por endocrinólogo pediatra; se determinó el cambio anual del índice de masa corporal. Se determinaron características de química analítica de todos los participantes evaluando los niveles de lípidos en sangre, la glicemia y el perímetro de cintura.

La metilación del ADN se determinó empleando la plataforma Illumina Infinium MethylationEPIC. Se establecieron seis grupos de comparación con alto grado de mestizaje: nacidos de bajo peso que desarrollan obesidad vs nacidos de peso normal que no desarrollan obesidad, obesos nacidos de peso normal vs niños nacidos de peso normal que no desarrollan obesidad, niños que no desarrollan obesidad según peso al nacer, niños que desarrollan obesidad según peso al nacer, nacidos de bajo peso que desarrollan obesidad vs nacidos de bajo peso no obesos

y por último, nacidos de peso normal que desarrollan obesidad vs nacidos de bajo peso que no la desarrollan. Los resultados se interpretaron aplicando bibliotecas R y RStudio y empleando valor de p de alta confiabilidad ( $<0,01$ ) normalizados por FDR.

La principal característica clínica y sociodemográfica asociada al desarrollo de obesidad se encontró en nacidos de peso adecuado y se relaciona con incremento acelerado del índice de masa corporal desde temprana edad ( $p=0,042$ ); la posibilidad de desarrollar síndrome metabólico pediátrico se asoció con hipertrigliceridemia y bajas concentraciones de colesterol ligado a proteínas de alta densidad ( $p<0,05$ ). Según el peso al nacer, 9 sitios CpG ( $p<0,05$ ) tienen diferencias significativas de metilación del ADN durante el desarrollo de obesidad, ocho en el cuerpo de los genes *DBH* ( $FDR<0,05$ ), *TYRO3* ( $FDR<0,05$ ), *SMYD3*, *ARHGAP17*, *SETBP1*, *SPG21*, *MTF2* y *ZNF117* y uno en una isla CpG del gen *PPP2R5C*; adicionalmente entre obesos y no obesos, tres sitios CpG cumplen con esta característica ( $p<0,05$ ), uno en el cuerpo del gen *PER3*, uno en el cuerpo del gen *PTPRS* y uno en una isla CpG del gen *PER3*.

En nuestro estudio se encontró diferencia estadística significativa en los sitios cg pertenecientes al cuerpo de los genes *DBH*, *TYRO3* y *SMYD3* entre niños obesos nacidos con bajo peso al compararlos con sanos y diferencia estadística significativa en los sitios cg del cuerpo de los genes *ARHGAP17* y *SETBP1* en niños obesos nacidos con peso normal al compararlos con sanos.

Las características de metilación diferencial en sitios cg encontradas se relacionan con genes de inflamación sistémica (*TYRO3*), proliferación de adipocitos (*ZNF117*), resistencia a la insulina (*TYRO3*, *DBH*, *SMYD3*, *SPG21*), elevación del índice de masa corporal (*SMYD3*, *ARHGAP17*, *SETBP1*), hígado graso no alcohólico (*PPP2R5C*), incremento de la masa hepática (*ZNF117*), lipotoxicidad inducida por la dieta (*MTF2*), disrupción de ritmos circadianos (*PER3*), síndrome metabólico (*TYRO3*) y riesgo anticipado de diabetes tipo 2 (*PTPRS*), observaciones no reportadas en población pediátrica colombiana.

Esta tesis doctoral concluye que el incremento anticipado y pronunciado del índice de masa corporal es el antecedente clínico predominante en el desarrollo de obesidad infantil; al respecto, se deben procurar medidas de control a los condicionamientos obesogénicos inducidos por la sociedad una vez se registran cambios acelerados de la composición corporal. Pone en consideración que niños

obesos con antecedentes de condiciones prenatales adversas reconocidas por el bajo peso al nacer tienen 4 sitios cg diferencialmente metilados (cg14007688 en *DBH*, cg19169023 en *TYRO3*, cg04798314 en *SMYD3* y cg03730546 en *ZNF117*), diferentes a los encontrados en obesos nacidos con peso normal (cg02037122 en *ARHGAP17*, cg11201297 en *SETBP1*, cg23439621 en *PPP2R5C*, cg25878395 en *SPG21* y cg17669433 en *MTF2*); en ambos grupos los sitios cg están principalmente en el cuerpo del gen y deben ser considerados parte del mapa epigenético de la obesidad infantil.

Finalmente, cambios en las rutinas de alimentación interfieren con la armonía epigenética del sistema circadiano alterando la metilación de genes regulatorios como *PER3* (cg04917262 y cg08764927); la hipometilación encontrada en el cuerpo de *PTPRS* (cg23022034) debe ser confirmada en caso de que sus resultados se correspondan en el futuro con el desarrollo de diabetes tipo 2.

En este trabajo se encontraron sitios diferencialmente metilados en el cuerpo de los genes *DBH*, *TYRO3* y *SMYD3* entre niños nacidos con bajo peso y sanos. Este es el primer reporte en donde se encuentran dichas diferencias en estos genes en una población latinoamericana con un alto índice de mestizaje. Quizá la metilación diferencial entre estos genes pueda ser utilizada como marcador de obesidad en niños nacidos con bajo peso de ascendencia latina, para lo cual sugerimos nuevos experimentos.

En suma, se avanzó en el conocimiento de las características sociodemográficas y epigenéticas de la obesidad en niños colombianos aportando información para la elaboración de un modelo predictivo de obesidad infantil.

## Formulación del problema

La obesidad es un padecimiento crónico por expansión global del tejido blanco adiposo con características de estado inflamatorio perenne (1). Es definida como el exceso en los depósitos de grasa por desequilibrio entre el consumo y el gasto de energía, comúnmente causada por interacción entre factores ambientales y susceptibilidad genética (2).

La obesidad se comporta como enfermedad primaria y como factor de riesgo (3) pero por las características del impacto sanitario se le define como enfermedad. En pediatría al igual que en adultos, es una nosología compleja y multifactorial relacionable con pérdida del estado de salud por complicaciones metabólicas y de órgano blanco; entre estas, anticipada intolerancia a la glucosa, alteración de los niveles de lípidos en sangre, conformación de hígado graso no alcohólico (HGNA) y desarrollo de síndrome metabólico (SM) (4).

En los últimos 40 años la obesidad ha alcanzado impacto de epidemia sin excluir a los niños. Como enfermedad está determinada por el resultado de la interacción entre un agente ambiental y un individuo susceptible; en este caso, el componente ambiental es multifactorial considerando entre otros a la dieta, los alimentos ultra procesados altamente palatables, la inactividad física, el estrés, las anomalías del sueño y la tecnificación de la sociedad. Las características del individuo susceptible se exploran con mecanismos genéticos y epigenéticos (3).

En 1975 menos del 1% de los niños y adolescentes eran obesos; el incremento mundial de su prevalencia en los últimos 30 años ha pasado de 0,7% a 5,6% en niñas y de 0,9% a 7,8 % en niños (3), alcanzando en el 2020 la cifra de 124 millones de niños con sobrepeso-obesidad y una predicción a 2030 de 254 millones de obesos en el grupo de 5 a 19 años (5). Si bien la obesidad ha sido insistentemente relacionada con el excesivo consumo de calorías junto con un estilo de vida sedentario, condiciones como el cambio de la microbiota intestinal, la deficiencia de micronutrientes y la disrupción endocrina derivada de epifenómenos o de efectos epigenéticos alteran el balance de energía (5, 6).

La valoración de los mecanismos genéticos y epigenéticos en obesidad son un punto de investigación con el objeto de proponer intervenciones para su control.

Desde el punto de vista genético, la consideración étnica y de ancestría debe ser involucrada en su evaluación dado que no se cuenta con un mapa definitivo de los genes que determinan o participan en su desarrollo (6). La epigenética como factor etiológico aporta tanto cambios en la metilación del ADN como modificación sobre las histonas; un primer paso se da determinando los cambios de metilación del ADN en células del cordón umbilical en hijos de madres con alteración del índice de masa corporal (IMC) y consecuente con esto, nuevas observaciones postnatales y a través de la infancia-adolescencia se han venido considerando (6, 7).

En Colombia y según el último reporte de la tercera encuesta nacional de la situación de salud 2015, la prevalencia de sobrepeso-obesidad se incrementó en todas las edades pediátricas; en el contexto regional con reportes para ciudades capitales como Medellín, Bucaramanga y Bogotá, hay creciente desarrollo de obesidad y de sus comorbilidades entre jóvenes (8-11). Por ende, un objetivo de tesis doctoral es describir los factores sociodemográficos y clínicos que la relaciona y seguidamente, reconocer la metilación global del ADN.

Este informe final de tesis comprende tres capítulos. Previo a su desarrollo se hace formulación y justificación del problema más la exposición del marco teórico complementado con un artículo de revisión que relaciona obesidad y ciclo circadiano. El cierre comprende discusión general, conclusiones, perspectivas y anexos.

El primer capítulo explora la caracterización de factores clínicos y sociodemográficos asociados al desarrollo de obesidad de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta de endocrinología pediátrica. El aporte al conocimiento se considera al relacionar si a partir de los 4 años de edad los factores sociodemográficos y clínicos se corresponden con antecedentes gestacionales y en particular si se responde la pregunta ¿el cambio del índice de masa corporal (IMC) se correlaciona con el antecedente del peso al nacer y con el desarrollo de síndrome metabólico pediátrico (SMP)?

El segundo capítulo explora la metilación global de ADN en niños que desarrollan o no obesidad a partir de los 4 años de edad bajo 6 unidades de análisis:

- Grupo 1 (PO vs S): comparación entre nacidos de bajo peso que desarrollan obesidad vs nacidos de peso normal que no la desarrollan.

- Grupo 2 (NP vs S): comparación entre obesos nacidos de peso normal vs niños nacidos de peso normal que no la desarrollan.
- Grupo 3 (SP vs S): comparación entre niños que no desarrollan obesidad según peso al nacer.
- Grupo 4 (PO vs NP): comparación entre niños que desarrollan obesidad según peso al nacer.
- Grupo 5 (PO vs SP): comparación entre nacidos de bajo peso que desarrollan obesidad vs nacidos de bajo peso no obesos.
- Grupo 6 (NP vs SP): comparación de nacidos de peso normal que desarrollan obesidad vs nacidos de bajo peso que no la desarrollan.

Este trabajo aporta al conocimiento al responder al interrogante ¿cuál es el patrón de metilación del ADN de un grupo poblacional colombiano que desarrolla obesidad infantil?; de la misma manera se hace una aproximación hacia un componente etiológico de la obesidad al responder la pregunta, ¿existen diferencias en el patrón de metilación del ADN de niños que desarrollan obesidad según el peso al nacer y cuales genes son candidatos a ser influenciados por el medio ambiente?; al respecto, se incluyen resultados de metilación del ADN para un gen del ciclo circadiano y para el gen que codifica el receptor tipo sigma de la familia de receptores de la proteína tirosina fosfatasa.

En el tercer capítulo se exploran las variables que mejor expliquen el desarrollo de obesidad pediátrica. Se plantea un análisis de las variables clínicas y sociodemográficas con valor p significativo en la exploración de obesos vs sanos y se complementa con los sitios de metilación variable que cumplan con valores estadísticos de significancia. Los aportes de estas dos exploraciones se sugieren como insumos para el desarrollo de un modelo predictivo en obesidad infantil.

## Justificación

Identificar factores relacionados con el desarrollo de sobrepeso-obesidad en niños beneficia el conocimiento epidemiológico del trastorno, sus opciones etiológicas, su comportamiento poblacional y su terapéutica. El sobrepeso-obesidad es factor de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2 (DM<sub>2</sub>), dislipidemia, cardiopatía isquémica, hipertensión arterial, morbilidad osteoarticular y algunas formas de cáncer (12). Su inicio durante la infancia-adolescencia se puede considerar factor antecedente.

Como ocurre en América Latina, Colombia no ha sido la excepción en la pérdida de la cultura alimentaria tradicional adoptando alta accesibilidad a alimentos y a bebidas procesadas de elevado contenido energético y de bajo costo. En el país desde el año 2000 la proporción de niños de 5 a 19 años con sobrepeso se eleva de un 10% a casi el 20% con predominio en población que emplea su tiempo libre en rutinas relacionadas con los cambios tecnológicos recreativos, el grado de urbanización, la industrialización y de una u otra manera, con menor gasto de energía.

Si el riesgo de sobrepeso en Colombia es de 20,2 % para niños de 0-4 años, de 18,9 % para niños de 5 a 9 años y de 16,7 % para edades de 10 a 17 años y, el gasto incurrido al sistema de seguridad social para el manejo de la relación sobrepeso-obesidad llega a \$ 1,2 billones al año (5% de un estimado global de 30 billones), la investigación en estrategias de prevención junto al especial interés en la salud neonatal invitan a profundizar en un nuevo modelo fisiopatológico relacionable con sus comorbilidades (13). Por lo tanto, es necesario estudiar en nuestras condiciones cuales son los factores clínicos, sociodemográficos y epigenéticos que influyen en el desarrollo de la obesidad.

## **Pregunta de investigación**

¿Cuáles son los factores sociodemográficos, clínicos y qué patrones de metilación global del ADN están relacionados con la obesidad en pacientes pediátricos colombianos atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica?

## **Marco teórico de aproximación al tema**

### **Introducción**

La obesidad es una enfermedad crónica no trasmisible (ECNT); en los niños es una enfermedad compleja de origen multifactorial donde los estilos de vida, el ambiente intrauterino y la epigenética participan como factores etiológicos (1, 3). Su presencia a los 4 años de edad genera un 20% de posibilidad de persistir para la vida adulta y si persevera hasta la adolescencia, podrá ser del 80%; este acelerado avance establece relación con antecedentes de bajo peso al nacer, nuevas condiciones ambientales extrauterinas y la epigenética.

A partir de los 5 años de edad la obesidad se determina por el valor del IMC (peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura en metros) (14); reconocer previo a su desarrollo un acelerado incremento del peso (sobrepeso) es determinante en planificar medidas de promoción y prevención. En Colombia, la prevalencia de sobrepeso en el 2010 para niños de 5 a 17 años fue del 13,4 % con predominio en el sexo femenino y mayoritariamente residentes urbanos de estratos 3 y 4 según el Sistema de Selección de Beneficiarios para Programas Sociales (SISBEN); en el departamento de Antioquia la prevalencia de obesidad es del 4,6 % y en Medellín del 4,9 %, siendo el acumulado nacional del 4,1 % (15).

### **Factores clínicos asociados a obesidad pediátrica.**

La obesidad pediátrica es una enfermedad multifactorial caracterizada por el consumo de alimentos hipercalóricos e industrializados de bajo costo y con pocos micronutrientes; se relaciona con menor práctica de lactancia materna, inoportuna introducción de la alimentación complementaria, irregularidades en los horarios para las comidas, menor práctica de ejercicio aeróbico, cambios en la vida laboral de los padres, ambiente obesogénico familiar (padres obesos) y dependencia de estimulación lumínica por interacción con nuevas tecnologías (15). En Colombia, determinar estas características permite la adopción de medidas para su control, atención y prevención (13), algunas de ellas reconocidas en el documento del Consejo Nacional de Política Económica y Social (CONPES 2015-2025) (13) al catalogarla como ECNT de atención especial junto a las enfermedades maternas y perinatales incluyendo los niños nacidos con bajo peso (BPN).

La obesidad en pediatría se asocia con dislipidemia, hipertensión arterial, alteración de tolerancia a la glucosa, discriminación social, baja autoestima, pobres resultados académicos y limitaciones funcionales, físicas y psicosociales (12); como estado inflamatorio perenne y sin control, lleva a diabetes tipo 2 (DM<sub>2</sub>), esteatosis hepática no alcohólica, apneas obstructivas durante el sueño, deslizamientos epifisarios de la cabeza femoral, síndrome de ovario poliquístico, litiasis vesicular, alteraciones del desarrollo puberal y SMP entre otros (12).

El conocimiento de los factores de riesgo en el desarrollo de obesidad permite establecer medidas para su prevención y para un diagnóstico anticipado; el BPN es un factor en su desarrollo, fuertemente relacionado con las características de morbilidad materna (medio ambiente materno-fetal) y con capacidad de generar relaciones fisiopatológicas comúnmente denominadas “programación fetal” (16-18). Esta adaptación a condiciones adversas desde etapas del desarrollo estructural o funcional de algunos órganos determina nuevas reglas de ajuste para la vida extrauterina.

En pediatría la morbilidad materna relacionada con BPN involucra el consumo de tabaco durante la gestación, el embarazo múltiple, la baja talla materna, la hipertensión desarrollada durante la gestación y la hemorragia gestacional; otras características de interés son la edad materna, el número de embarazos, el número de abortos y el orden de la paridad. El conjunto de estos eventos y algunos de connotación social como el estado marital, los ingresos económicos y el grado de escolaridad se suman en su etiología. El BPN en niños a término refleja la condición de salud fetal dependiente de características nutricionales maternas y de la función placentaria entre otras (19).

En Colombia, los nacimientos con bajo peso corresponde con peso menor o igual de 2499 gramos, recomendación sugerida por el Instituto Nacional de Salud (2016) y ratificada por el protocolo de vigilancia en salud pública, grupo de enfermedades no transmisibles (20); en el país su prevalencia es del 8,1 % para el 2006 (21), 8,9 % para el 2013 (22) y 8,7 % para el 2014 (20). En el mundo, 20 millones de nacimientos al año son niños de bajo peso, mayoritariamente en países en desarrollo; para la UNICEF, la prevalencia a 2005 era del 14% y en América latina del 9%.

Desarrollar obesidad y nacer con bajo peso son eventos clínicos individuales que pueden compartir implicaciones en el deterioro de la salud; la combinación de restricción del crecimiento fetal con o sin prematurez, evaluada desde el punto de

vista metabólico en edad escolar-adolescencia, tiene riesgo de pérdida de la tolerancia a la glucosa y de SMP, observación que frecuentemente se acompaña de crecimiento compensatorio posnatal acelerado en los primeros 5 años de vida. A partir de las observaciones de Hales & Barker (1992) (metabolismo ahorrador o “fenotipo ahorrador”) (23), se reconoce que el antecedente de BPN es proclive a cambios en la composición corporal incrementando el IMC y el depósito de grasa central o intrabdominal.

### **Factores sociodemográficos asociados con obesidad pediátrica.**

La obesidad se relaciona con los hábitos alimentarios y los estilos de vida, condiciones que inician en el entorno de la familia y que dependen en última instancia del individuo, la cultura y sus raíces ancestrales.

El balance acumulativo de energía se ha vuelto frecuente y está determinado por sistemas económicos y sociales que rigen las culturas, punto de confluencia para desarrollar “ambientes obesogénicos” (19); a temprana edad, estos ambientes se caracterizan por dietas hipercalóricas altamente palatables introducidas antes de los 6 meses de vida más la ablactación temprana; ya para los 4 a 11 años de edad se eligen los entornos y se relacionan estas características con la información ancestral de genes ahorradores destinados a favorecer la formación de depósitos de grasa; el riesgo se incrementa si en el hogar hay tendencia al consumo de bebidas azucaradas, ingesta de comidas de fácil preparación y rápido consumo (*fast food*), alimentarse durante momentos de esparcimiento frente a pantallas y si se prefiere omitir el desayuno; se consideran adicionales un menor número de encuentros intrafamiliares para las comidas y el bajo consumo de frutas y verduras.

Las condiciones nutricionales son influenciadas por genes favorecedores de la formación de depósitos de grasa, especialmente si se cuenta con periodos donde hay excedentes alimentarios; este factor ancestral sociodemográfico está documentado en pueblos mesoamericanos y amerindios sobrevivientes de la migración milenaria desde Asia (incluye indígenas de Suramérica) (24) y es correspondiente con la selección natural de genes ahorradores, ahora expuestos a dimensiones de abundancia (p.e. pueblo Pima de Arizona) (25). Al respecto, el componente de ancestría de la población de Antioquia y Medellín resulta de la mezcla entre nativo americano, caucásico europeo y negro de la costa oeste africana (26), punto de partida de nuevas opciones al determinar el comportamiento del cambio del IMC.

## Epigenética

La epigenética estudia los mecanismos que regulan los cambios en la expresión de los genes sin modificar la secuencia de nucleótidos del ADN, cambios que pueden ser mitótica y meióticamente heredables (27). El concepto “epigenoma” relaciona el conjunto de eventos con capacidad de modular la estructura de la cromatina sin alterar el ADN. Los procesos epigenéticos relacionan el medio ambiente con la expresión de los genes a lo largo de la vida; los cambios epigenéticos desempeñan papel en el desarrollo de enfermedades inflamatorias, cáncer y obesidad (5, 28-, 30). Las principales marcas epigenéticas que conforman el epigenoma son:

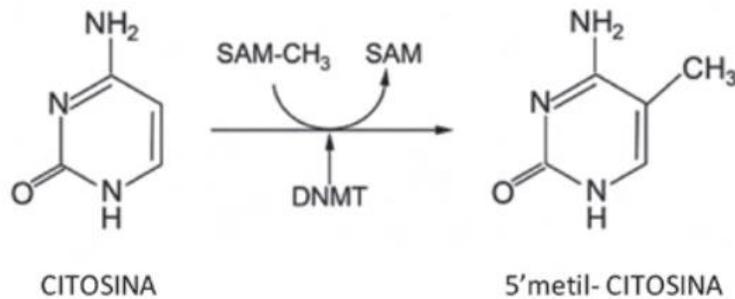
1. Metilación del ADN o adición de grupos metilo sobre el carbono 5 de las citosinas con efecto generalmente de silenciamiento sobre la expresión génica.
2. Modificación covalente de las histonas en la región N-terminal con efectos variables en la transcripción.
3. Acción por ARN no codificantes (ARNnc) con funciones regulatorias de la expresión génica.
4. Hidroximetilación del ADN.
5. Alteraciones de la compactación y el plegamiento de la cromatina o variaciones en la eucromatina y en la heterocromatina.
6. Procesos de remodelación de la cromatina por ATP, complejo Polycomb y Trithorax

Los procesos epigenéticos derivados de un mayor impacto ambiental son la metilación del ADN, la modificación de histonas y el papel de los ARNnc.

### Metilación del ADN.

La metilación del ADN toma lugar por las ADN metiltransferasas (DNMTs) al introducir un grupo metilo de la S-adenosil-L-metionina (SAM) al carbono 5' de la citosina por medio de una ADN metiltransferasa (Fig. 1); en mamíferos, estas intervenciones se inician en oocitos y en embriones tempranos (etapas de mayor

plasticidad del ADN o de reprogramación epigenética) (27, 31) y se continúan durante el desarrollo prenatal, la pubertad y el envejecimiento.



**Figura 1. Incorporación del grupo metilo a las citosinas.** Representación de la unión covalente del radical metilo al carbono 5' de las citosinas mediante ADN metiltransferasa (DNMT). Tomado de Aguilera C. et al (31).

La metilación de citosinas es común a procariontes y eucariotes (31) modificando la unión entre proteínas y el ADN y actuando sobre los factores transcripcionales con frecuente efecto de silenciamiento. Son 5 los miembros de la familia ADN metiltransferasas con funciones específicas; DNMT1 preserva la metilación durante la fase S del ciclo celular (mantenimiento de metilación durante el copiado del ADN); DNMT3A y DNMT3B neometilan durante el desarrollo embrionario expresándose masivamente en células madre embrionarias; DNMT3L participa catalizando acciones de DNMT3A y DNMT3B; DNMT2 relacionada con la metilación del ARN (29).

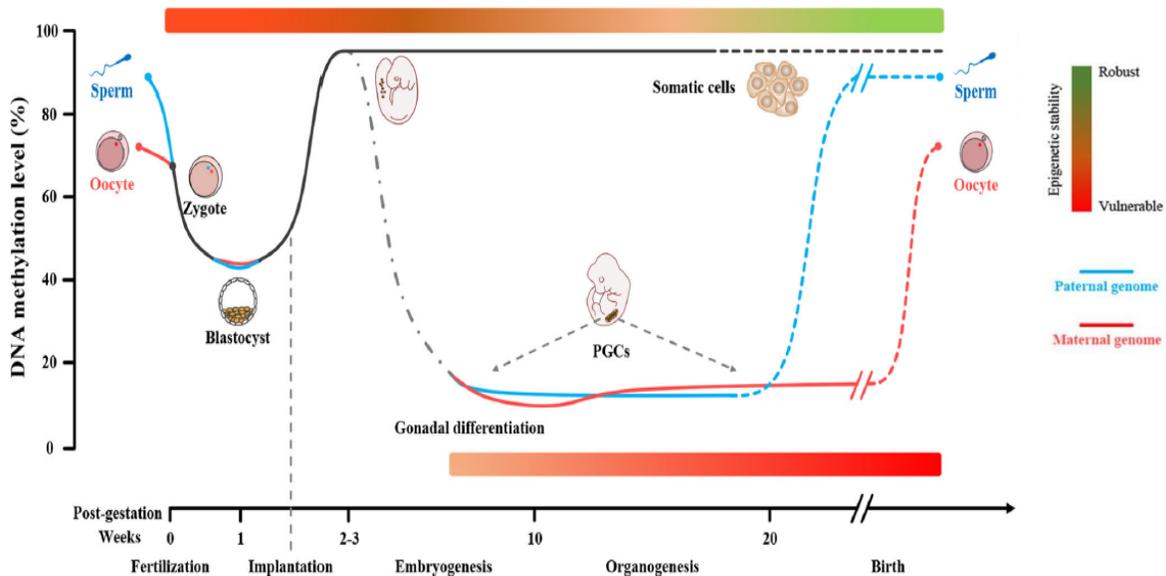
En tres escenarios hay pérdida de acción de los factores de transcripción sobre el ADN si las citosinas están metiladas (5mC):

1. Por interferencia sobre secuencias CpG de sitios de reconocimiento de factores transcripcionales. Los factores transcripcionales son proteínas que reconocen secuencias precisas del ADN en las regiones reguladoras de los genes; los principales factores transcripcionales son:
  - E2F. Factor transcripcional regulador de genes del inicio de la fase S del ciclo celular o fase de síntesis del ADN.
  - CREB. Proteína de unión a secuencias de ADN del tipo cAMP (del inglés “*cAMP response element-binding*”).
  - AP2. Proteína de unión al ADN nucleosomal.
  - cMyc. Fosfoproteína nuclear para la activación transcripcional.

- NFkB. Proteína citoplasmática involucrada en la transcripción de genes durante la proliferación celular.
2. Por bloqueo (interferencia) al acceso de factores transcripcionales a sitios CpG metilados cuando estos son ocupados por complejos proteicos que aíslan a los elementos reguladores; estos complejos proteicos tienen dominios conservados de unión al ADN metilado llamados MBD (del inglés "*methyl binding domain*"); entre estas están la proteína MeCP2 (proteína con dominio funcional para unión a sitios CpG metilados) y las isoformas de la familia MBD.
  3. Por acción de las proteínas MBD que reclutando represores desacetilan residuos de lisina de las histonas condensando la cromatina y cerrando el acceso a factores transcripcionales en los promotores de los genes.

La metilación global se registra en residuos de citosina individuales o en zonas de agrupamiento denominadas islas; las islas son regiones con más de 200 pb, alto contenido de secuencias CG, bajos niveles de metilación y para el 60% de los genes, ubicadas en sus promotores (31); las zonas individualmente metiladas están en áreas intergénicas e intragénicas. Si bien el número individual de dinucleótido CpGs en mamíferos es bajo, su metilación es alta en los tejidos somáticos con densidad aproximada del 70% (32); si se analizan solo islas CpG, estas permanecen globalmente hipometilados en las células germinales, especialmente durante las primeras etapas del desarrollo embrionario; estas condiciones permiten apertura de la cromatina y con ello de la expresión génica (33). En su mayoría, las islas se relacionan con promotores, potenciadores y silenciadores.

En mamíferos, durante la generación de nuevas células germinales y durante la pre implantación del embrión, el patrón de metilación global es primero borrado y luego restablecido (29). El producto embrionario hipometilado hace remetilación completa durante la embriogénesis acompañando a la diferenciación celular (nueva programación tejido específica), figura 2 (34).



**Figura 2. Comportamiento de la metilación humana durante la gametogénesis y la embriogénesis considerando células somáticas y germinales.** Entre la 2ª y 3ª semana gestacional las células germinales primordiales (PGCs) se demetilan consecutivamente por 10 semanas; a partir de la semana 20, los varones inician la remetilación alcanzando un nivel casi completo al final del embarazo y manteniéndose estables hasta poco antes de la fertilización; los oocitos se remetilan posnatalmente con incremento gradual hasta el mismo periodo preconcepcional, aunque con menores niveles que los espermatozoides. Previo a la fertilización (oviducto) cada gameto inicia leve demetilación que se acelera después de la fertilización (cigoto) siendo intensa en la etapa de blastocisto temprano, más acentuada para el genoma paterno; seguidamente se inicia la metilación *de novo* incluyendo células somáticas las que conservarán su patrón hasta la adultez (metilación estable). La línea azul representa el genoma paterno. La línea roja el genoma materno. La línea discontinua gris indica células somáticas maduras. El cambio de color de rojo a verde califica la estabilidad epigenética (el rojo representa la mayor inestabilidad; el verde asegura la estabilidad). Tomado de Li et al (2019) (34).

La metilación tejido-específico frecuentemente se relaciona con regiones genómicas de baja densidad de CpG cercanas a islas CpG, cumpliendo funciones de inactivación (*CpG shores*); la metilación CpG sobre el cuerpo del gen o “*gene body*”, en exones diferentes al 1, intrones y región 3’ no traducida, se relaciona mayoritariamente con promotores alternativos y potenciadores entre otros (31, 32).

### Modificación de Histonas.

Las modificaciones covalentes de las colas de las histonas cumplen funciones de regulación génica con efectos variables transcripcionales según sea el cambio post-traduccional inducido (acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinación, sumoilación y ribosilación) (35). Tales modificaciones tienen además funciones conformacionales de la cromatina (nucleosomas), participan en la reparación y

replicación del ADN e intervienen en las zonas de rupturas alternativas y de condensación cromosómica (35).

Este efecto dinámico se realiza a través de enzimas destinadas a catalizar las reacciones: las afines a sitios específicos son las metiltransferasas (HMTs), las desmetilasas (HDMTs) y las quinasas (36); las que modifican más de un residuo influyendo sobre otras proteínas no histonas son las acetiltransferasas (HATs) y las desacetilasas (HDACs) (36). En general, la acetilación de las histonas se relaciona con activación de la transcripción en tanto que la metilación con efectos variados según la histona relacionada, el tipo (numero) de radical(es) adicionado(s), el residuo modificado y si tal modificación ocurre en sitios simultáneos. La heterogeneidad posible es lo que se define como el “código de las histonas” (papel funcional diferencial) (37).

ARN no codificantes.

Los ARNnc (no codificantes) son moléculas funcionales de ARN que no se traducen en proteína, pero participan en la regulación de la expresión génica con efectos variables, predominantemente inhibitorios (silenciamiento) o de degradación a mRNA (clivaje) (35).

Su accionar es reconocido en tumorigénesis (“*oncomirs*”) (38), DM<sub>2</sub>, diferenciación celular, inflamación, respuesta a estrés, proliferación, apoptosis y desarrollo embrionario y tisular (38); proceden de secuencias de ADN o “genes” para ARN no codificantes. Comprenden los ARN pequeños interferentes (ARNsi del inglés “*small interfering RNA*”), los micros ARNs (miARNs con 20 a 30 nucleótidos), los ARNnc largos (lncARN), los siRNAs y los Piwi-interactivos (piRNAs del inglés “*Piwi-interacting RNA*”). Los miARNs unidos a mRNA han sido reconocidos como interferentes (represión traduccional) y relacionados con cáncer y obesidad (39).

### **Metilación del ADN y obesidad pediátrica**

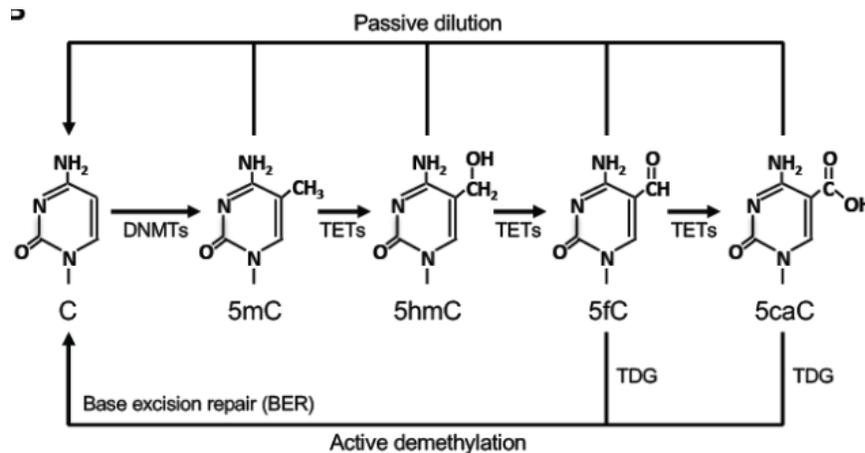
La participación de la metilación del ADN en el origen y el desarrollo de la obesidad infantil depende de eventos modulados reversiblemente por el ambiente; el ambiente en los primeros mil días de vida contados a partir de la concepción se relaciona con el desarrollo de enfermedades no transmisibles (40) y en su análisis se ponen en consideración tres escenarios: obesidad asociada a enfermedades de

impronta, obesidad relacionada con el microambiente feto-neonatal (incluye bajo peso al nacer) y obesidad determinada por el medioambiente.

Metilación del ADN, obesidad y enfermedades de impronta.

Durante la embriogénesis se inicia el borrado global asincrónico de la metilación del ADN en los gametos inmediato a la fertilización y previo a la implantación ( cigoto) (31, 33); seguidamente se retoma la metilación para que los tejidos desarrollen características propias y estabilidad genómica (34).

Se demetila primero el gameto masculino antes de la primera división celular, pasando la 5 metilcitosina (5mC) vía TET a 5 hidroximetilcitosina (5hmC) (31); las TET son una familia de proteínas con acción oxidativa secuencial sobre 5mC y sus derivados, del acrónimo en inglés “*Ten-eleven traslocation*” (figura 3); solo entonces, el ADN materno inicia la demetilación a través de las divisiones celulares posiblemente dependiente de una baja actividad de las DNMTs de mantenimiento (41); el resultado es un embrión con capacidad de adquirir nuevas formas de metilación. Una vez implantado, el embrión inicia una organizada reconstitución de su metilación por acción de DNMT3A y DNMT3B en áreas de baja densidad en CpG y en pocas islas CpG, incorporadas a promotores, regiones intragénicas e intergénicas.



**Figura 3. Oxidaciones sucesivas de la 5mC a cargo de la familia TET.** Características de la demetilación activa y de la dilución pasiva. 5mC: 5-metilcitosina. 5hmC: 5-hidroximetilcitosina; 5fC: 5-formilcitosina; 5caC: 5-carboxilcitosina. TDG: timina DNA-glicosilasa. BER: reparadora de bases escindidas. Tomado de Zeng et al (2019) (33).

Normalmente las dos copias de cada gen (procedentes respectivamente de cada uno de los padres) son funcionales excepto si dependen de un sistema de control a

la expresión denominado impronta; este mecanismo implica que ciertos genes o grupos de genes son inactivados en función del origen parental que tengan. El síndrome de Angelman (SA) y el síndrome de Prader-Willi (SPW) son enfermedades pediátricas con curso de obesidad y participación epigenética por impronta específica durante el desarrollo embrionario sobre la región cromosómica común 15q11q13 (6 Mb) (42); en ambos, la etiología epigenética es esporádica y se presenta durante la gametogénesis o por defectos de mantenimiento de la impronta después de la fertilización.

La región 15q11-q13 contiene un grupo de genes que son regulados por impronta o marca epigenética que inactiva selectivamente algunos de ellos en función de si proceden del padre o de la madre; se conoce que tal función depende de metilación del ADN y de modificación de las histonas (42). Esta región común está flanqueada por repeticiones de bajo número de copias donde también se presentan rupturas y recombinaciones desiguales; a los puntos de ruptura se le conoce como BP1, BP2 y BP3; en las áreas BP1 y BP2 se establece la impronta para ambos síndromes (43).

Entre un 2 a 4% de los casos de SA (OMIM # 105830, prevalencia 1:15.000-1:20.000 recién nacidos) el cromosoma materno porta la improntación del cromosoma paterno silenciando la expresión materna funcional para el gen *UBE3A* (43) con desarrollo de obesidad durante la segunda infancia; en el SPW (OMIM # 176270, prevalencia 1:10.000-1:30.000 recién nacidos), 1 a 3 % de los niños tienen la impronta materna sobre el cromosoma paterno silenciando genes de expresión paterna como *MAGEL2* y *SNORD116* (entre otros) (43). En SPW estos genes tienen expresión en hipotálamo e interactúan con la función circadiana (42).

Los niños con SPW nacen 15-20% más pequeños que sus hermanos y evidentemente hipotónicos; en su infancia demuestran retraso del desarrollo motor y del lenguaje, apariencia física y facial característica, trastornos del aprendizaje y conductas reiteradas hacia el no cambio de rutinas. El desarrollo de obesidad inicia en general a partir de los 6 años por combinación de hiperfagia, pobre límite a la saciedad y baja actividad física.

Obesidad, ambiente feto-neonatal y metilación del ADN.

Durante el desarrollo del embrión la epigenética cumple papel fisiológico de reprogramación en los períodos críticos de susceptibilidad y de desregulación. Una vez realizada la metilación del ADN esta se conserva a lo largo de futuras divisiones

celulares con el menor número de errores en los mecanismos de control, especialmente si en ello participan proteínas esenciales con funciones de marcación, escritura, borrado o lectura (44). Aquí son determinantes los factores ambientales intra uterinos que logren adecuadas condiciones de reversibilidad y de reescritura (borrado o modificación) (45).

En principio y durante esta etapa (mamíferos), las deficiencias nutricionales que incluyen bajos niveles del grupo metilo por lapsos de tiempo variable (derivado de la dieta como materia prima para la síntesis de SAM), disminuyen su aporte al ADN y su accionar sobre CpG (46); estos y otros determinantes se han venido considerando como punto de partida de algunas enfermedades que se desarrollan a través de la vida (DOHaD) (47).

Este concepto tiene por antecedente las observaciones sobre el modelo de ratón *agouti*. Normalmente el gen *agouti* en la cepa salvaje codifica para la proteína “agouti” que genera pelaje amarillo por acción sobre los melanocitos cutáneos y, obesidad por incapacidad hipotalámica para el control a la saciedad (48); en ratas gestantes la hipermetilación del gen conduce a descendencia parda sin obesidad además de un mejor control de la tumorigénesis, la saciedad y la tolerancia a la glucosa. Tanto en humanos como en modelos animales, alteraciones nutricionales tempranas durante períodos críticos del desarrollo prenatal y posnatal modifican el riesgo de desarrollar enfermedades complejas en la vida adulta (47). La hambruna holandesa de finales de la segunda guerra mundial (49) y los aportes de Hales & Barker de finales del siglo XX lo ratifican .

Durante el desarrollo embrionario, fetal y posnatal temprano se interactúa con señales ambientales y nutricionales que regulan respuestas adaptativas de índole epigenético, aplicables a un modelo de vida por desarrollar (49). Estas respuestas son en general permanentes, de expresión durante la vida adulta e individual; esta última característica determina que se porte un riesgo diferente para desarrollar cierta enfermedad. Si no se desarrolla concordancia entre la respuesta adaptativa epigenética dirigida a continuar con una pobre nutrición postnatal, esta ventaja pasa a ser inconveniente (no saludable). El “*fenotipo ahorrador*” descrito por Hales & Barker en londinenses de la post guerra (2° guerra mundial) (50) demuestra que la no continuidad de una precaria nutrición gestacional durante la vida posnatal, reconocida en niños nacidos con bajo peso y diseñada para la sobrevivencia fetal, genera riesgos de desarrollar enfermedad cardiovascular hasta 4 décadas más tarde.

El concepto DOHaD relacionado con metilación del ADN se describe por primera vez en individuos con bajo peso al nacer de origen multifactorial en donde se confirmó menor metilación del gen del factor 2 similar a la insulina (*IGF2*) y alteraciones de metilación en genes implicados en crecimiento y metabolismo (51). En el síndrome de Silver Russell (SRS, OMIM # 180860), caracterizado por bajo peso al nacer, retraso del crecimiento prenatal y postnatal, dificultades de alimentación y déficit de masa magra y de masa grasa, 40-50% de las veces se cursa con hipometilación de *H19/IGF2* (11p15) (51). En la vida adulta se asocia con hipertensión, DM<sub>2</sub> e hígado graso no alcohólico.

Al respecto, cultivos de preadipocitos subcutáneos de individuos nacidos con bajo peso tienen menor expresión del gen de la leptina durante la diferenciación celular por hipermetilación de su promotor (52); según lo propuesto a través del concepto DOHaD, la nutrición durante la gestación podría señalarse como factor interferente (determinante) de la programación epigenética facilitando el desarrollo de SM (53). Observaciones retrospectivas y controladas en gestantes que han padecido restricción calórica durante el embarazo si bien demuestran resultados variables sobre el desarrollo de obesidad infantil, se asocian con irregularidades del control glucémico de sus hijos (54).

Recientemente se propone la existencia de genes del “fenotipo ahorrador” (*thrifty genes*) (55). Estos genes estarían influenciados durante la gestación frente al bajo consumo de metionina y colina. Se espera accionar epigenético dependiente de la relación entre disponibilidad de nutrientes y cambios en las concentraciones de DNMT1 y DNMT3A (56), estas últimas necesarias en la metilación del promotor del gen *PTPN*; según sean las características de su metilación in útero se establece control y programación de las rutas de señalización de la insulina, modificando la capacidad metabólica del individuo para la vida postnatal. *PTPN* es reconocido como gen supresor tumoral que inhibe vías proliferativas medidas por PI3K-AKT-mTOR, todas relacionadas con actividad de fosfatasa lipídicas (57).

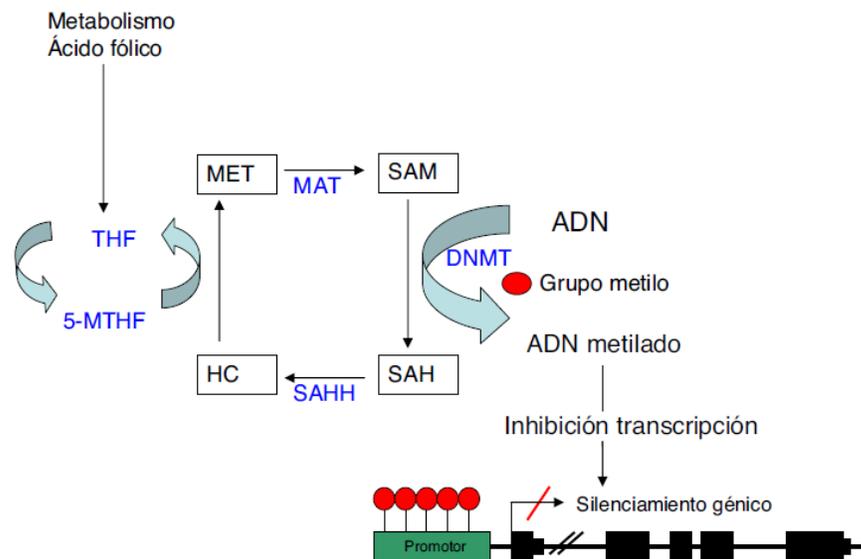
La mayoría de análisis epigenéticos en recién nacidos relacionan cambios del IMC materno con el estado de metilación del ADN empleando células del cordón umbilical (58, 59). El cordón umbilical establece comunicación feto-placenta-madre para intercambio de fluidos, oxígeno, sustancias esenciales, hormonas y factores de crecimiento entre otros. El 85% de los mamíferos tienen un cordón umbilical adaptado al tipo de placenta como característica de una extensión del sistema cardiovascular fetal (60) generando una circulación de “intercambio” que relaciona un fluido libre de células maternas con la placenta, objeto de medición de 5mC y

5hmC (61) según el linaje analizado y considerando tanto las características de la madre como la evolución del peso fetal (62, 63).

Si bien ciertas características de morbilidad durante la gestación inducen cambios de metilación del ADN, estas se deben analizar individualmente de acuerdo con el evento desencadenante. Como se advierte, el patrón de metilación del ADN en células del cordón umbilical se relaciona con factores antenatales (64), situación que por el momento se debe considerar como antecedente a explorar en obesidad infantil. No obstante y tratándose de restricción nutricional fetal, además de los reportes de hipometilación del gen *IGF2/H19* ya mencionados (51), se reconoce hipermetilación para los genes *IL10*, *LEP*, *ABCA1*, *GNASAS* y *MEG3* involucrados en inflamación y el metabolismo (65). En Colombia ya se reporta metilación diferencial del ADN para los genes *GLP2R*, *LEP* e *IRS2* en recién nacidos con bajo peso evaluados años más tarde por baja talla (66)

### Metilación del ADN y medio ambiente posnatal

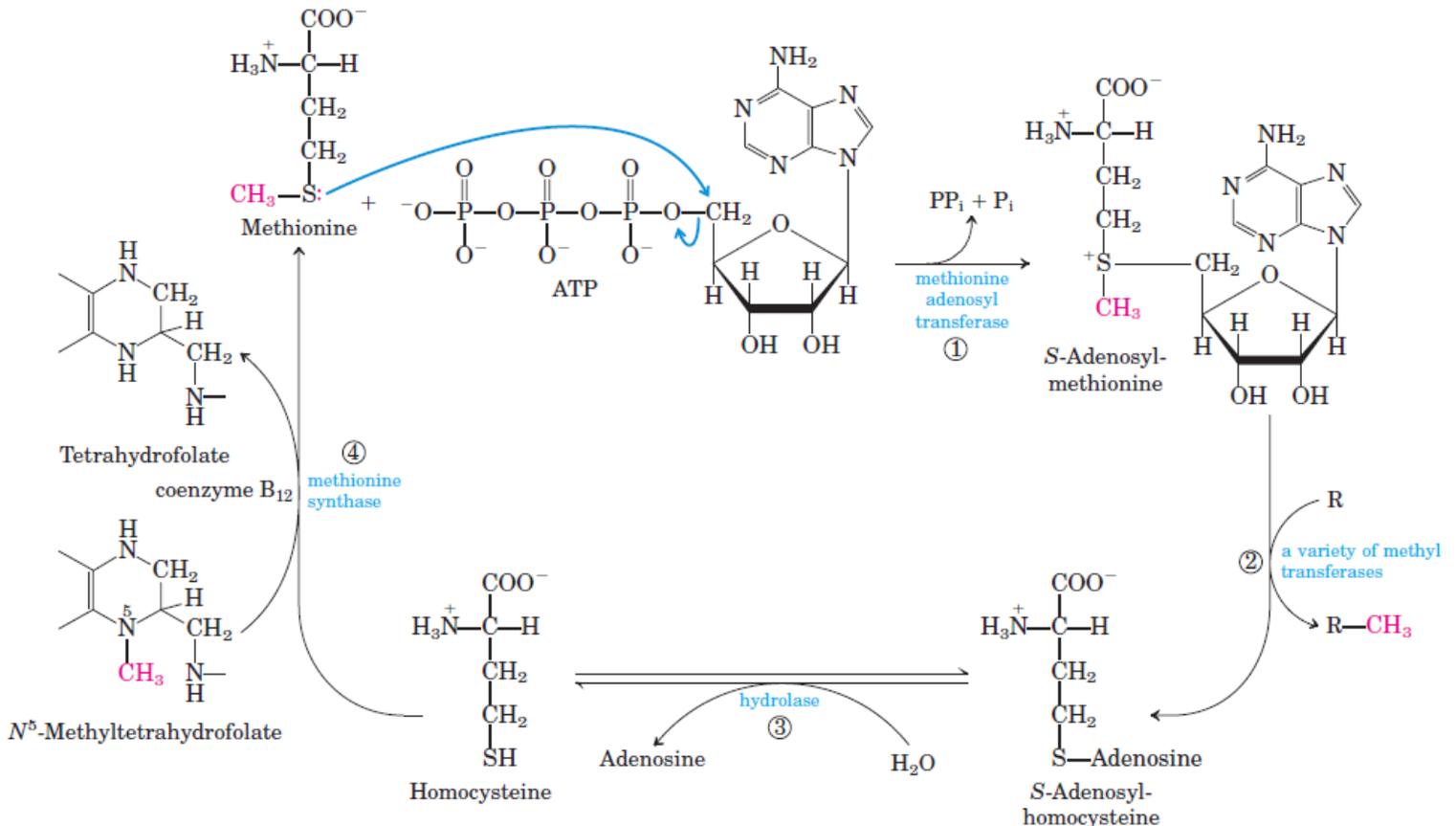
Buen número de las modificaciones epigenéticas posnatales son derivadas desde disruptores endocrinos y factores nutricionales y ambientales. Los mecanismos moleculares que relacionan los componentes nutricionales (dieta) con los genes se estudian a través de la nutriepigenética; compuestos como la metionina y el ácido fólico (donadores de metilo), algunos ácidos orgánicos de cadena corta, las isoflavonas (soja) y la vitamina B<sub>12</sub> son considerados determinantes de esta relación (39); la figura 4 ilustra parte de la influencia de la nutriepigenética en la secuencia de metilación a partir de ácido fólico, la metionina y el grupo SAM.



**Figura 4. Influencia de la Nutriepigenética en la metilación del ADN.** Caracterización del rol del ácido fólico en la metilación del ADN a partir de SAM. THF: tetrahydrofolato; 5-MTHF: 5-metiltetrahydrofolato; MET: metionina; MAT: metionina adenosiltransferasa; SAM: S-adenosil metionina; DNMT: metil transferasas del ADN; SAH: S-adenosil homocisteina; SAHH: S-adenosil homocisteina hidrolasa; HC: homocisteína. Tomado de Iridoy-Zulet et al (67).

Con mayor precisión, las deficiencias proteicas y/o calóricas, las dietas con alta concentración de grasas preferiblemente polinsaturada y un elevado consumo de calorías modifican la metilación del ADN empleando alguno de los siguientes mecanismos (65):

1. Por pérdida de nutrientes o sustratos donantes de factores y cofactores necesarios en el proceso de metilación. Los grupos metilo proceden del compuesto SAM, aportado en concentraciones normales si se cuenta con adecuados niveles de vitaminas del complejo B (B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>) y de ácido fólico, componentes básicos del ciclo de la metionina (fig. 5); en este ciclo participan como cofactores la colina, la cisteína, el zinc, la betaína, el selenio y la glicina.



**Figura 5. Síntesis de grupos metilo a partir de SAM.** Paso 1: Interacción entre el átomo de sulfuro (S:) de la metionina -portador de un radical metilo- con el carbono 5' de la ribosa liberando trifosfato (PPi + Pi) y generando S-adenosil metionina (SAM) bajo influencia de metionina adenosil transferasa. Paso 2: liberación de S-adenosil homocisteína y del radical metilo (CH<sub>3</sub>) desde SAM por influencia de metil transferasas. Paso 3: generación de homocisteína por hidroxilación reversible de S-adenosil homocisteína. Paso 4: síntesis de metionina desde homocisteína empleando metionina sintasa dependiente de folatos y de vitamina B<sub>12</sub>; esta acción toma el radical metilo desde N<sup>5</sup>-metiltetrahidrofolato por acción de la vitamina B<sub>12</sub> (coenzima) generando tetrahidrofolato: el radical metilo queda incorporado a la metionina reiniciando el ciclo. R es el grupo aceptor del radical metilo. Tomado de: Lehninger. Principles of Biochemistry. 6° edición.

2. Por interacción con cofactores que modulan la actividad de DNMT. La baja concentración del grupo SAM disminuye la activación de DNMT, reconocida frente al consumo de polifenoles (té verde) y de genisteína (soja).
3. Por interferencia con cofactores y enzimas del ciclo de la metionina y del folato, ambos intermediarios en la síntesis de los grupos metilo: en la síntesis de folatos el principal cofactor es la vitamina B<sub>6</sub>, en tanto que para la metionina es la vitamina B<sub>12</sub>.
4. Por mayor actividad de metiltransferasas y de acetiltransferasas frente al consumo de dietas densamente calóricas y/o con altas concentraciones de glucosa y de colesterol.

Como se advierte, en la vida posnatal las condiciones nutricionales necesarias para la adecuada metilación del ADN dependen de una correcta relación entre el ciclo de la metionina integrado al de los folatos y a la normal concurrencia de enzimas, cofactores y algunas vitaminas del complejo B; la figura 5 expone en detalle estas interacciones mientras que la tabla 1 señala otros componentes de la dieta de reconocida acción epigenética.

**Tabla 1. Componentes nutricionales relacionados con efectos epigenéticos.** Tomado y adaptado de Li et al (34).

Compuesto	Características y procedencia		Acción epigenética				
			Inhibición	Activación	Modulación	Otras acciones	
Polifenoles	Manzana	Kampfenol	HDAC	SIRT3			
		Phloretin	DNMT				
	Apio	Apigenina	DNMT				
				HDAC			
			HMT				
		Luteolina	DNMT	SIRT			
			HDAC				
			HMT				
	Cítricos	Hesperidina		DNMT	SIRT1		

		Quercetina	DNMT			
			HAT			
	Café	Ácido cafeico	HDAC			
		Ácido cloro génico	HDAC			
	Ajo	Alilmercaptano	HDAC			
		Dialil disulfuro	HDAC			
	Uvas	Antocianinas	HDAC		miRNA	
		Picaetanol		SIRT1		
		Procianidina	DNMT		SIRT1	
			HDAC		miRNA	
		Resveratrol	DNMT	SIRT1	miRNA	MeCP2 <sup>1</sup>
			HDAC			
	Té verde	Catequina	DNMT		miRNA	MeCP2 <sup>1</sup>
			HAT			
			HDAC			
		Teofilina		HDAC		
	Soya	Biochanin A	DNMT			
		Daidzeina	DNMT			
		Equol				Demetilación por BRCA
		Genisteina	DNMT	HAT	miRNA	MeCP2 <sup>1</sup>
			HDAC		miRNA	
	Cúrcuma	Curcumina	DNMT			MeCP2 <sup>2</sup>
			HAT			
			HDAC			
Vitaminas	Kiwi	Folato			miRNA	Metabolismo de compuestos de 1 carbono
						HMT <sup>2</sup>
						Epigenoma <sup>2</sup>
		Vitamina C				Demetilación del ADN
						Demetilación de histonas
						Epigenoma <sup>2</sup>
	Peces	Vitamina D			miRNA	Metilación del ADN
						Modificación de histonas
						Epigenoma <sup>2</sup>
	Huevos	Colina			miRNA	Metilación del ADN
						Metilación de histonas
Otros	Brócoli	Isotiocianatos	HDAC			
		Sulforafano	DNMT		miRNA	
			HDAC			
		Witaferina A	DNMT			
	Cereza de la India		HDA	HAT	miRNA	
			HMT			
	Tubérculo Konjac		DNMT			Metilación del ADN
			HDAC			Modificación de histonas

1: descenso; 2: regulación; BRCA: diferentes líneas celulares de cáncer de seno; SIRT (Sirtuinas): familia altamente conservada de nucleótidos de nicotinamida adenina dependiente de desacetilasas de histonas.

Por otro lado, hay influencias medioambientales que se comportan como modificadoras epigenéticas a través de la vida postnatal; sobre esta base, el punto central de esta tesis doctoral reconoce la metilación del ADN en genes durante el incremento del IMC, este último, altamente dependiente del ambiente.

Tradicionalmente el cambio del IMC y la metilación del ADN se han evaluado en genes integrados al control del apetito como *MC4R* (gen de la ruta señalizadora hipotalámica entre leptina y melanocortina), *LEPR* (gen del receptor de leptina), *LEP* (gen de la leptina) y *ADIPQ* (gen de la adiponectina) (6). Reciente evidencia (2017) (6, 68) precisa que la metilación del ADN como resultado del cambio del IMC en adolescentes norteamericanos blancos no hispanos dista mucho de ser igual a la observada en niños europeos caucásicos menores de 7 años, poniendo de relieve que los componentes ambientales tampoco son los mismos; si bien ningún gen fue común, se encontró metilación diferencial para el gen *SIM1* en el grupo estadounidense y para el gen *SNED1* en el grupo europeo empleando metodologías diferentes.

El gen *SIM1* codifica para un factor de transcripción de la familia de receptores bHLH/PAS; en humanos su mutación y/o delección se ha relacionado con obesidad de inicio temprano y su haploinsuficiencia con obesidad severa por acción sobre el núcleo paraventricular del hipotálamo (OMIM # 603128, 6q16.3). El gen *SNED1* codifica para una proteína de expresión en un amplio grupo de tejidos humanos ligada al metabolismo del calcio y a la unión con la matriz celular (OMIM # 616664, 2q37.3) no relacionada con el desarrollo de obesidad infantil.

Al considerar que los mecanismos epigenéticos traducen señales a partir del medio ambiente, estas tienen capacidad de modificar la expresión de los genes operando con memoria adquirida. Por miles de años la relación entre el medio ambiente y el genoma determinó que entre ambos existan dinámicas sincrónicas donde se involucren rutinas específicas, algunas de ellas integradas a ciclos biológicos; ciertos genes hacen parte de tales ciclos y uno de los más inquietantes es el ciclo circadiano. Esta tesis doctoral se propone analizar en esta relación un gen de la familia “período”, el gen *PER3*, constitutivo del ciclo circadiano.

Son más de 15 los genes que intervienen en la regulación del ciclo circadiano; la familia “período” y entre estos *PER3* y *PER2*, más *CLOCK* y *BMAL1* han sido relacionados epigenéticamente con el desarrollo de obesidad (69, 70): *PER3* reconocido en adolescentes españoles que incrementan el IMC y el perímetro de la cintura en tanto que *PER2*, *CLOCK* y *BMAL1* relacionados con obesidad y SM. Este grupo de genes permanecen integrados a los procesos luz-oscuridad y sueño-vigilia para regular actividades concordantes entre el metabolismo y las hormonas como modelo de mantenimiento del tiempo interno a partir de un marcapaso endógeno

que adapta el individuo a los cambios rítmicos de luz y oscuridad haciendo concordancia entre estos y las funciones biológicas (70).

En esta dinámica, el reloj central está en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo e influye sobre “relojes” periféricos generando orden temporal de actividades rítmicas como dormir-despertar, descanso-actividad, constantes vitales y consumo de oxígeno (71). La exposición cotidiana a la luz y el proceso organizado de la toma de los alimentos induce ritmos específicos de memoria a repetir cada 24 horas (71); los cambios en los hábitos alimenticios y en particular en los contenidos de carbohidratos y grasa interfieren el patrón de metilación de *BMAL1* (72, 73) en tanto que el desarrollo de resistencia a la insulina (RI) con incremento del perímetro abdominal (PC) se relaciona con metilación diferencial para *PER3* (69).

Por otro lado, la creciente epidemia de obesidad no ajena a los niños amplía la incidencia de DM<sub>2</sub> ratificando la influencia en ella de los factores ambientales como los estilos de vida y la pobre actividad física; en todos los casos hay incremento de la resistencia a la insulina (RI), hormona que es producida y secretada exclusivamente por las células beta de los islotes pancreáticos. En adultos obesos con DM<sub>2</sub> y sin severa hiperglicemia hay cambios de metilación del ADN de genes obtenidos a partir de muestras de células Beta, característica también encontrada en células sanguíneas de individuos con riesgo de hiperglicemia sin ser diabéticos (74); uno de estos genes es *PTPRS* que codifica para una proteína del receptor tipo sigma de la familia proteína tirosín-fosfatasa (PTP) involucrado en procesos de crecimiento y diferenciación celular lo mismo que en la transformación oncológica y la reparación neuronal (75). Esta tesis doctoral evalúa el cambio de metilación del gen *PTPRS* que se genera tras el incremento del IMC en niños que desarrollan sobrepeso-obesidad.

## Glosario

**Amerindio.** Persona que pertenece a uno de los pueblos que habitaba el continente americano con anterioridad a la llegada de los europeos.

**Ancestría.** Anglicismo que relaciona información de los orígenes ancestrales de un individuo. Ancestral (adj.): perteneciente o relativo a los antepasados; relativo a los antepasados o propio de ellos.

**Apnea obstructiva (del sueño).** Detención transitoria y momentánea de la frecuencia respiratoria secundaria a la relajación de los músculos faríngeos propiciando un corto bloqueo de las vías respiratorias durante el sueño.

**Bebidas procesadas.** Tipo de bebida con soda o jugo embotellado con mayor concentración de azúcar.

**BPN.** Bajo peso al nacer. Niño nacido con menos de 2500 g.

**Cardiopatía isquémica.** Término general para las enfermedades del corazón con pobre flujo sanguíneo.

**Célula Beta.** Células constitutivas de los islotes de *Langerhans* del páncreas, rica en gránulos solubles en alcohol y fuente de producción de la hormona insulina.

**Complejo de proteínas del grupo Trithorax (TrxG).** Grupo heterogéneo de proteínas cuya acción principal es mantener la expresión génica; comprende entre otras las proteínas modificadoras de histonas, las proteínas que remodelan la cromatina y las proteínas que se unen al ADN.

**Complejo Polycomb.** Conjunto de proteínas involucradas en la regulación epigenética de las células en genes relacionados con la diferenciación celular.

**CpG.** Citosina fosfo guanina

**Deslizamiento de la epífisis capital femoral.** Separación de la cabeza femoral de la articulación de la cadera en el área de la placa de crecimiento.

**Disruptor endocrino.** Sustancia química capaz de alterar el sistema hormonal generando disfunción y morbilidad.

**DM<sub>2</sub>.** Diabetes mellitus tipo 2.

**DOHaD.** Termino que hace mención al origen de la salud y la enfermedad a través del desarrollo, del acrónimo en inglés “*the developmental origins of health and disease*” (40).

**ECNT.** Enfermedad crónica no transmisibile.

**Epifenómeno.** Evento externo al ADN que determina o induce cambios epigenéticos sobre este.

**Estilos de vida.** Hábito de vida (forma de vida); referente al conjunto de comportamientos o actitudes cotidianas de las personas, algunos de los cuales pueden ser no saludables.

**EWAS.** Estudio de metilación global de todo el genoma.

**Factor de riesgo.** Elemento que contribuye producir o desarrollar una enfermedad.

**Fenotipo ahorrador.** Apariencia física (*in utero*) derivada de alteración en la nutrición fetal y relacionada con funciones endocrinas adaptativas. Se relaciona con complicaciones cardiovasculares y metabólicas en la vida adulta (especialmente DM<sub>2</sub>).

**Genes ahorradores.** Información del genoma humano para adaptarse a la sobrevida en tiempos pasados, conjugada con el modo de vida actual.

**Haploinsuficiencia.** Situación generada cuando una copia de un gen se inactiva o se elimina y la copia funcional que queda no es suficiente para producir la cantidad de producto génico necesario.

**Hígado graso no alcohólico.** Grupo de alteraciones que comprenden desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis y la cirrosis. La diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad son los principales factores asociados (76).

**Hiperfagia.** Exceso de apetito.

**IMC.** Índice de masa corporal.

**Impronta.** O "imprinting", fenómeno genético por el que ciertos genes son expresados de un modo específico según el sexo del progenitor.

**Islotes del páncreas.** Agregados de células en el parénquima del páncreas con función endocrina.

**Metilación global del ADN.** Conjunto de cambios de metilación sobre toda la estructura del ADN, generalmente revisados en condiciones nosológicas específicas.

**Microbiota intestinal.** Conjunto microorganismos (todas las bacterias, arqueas, eucariotas y virus) presentes en el tracto intestinal.

**Micronutrientes.** Elementos esenciales que los seres vivos requieren en pequeñas cantidades a lo largo de la vida para realizar funciones metabólicas y fisiológicas necesarias para mantener la salud.

**Morbilidad.** Estado o condición de enfermedad.

**Nosología.** Estudio individual de las enfermedades

**Órgano blanco.** Tejido susceptible a padecer una enfermedad o al influjo hormonal.

**PIMA (pueblo).** Grupo indígena que vive en el estado de Arizona (Estados Unidos) y en los estados mexicanos de Sonora y Chihuahua.

**Primera infancia.** Edad de cero a 5 años.

**Vía PI3K-AKT-mTOR:** vía reguladora del crecimiento y la supervivencia celular frecuentemente relacionada con procesos de carcinogénesis (77).

**Resistencia a la insulina (RI).** Condición patológica en donde la acción celular de la insulina está reducida aumentando su secreción para compensar el defecto en la acción tisular y así poder mantener la homeostasis glicémica (78).

**Segunda infancia.** Edad de 6 a 11 años

**Síndrome metabólico (SM).** Síndrome caracterizado por disminución de la sensibilidad a la insulina, obesidad (central), dislipidemia, hiperglicemia, hipertensión arterial, inflamación crónica y mayor propensión a la enfermedad trombótica. En 1998 la Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso la denominación de SM para englobar las distintas entidades patológicas que determinan un aumento del riesgo cardiovascular. SMP: corresponde con síndrome metabólico en pediatría.

**Unión (enlace) covalente.** Unión de dos átomos al compartir electrones del último nivel y caracterizada por la diferencia de electronegatividad entre estos.

# Objetivos

## Objetivo general

Determinar los factores clínicos, sociodemográficos y de metilación global del ADN (incluyendo *PER3* y *PTPRS*) que participan en el desarrollo de obesidad en una cohorte de niños atendidos en una consulta de endocrinología pediátrica entre julio 1 de 2008 a junio 30 de 2018 (Clínica CES de la ciudad de Medellín, Colombia).

## Objetivos específicos

1. Caracterizar los factores clínicos y sociodemográficos de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica que influyen en el desarrollo de obesidad pediátrica.
2. Determinar el perfil de metilación de *PTPRS* y *PER3* en niños obesos con o sin el antecedente de bajo peso al nacer de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica.
3. Establecer la asociación entre los perfiles de metilación global del ADN, de *PER3* y *PTPRS* y los factores clínicos y sociodemográficos que influyen en el desarrollo de obesidad pediátrica de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica.
4. Explorar las variables que mejor expliquen el desarrollo de obesidad pediátrica y plantear un modelo predictivo para el desarrollo de obesidad pediátrica

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ruiz L, Zuelch M, Dimitratos S, Scherr R. Adolescent Obesity: diet quality, psychosocial health, and cardiometabolic risk factors. *Nutrients*. 2019;12(1):43.
2. Bovi A, Michele L, Laino G, Vajro P. Obesity and obesity related diseases, sugar consumption and bad oral health: a fatal epidemic mixture. *Translational Medicine*. 2017;16(2):11-16.
3. Aguilera C, Labbé T, Busquets J, Venegas P, Neira C, Valenzuela Á. Obesidad: ¿Factor de riesgo o enfermedad? *Rev méd Chile*. 2019;147(4):470-4.
4. Kelishadi R, Poursafa P. Obesity and air pollution: global risk factors for pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Hpat Mon*. 2011;11(10):794-802.
5. Styne D, Arslanian S, Connor E, Farooqi I, Murad M, Silverstein J, et al. Pediatric obesity—assessment, treatment, and prevention: an endocrine society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2017;102(3):709-57.
6. Hu F. (2009). Genetic predictors of obesity. En Hu F. (Oxford University Press), *Obesity Epidemiology* (pp: 437-460).
7. He F, Berg A, Imamura Kawasawa Y, Bixler E, Fernández-Mendoza J, Whitsel E, et al. Association between DNA methylation in obesity-related genes and body mass index percentile in adolescents. *Sci Rep*. 2019;9(1):2079. doi: 10.1038/s41598-019-38587-7.
8. Ochoa G, Arteaga R. Prevalencia del síndrome metabólico en niños y adolescentes escolarizados del área urbana de la ciudad de Medellín. *IATREIA*. 2008;21(3):260-270.
9. Salazar L, Martínez N, Díaz L, Estrada K. Prevalencia de sobrepeso, obesidad y factores de riesgo en una cohorte de escolares en Bogotá, Colombia. *Pediatrics*. 2020;53(1):5-13.
10. Zuluaga N, Osorno A, Lozano A, Villada O. Efecto clínico y metabólico de una intervención multidisciplinaria en el marco de un programa de atención integral para niños y adolescentes con obesidad. *Biomédica*. 2020;40(1):166-84.
11. Gamboa-Delgado E, Rangel-Díaz Y, Gutiérrez-Gómez Y. Asociación entre peso al nacer y factores de riesgo cardiometabólicos en niños de Bucaramanga, Colombia. *Nutr Hosp* [Internet]. 14 de septiembre de 2017 [citado 20 de septiembre de 2021]; Disponible en: <http://revista.nutricionhospitalaria.net/index.php/nh/article/view/1024>
12. Gurnani M, Birken C, Hamilton J. Childhood Obesity. *Pediatric Clinics of North America*. 2015;62(4):821-40.
13. Márquez I, Blanco M, Olmos A, Barrera A, García C, Gómez F. Política nacional de ciencia, tecnología e innovación 2021-2030. Documento CONPES 91. Disponible en: [https://minciencias.gov.co/sites/default/files/documento\\_conpes\\_ciencia\\_tecnologia\\_e\\_innovacion.pdf](https://minciencias.gov.co/sites/default/files/documento_conpes_ciencia_tecnologia_e_innovacion.pdf)
14. Rolland-Cachera M. Childhood obesity: current definitions and recommendations for their use. *Int J Pediatr Obes*. 2011;6(5-6):325-31.
15. Universidad Adventista de Colombia, Guzmán-Loaiza M, Pérez-Salgado C. Práctica particular. Factores socioeconómicos, demográficos, institucionales y

- familiares asociados con exceso de peso en niños de 2 a 5 años asistentes a los jardines infantiles de Envigado-Colombia, 2014-2015. *Perf de Coyunt Econ* [Internet]. junio de 2015 [citado 20 de septiembre de 2021];17(1). Disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/nutricion/article/view/324664>
16. Marciniak A, Patro-Małyśza J, Kimber-Trojnar Ż, Crouse M., Dahlen C, Ward A. Developmental programming of fetal growth and development. *Veterinary Clinics of North América: food animal practice*. 2019;35(2):229-47.
  19. López-Cabra C, Sternberg A, Rondón AMP. (2010). Factores perinatales para el riesgo de sobrepeso y obesidad en niños de 4 a 5 años en Colombia. Tesis de Maestría. Universidad del Rosario y Universidad CES 2010. Disponible en: <https://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/11502/Lopez-Cabra-Claudia-Alejandra-2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
  20. Ospina-Martínez ML, Martínez-Duran M, Pacheco-García O, Quijada-Bonilla H. Protocolo de vigilancia en salud pública. 2016;03:1-27.
  21. Sanín-Blair J, Gómez-Díaz J, Ramírez J, Mejía C, Medina O, Vélez J. Diagnóstico y seguimiento del feto con restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) y del feto pequeño para la edad gestacional (PEG). Consenso Colombiano. *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2009;60(3):247-61.
  22. Sierra-Rodríguez V. Factores asociados al bajo peso al nacer: comparativo por minorías étnicas y mestizos en Colombia. Tesis de Maestría. Universidad CES. 2013. Disponible en: <https://repository.ces.edu.co/bitstream/10946/464/1/Factores%20Asociados%20Bajo%20Peso.pdf>
  23. Hales C, Barker D. The thrifty phenotype hypothesis. *British Medical Bulletin*. 2001;60(1):5-20.
  24. Tataranni P. Pima indian males have lower adrenergic sensitivity than caucasian males. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1998;83(4):1260-1263.
  25. Esparza-Romero J, Valencia M, Martínez M, Ravussin E, Schulz L, Bennett P. Differences in insulin resistance in mexican and U.S. Pima indians with normal glucose tolerance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010;95(11):E358-62.
  26. Ossa H, Aquino J, Pereira R, Ibarra A, Ossa R, Pérez L, et al. Outlining the ancestry landscape of Colombian admixed populations. Chiang T-Y, editor. *PLoS ONE*. 2016;11(10):e0164414.
  27. Sharma A. Transgenerational epigenetic inheritance: resolving uncertainty and evolving biology. *Biomolecular Concepts*. 2015;6(2):87-103.
  28. Bianco-Miotto T, Craig J, Gasser Y, van Dijk S, Ozanne S. Epigenetics and DOHaD: from basics to birth and beyond. *J Dev Orig Health Dis*. 2017;8(5):513-9.
  29. Motorin Y, Helm M. RNA nucleotide methylation: RNA nucleotide methylation. *WIREs RNA*. 2011;2(5):611-31.
  30. Moore S, Humphreys K, Colich N, Davis E, Lin D, Maclsaac J, et al. Distinctions between sex and time in patterns of DNA methylation across puberty. *BMC Genomics*. 2020;21(1):389.
  31. Concepción María Aguilera A. Epigenética de la obesidad. *Nutrición Clínica en Medicina*. 2018;(2):47-60.

32. Neri F, Rapelli S, Krepelova A, Incarnato D, Parlato C, Basile G, et al. Intragenic DNA methylation prevents spurious transcription initiation. *Nature*. 2017;543(7643):72-7.
33. Zeng Y, Chen T. DNA Methylation reprogramming during mammalian development. *Genes*. 2019;10(4):257.
34. Li S, Chen M, Li Y, Tollefsbol T. Prenatal epigenetics diets play protective roles against environmental pollution. *Clin Epigenet*. 2019;11(1):82.
35. Alegría-Torres J, Baccarelli A, Bollati V. Epigenetics and lifestyle. *Epigenomics*. 2011;3(3):267-77.
36. Vahid F, Zand H, Nosrat-Mirshekarlou E, Najafi R, Hekmatdoost A. The role dietary of bioactive compounds on the regulation of histone acetylases and deacetylases: A review. *Gene*. 2015;562(1):8-15.
37. Nie L, Shuai L, Zhu M, Liu P, Xie Z-F, Jiang S, et al. The landscape of histone modifications in a high-fat diet-induced obese (DIO) mouse model. *Molecular & Cellular Proteomics*. 2017;16(7):1324-34.
38. Pabón-Martínez Y. MicroARNs: una visión molecular. *Salud UIS*. 2011; 43(3):289-297.
39. Sánchez-Bueno A. Papel de los miARNs en la programación metabólica de la obesidad. Análisis de un miARN específico. Published by Universitat de les Illes Balears. 2019. Fuente: <https://dspace.uib.es/xmlui/handle/11201/149903>.
40. Concepto de Developmental Origins of Health and Disease: El ambiente en los primeros mil días de vida y su asociación con las enfermedades no transmisibles. *Arch Argent Pediat* [Internet]. 2020 [citado 20 de septiembre de 2021];118(4). Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2020/v118n4a27s.pdf>
41. Reig G, Concha M. Impronta genómica y desarrollo embrionario. *Int J Morphol*. 2012;30(4):1453-7.
42. Carrasco P. Síndrome de Prader Willi y Síndrome de Angelman. *Ed Cont Lab Clin*. 2015. 27:1-12.
43. Guitar M, Camprubi C, Fernández C, Gener B, Gabau E. (2015). Capítulo 6: Síndrome de Angelman. pp 113-146. En: *Enfermedades de impronta: guías de buena práctica clínica*. Pérez de Nanclares G, Lapunzina P.
44. Hyun K, Jeon J, Park K, Kim J. Writing, erasing and reading histone lysine methylations. *Exp Mol Med*. 2017;49(4):e324-e324.
45. Skinner M, Haque C, Nilsson E, Bhandari R, McCarrey J. Environmentally induced transgenerational epigenetic reprogramming of primordial germ cells and the subsequent germ line. Cooney AJ, editor. *PLoS ONE*. 2013;8(7):e66318.
46. Pauwels S, Symons L, Vanautgaerden E, Ghosh M, Duca R, Bekaert B, et al. The Influence of the duration of breastfeeding on the infant's metabolic epigenome. *Nutrients*. 2019;11(6):1408.
47. Grey K, Gonzales G, Abera M, Lelijveld N, Thompson D, Berhane M, et al. Severe malnutrition or famine exposure in childhood and cardiometabolic non-communicable disease later in life: a systematic review. *BMJ Glob Health*. 2021;6(3):e003161.
48. Dolinoy D. The agouti mouse model: an epigenetic biosensor for nutritional and environmental alterations on the fetal epigenome. *Nutrition Reviews*. 2008;66:S7-11.

49. Zhou L-Y, Deng M-Q, Zhang Q, Xiao X-H. Early-life nutrition and metabolic disorders in later life: a new perspective on energy metabolism. *Chinese Medical Journal*. 2020;133(16):1961-70.
50. Venniyoor A. PTEN: A thrifty gene that causes disease in times of plenty? *Front Nutr*. 2020;7:81.
51. Murphy R, Ibáñez L, Hattersley A, Tost J. IGF2/H19 hypomethylation in a patient with very low birthweight, precocious pubarche and insulin resistance. *BMC Med Genet*. 2012;13(1):42.
52. Hogg K, Blair J, von Dadelszen P, Robinson W. Hypomethylation of the LEP gene in placenta and elevated maternal leptin concentration in early onset pre-eclampsia. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2013;367(1-2):64-73.
53. Choi S-W, Claycombe K, Martinez J, Friso S, Schalinske KL. Nutritional Epigenomics: A portal to disease prevention. *Advances in Nutrition*. 2013;4(5):530-2.
54. Wang N, Cheng J, Han B, Li Q, Chen Y, Xia F, et al. Exposure to severe famine in the prenatal or postnatal period and the development of diabetes in adulthood: an observational study. *Diabetologia*. 2017;60(2):262-9.
55. Wells JCK. Thrift: a guide to thrifty genes, thrifty phenotypes and thrifty norms. *Int J Obes*. 2009;33(12):1331-8.
56. Chen J, Zhao X, Yuan Y, jin J. The expresión patterns and the diagnostic/prognostic roles of PTPN family members in digestive tract cancers. *Cancer Cell Int*. 2020; 20:238.
57. Kucharava k, Sekulic-Jablanovic M, Horvath L, Bedmer D, Petkovic V. Pasireotide protects mammalian cochlear hair cells from gentamicin ototoxicity by activating the PI3K-Akt pathway. *Cell Death Dis*. 2019;10(2):110
58. Morales E, Groom A, Lawlor D, Relton C. DNA methylation signatures in cord blood associated with maternal gestational weight gain: results from the ALSPAC cohort. *BMC Res Notes*. 2014;7(1):278. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1756-0500/7/278>
59. Liu X, Chen Q, Tsai H-J, Wang G, Hong X, Zhou Y., et al. Maternal preconception body mass index and offspring cord blood DNA methylation: exploration of early life origins of disease: Maternal BMI and Cord Blood DNA Methylation. *Environ Mol Mutagen*. 2014;55(3):223-30.
60. Olaya-Contreras M, Vargas-Moreno W, Bernal-Villegas J. Una aproximación desde la física a las consecuencias patológicas de la longitud excesiva del cordón umbilical. *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2015;66(1):53-60.
61. Solomon O, Macisaac J, Tindula G, Kobor M, Eskenazi B, Holland N. 5-Hydroxymethylcytosine in cord blood and associations of DNA methylation with sex in newborns. *Mutagenesis*. 2019;34(4):315-22.
62. Gervin K, Page C, Aass H, Jansen M, Fjeldstad H, Andreassen B, et al. Cell type specific DNA methylation in cord blood: A 450K-reference data set and cell count-based validation of estimated cell type composition. *Epigenetics*. 2016;11(9):690-698.
63. Bohlin J, Andreassen B, Joubert B, Magnus M, Wu M, Parr C, et al. Effect of maternal gestational weight gain on offspring DNA methylation: a follow-up to the ALSPAC cohort study. *BMC Res Notes*. 2015;8(1):321. DOI 10.1186/s13104-015-1286-6

64. Martinez-Arguelles D, Campioli E, Culty M, Zirkin B, Papadopoulos V. Fetal origin of endocrine dysfunction in the adult: The phthalate model. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2013;137:5-17.
65. Tobi E, Heijmans B, Kremer D, Putter H, Deleamarre-van de Waal H, Finken M, et al. DNA methylation of *IGF2*, *GNASAS*, *INSIGF* and *LEP* and being born small for gestational age. *Epigenetics*. 2011;6(2):171-6.
66. Angulo M, Ramírez-Montaña D, Torres-Canchala L, García X, Lemus R, Aristizabal A, et al. Methylation status of *GLP2R*, *LEP* and *IRS2* in small for gestational age children with and without catch-up growth. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2021;13(2):136-45.
67. Iridoy-Zulet M, Pulido-Fontes L, Ayuso-Blanco T, Lacruz-Bescos F, Mendioroz-Iriarte M. Modificaciones epigenéticas en neurología: alteraciones en la metilación del ADN en la esclerosis múltiple. *Neurología*. 2017;32(7):463-8.
68. Obri A, Serra D, Herrero L, Mera P. The role of epigenetics in the development of obesity. *Biochemical Pharmacology*. 2020;177:113973.
69. Samblas M, Milagro F, Mansego M, Marti A, Martinez J., GENOI members. *PTPRS* and *PER3* methylation levels are associated with childhood obesity: results from a genome-wide methylation analysis: *PTPRS* and *PER3* methylation in childhood obesity. *Pediatric Obesity*. 2018;13(3):149-58.
70. Haque S, Booreddy S, Welsh D. Effects of BMAL1 manipulation on the brain's master circadian clock and behavior. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 2019 92:251-258.
71. Lopez-Minguez J, Gómez-Abellán P, Garaulet M. Timing of breakfast, lunch, and dinner. Effects on obesity and metabolic risk. *Nutrients*. 2019;11(11):2624. doi:10.3390/nu11112624
72. Mendoza J, Pévet P, Challet E. High-fat feeding alters the clock synchronization to light: high-fat diet alters circadian synchronization. *The Journal of Physiology*. 2008;586(24):5901-10.
73. Ramos-Lopez O, Samblas M, Milagro F, Riezu-Boj J, Crujeiras A, Martinez J, et al. Circadian gene methylation profiles are associated with obesity, metabolic disturbances and carbohydrate intake. *Chronobiology International*. 2018;35(7):969-81.
74. Ouni M, Saussenthaler S, Eichelmann F, Jähnert M, Stadion M, Wittenbecher C, et al. Epigenetic changes in islets of Langerhans preceding the onset of Diabetes. *Diabetes*. 2020;69(11):2503-17.
75. Bunin A, Isirak V, Ghosh H, Grajkowasaka L, Hou E, Miron M, et al. Protein tyrosine phosphatase *PTPRS* is a inhibitory receptor on human and murine plasmacytoid dendritic cell. *Immunity*. 2015;43(2):277-288.
- 76.. Domínguez V, Casas R, Jiménez-Riduejo J, García L. Etiopatogenia, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad del hígado graso no alcohólico. *Rev Esp Enferm Dig*. 2013;105 (7):409-420.
77. Pinzón C, Serrano M, Sanabria M. Papel de la vía fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K/Akt) en humanos. *Rev Cienc Salud*. Bogotá (Colombia). 2009; 7(2):47-66.
78. Carrasco F, Galgani J, Reyes J. Síndrome de resistencia a la insulina, estudio y manejo. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2013;24(5):827-37.

**Review**

**Metilación del ADN, sobrepeso-obesidad y genes del ciclo circadiano**

*DNA Methylation, overweight-obesity and genes of the circadian cycle*

Juan Manuel Alfaro Velásquez<sup>1</sup>, Laura María Jaramillo Espinosa<sup>2</sup>, Elsa María Vásquez Trespalacios<sup>3</sup>, Rodrigo Urrego<sup>4</sup>

1. Grupo de investigación en Ciencias Básicas. Escuela de Graduados. Universidad CES. Medellín Colombia. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso tercero, Medellín, Antioquia, Colombia.
2. Médico. Universidad CES.
3. Facultad de Medicina, Universidad CES. División de posgrados clínicos. Grupo de investigación Observatorio de la Salud Pública. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, Piso Tercero, Medellín, Antioquia, Colombia.
4. Grupo INCA-CES. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Medellín, Colombia. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, Piso Cuarto, Medellín, Antioquia, Colombia.

**Título corto:** Obesidad y ciclo circadiano.

**E-mails:**

JAV: [juan.alfaro@ces.edu.co](mailto:juan.alfaro@ces.edu.co)

LJE: [lajaramilloe6@gmail.com](mailto:lajaramilloe6@gmail.com)

RUA: [rurrego@ces.edu.co](mailto:rurrego@ces.edu.co)

EVT: [evasquez@ces.edu.co](mailto:evasquez@ces.edu.co)

**\*Autor para correspondencia:**

Juan Manuel Alfaro Velásquez

Basic Sciences Research Group, Graduates School – CES University  
Calle 10A N° 22-04. Medellín, Antioquia, Colombia.  
Phone: (4) 4440555  
juan.alfaro@ces.edu.co

## **Resumen**

El sobrepeso-obesidad es una enfermedad crónica no transmisible de origen multifactorial, con determinantes desde la vida fetal, dependiente de epigenética-medioambiente y con influencia sobre la metilación del ADN. Interferencias posnatales de ritmos biológicos sincronizados con el cosmos (Zeitgeber) se asocian con obesidad y con genes del ciclo circadiano. En mamíferos estos dependen de un marcapaso biológico en el hipotálamo para la programación cotidiana en los tejidos. Introducir y conservar cambios que interfieran los hábitos luz-oscuridad, sueño-vigilia y horarios de alimentación-ayuno alteran secuencias “programables” del día a día generando patrones diferenciales de metilación de estos genes. El objetivo de esta revisión es analizar la relación entre metilación del ADN-obesidad-medio ambiente y su impacto en genes del ciclo circadiano. Nuevos enfoques son necesarios para el entendimiento de esta enfermedad y así poder prevenir.

## **Palabra clave**

Metilación del ADN, ritmo circadiano, obesidad pediátrica, sueño-vigilia.

## **Abstract**

Overweight-obesity is a chronic non-communicable disease of multifactorial origin with determinants from fetal life, dependent on epigenetics-environment and with influence on DNA methylation. Postnatal interferences of biological rhythms synchronized with the cosmos (Zeitgeber) are associated with obesity and genes of the circadian cycle. In mammals, these depend on a biological pacemaker in the hypothalamus for everyday programming in the tissues. Introducing and preserving changes that interfere with habits such as light-dark, sleep-wake, and eating-fasting schedules alter “programmable” sequences from day to day, generating differential patterns of methylation of these genes. The objective of this review is to analyze the relationship between DNA methylation-obesity-environment and its impact on genes of the circadian cycle. New approaches are necessary to understand this disease and thus be able to prevent it.

## Key words

DNA methylation, circadian rhythm, programming, pediatric obesity, sleep-wake.

## Introducción

La epigenética estudia mecanismos que regulan cambios en la expresión de los genes sin modificar la secuencia de nucleótidos del ADN, cambios que pueden ser mitótica y meióticamente heredables (1,2). Los cambios epigenéticos desempeñan un papel relevante en el desarrollo de enfermedades inflamatorias, cáncer y obesidad (3,4). Las modificaciones epigenéticas se clasifican en tres categorías, 1) metilación del ADN o adición de grupos metilo sobre el carbono 5 de las citosinas de sitios CpG, con efecto generalmente de silenciamiento sobre la expresión génica, 2) modificación de las histonas en la región N-terminal con efectos variables en la transcripción y 3) acción de los RNA no codificantes (ARNnc) o moléculas funcionales de RNA que no traducen proteína pero participan en la regulación de la expresión génica con efectos variables, predominantemente inhibitorios (silenciamiento) o de degradación a mRNA (clivaje).

Inicialmente la relación entre epigenética y obesidad se evidencia por cambios de metilación del ADN en genes codificantes de adipoquinas y de moléculas reguladoras del apetito (5): hipermetilación del gen de la melanocortina y metilación diferencial del gen de la leptina y de la adiponectina han sido reportadas. Posteriormente se encuentra que algunos tipos sindrómicos de obesidad infantil (Angelman y Prader Willi) dependen en un 2-5% de improntación o cambios de metilación de genes en la región 15q11-q13 (6). En la última década la atención se dirige a cambios de metilación en células del cordón umbilical de niños de madres con alteración de peso gestacional y/o con ambiente intrauterino adverso analizando como prototipo los nacidos con bajo peso (7).

Luego de 50 años de investigación se aclara la relación entre ritmo circadiano, estilos de vida y obesidad. Las observaciones iniciales de Konopka y Benzer (1971) (8) en *Drosophila melanogaster* manipulando genéticamente su actividad locomotora dependiente de la luz y, los aportes de Rosbash, Hall y Young (premio Nobel de Medicina o fisiología en 2017) (9) determinan que la pérdida del control de ritmos biológicos sincronizados con el cosmos (Zeitgeber) (10) se relacionarían con obesidad. Los genes del reloj circadiano involucrados son *CLOCK* (*Circadian Locomotor Output Cycles Kaput*), *BMAL1* (receptor nuclear translocador de aril

hidrocarburos en cerebro y músculo), *Cry* (*criptocromo*) y la familia *PER* (genes *period*), estos últimos ya descritos con metilación diferencial del ADN en adolescentes obesos (11).

La pérdida de control de algunos ritmos circadianos y el desarrollo de obesidad se determina por la asincronía entre el medio ambiente externo (p.e. hábito de consumo de alimentos) y las señales destinadas a procesos fisiológicos (12). Este “cambio” en los estilos de vida altera patrones de metilación de sus genes.

En Colombia la prevalencia de sobrepeso-obesidad en adultos es de 56 % y en menores de 18 años de 17,53 % (13). En América el 58% de su población (360 millones de personas) vive con sobrepeso-obesidad (14) y en Latinoamérica del 20 al 25 % de los menores de 18 años padecen sobrepeso u obesidad (14). Por lo tanto, el objetivo de esta revisión es poner en consideración la relación entre obesidad y los patrones de metilación de algunos genes del ciclo circadiano como componentes influenciados por el medio ambiente. Se revisó la información en PubMed y Lilacs durante el período abril de 2018 a abril de 2021 con términos MESH que involucraron metilación del ADN, ritmo circadiano, programación, obesidad y patrones de sueño-vigilia.

### **Metilación del ADN en obesidad.**

La metilación del ADN toma lugar por las ADN metiltransferasas (DNMTs) que introducen el grupo metilo de la S-adenosil-L-metionina (SAM) al carbono 5' de la citosina (15).

#### Metilación prenatal del ADN

Las deficiencias nutricionales con bajos niveles del grupo metilo por lapsos de tiempo variable disminuyen su aporte al ADN. La temporalidad de estas experiencias se extienden hasta la primera infancia y sus resultados corresponde con la adaptabilidad o “programación” (15). Estas alteraciones durante períodos críticos del desarrollo prenatal y posnatal modifican el riesgo de desarrollar enfermedades complejas en la vida adulta como diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares, cáncer y obesidad (7, 15).

La no continuidad de una precaria nutrición gestacional durante la vida posnatal, reconocida en niños nacidos con bajo peso y diseñada para la sobrevivencia, genera riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular hasta 4 décadas más tarde

(16, 17). En individuos con bajo peso al nacer de origen multifactorial se confirma menor metilación del gen del factor 2 similar a la insulina (*IGF2*) (18) y alteraciones de metilación en genes implicados en crecimiento y metabolismo. Se propone la existencia de genes del “fenotipo ahorrador” (thrifty genes) (19), genes que serían influenciados durante la gestación frente al bajo consumo de metionina y colina. Según sean las características de su metilación in útero se establece control y programación de rutas de señalización de insulina (entre otras) modificando la capacidad metabólica del individuo para la vida postnatal (20).

Finalmente, condiciones de morbilidad gestacional inducen cambios de metilación del ADN sobre genes a modo individual (21-,23) y según el evento desencadenante (24); analizar el patrón de metilación del ADN en células del cordón umbilical se relacionaría con factores antenatales (25), situación que por el momento se debe considera como antecedente a explorar en el desarrollo de obesidad. La tabla 1 reúne cambios de metilación del ADN en algunos genes evaluados en células del cordón umbilical teniendo en cuenta el desarrollo de bajo peso al nacer y los cambios del IMC materno.

**Tabla 1.** Consideraciones gestacionales y cambios del patrón de metilación de algunos genes evaluados en el período neonatal inmediato

Evento	Resultado	n	Genes	Muestra	Autores	Tipo de estudio
Ganancia temprana de peso gestacional	Hipermetilación	88	<i>MMP7</i> <i>KCNK4</i> <i>TRPM5</i> <i>NFKB1</i>	Células del cordón umbilical	Morales <i>et al</i> (21)	Cohorte prospectiva
Modificación del peso preconcepcional en el embarazo	Patrones diferenciales de metilación	308	<i>ZCCHC10</i> <i>WNT16</i> <i>ANGPTL2</i> <i>SAPCD2</i> <i>ADCY3</i> <i>PRR16</i> <i>ERBB2</i> <i>DOK2</i> <i>PLAC1</i> <i>C18orf8</i>	Células del cordón umbilical	Liu <i>et al</i> (22)	Cohorte prospectiva
Intervención a la obesidad materna durante la gestación	Patrones diferenciales de metilación	208	<i>DISC1</i> <i>GBX2</i> <i>HERC2</i> <i>HUWE1</i>	Células del cordón umbilical	Jonsson <i>et al</i> (26)	Casos y controles
Partos pretermino	Hipometilación del promotor	170	<i>MC4R</i> <i>HNF4α</i>	Células del cordón umbilical	Kwon, <i>et al</i> (27)	Casos y controles
Gestación en madres obesas	Hipermetilación	29	<i>PRKAG2</i> <i>ACC2</i> <i>CPT1A</i> <i>SDHC</i>	Células mesenquimales de tejidos del cordón umbilical	Boyle <i>et al</i> (28)	Casos y controles
Gestación en madres obesas pregestacionales y gestacionales	Hipometilación del promotor del gen <i>LEP</i>	60	<i>LEP</i>	Células del cordón umbilical	Lesseur <i>et al</i> (29)	Casos y controles

Gestación de madres obesas y no obesas y/o edad gestacional del producto	Hipermetilación del promotor del gen <i>AHRR</i>	531	<i>AHRR</i>	Células del cordón umbilical	Burris <i>et al</i> (30)	Casos y controles
Madres diabéticas y no diabéticas	Metilación diferencial del gen <i>SH3PXD2A</i>	95	<i>SH3PXD2A</i>	Células del cordón umbilical	Yang <i>et al</i> (31)	Casos y controles
Madres obesas periconcepcionales	Hipometilación	92	<i>MEST</i> <i>PEG3</i> <i>NNAT</i>	Células del cordón umbilical	Soubry <i>et al</i> (32)	Casos

## Metilación posnatal del ADN

La mayoría de las modificaciones epigenéticas durante el desarrollo humano posnatal son dependientes de factores nutricionales y ambientales (33). La Nutriepigenética estudia la relación molecular entre componentes de la dieta y los genes.

La metionina, el ácido fólico (donadores de metilo), algunos ácidos orgánicos de cadena corta, las isoflavonas (soja) y la vitamina B12 son determinantes en esta relación, lo mismo que ambientes posnatales con dietas densamente calóricas o con altas concentraciones de glucosa y colesterol; estas últimas relacionan mayor actividad de metiltransferasas y de acetiltransferasas modificando perfiles epigenéticos. La tabla 2 relaciona cambios epigenéticos y vías de señalización severamente influenciadas por condiciones de adiposidad o de enfermedad.

**Tabla 2.** Interacción entre vías metabólicas y cambios epigenéticos

Autores	Vía de señalización	Cambio epigenético
Costa <i>et al</i> (34)	Per3-Glucocorticoides-PPAR gamma en células madre mesenquimales	Expresión disminuida de PER3 con incremento de la adiposidad.
Elbein <i>et al</i> (35).	Acción de la insulina sobre adipocitos y miocitos de individuos obesos con resistencia a la insulina	Expresión diferencial del gen PER3
Casanello <i>et al</i> (36)	Conversión de piruvato a acetil-CoA mitocondrial del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (respiración celular).	Hipometilación del gen de la piruvato deshidrogenasa 4 del músculo esquelético.
Pinzón-Cortes JA <i>et al</i> (37)	Incremento de la energía celular por el ciclo de los ácidos tricarboxílicos a partir de Acetil-CoA (ciclo de Krebs).	Incremento de la demetilación por la familia TET ( <i>Ten Eleven Traslocacion</i> ) secundaria a elevados niveles de oxoglutarato del ciclo de Krebs
Arroyo-Jousse (38)	Biosíntesis del grupo S-adenosil metionina (SAM) en diabéticos tipo 1	Hipometilación global del ADN por baja incorporación de folatos y homocisteína al grupo SAM e inhibición de metil transferasas

Durante el desarrollo de obesidad posnatal hay hipermetilación del gen *POMC* (proopio melano cortina) y metilación diferencial de los genes de la leptina (*LEP*), del gen del receptor de la leptina (*LEPR*), del gen de la adiponectina (*ADIPOQ*) más

algunos del grupo del reloj circadiano influenciados por factores ambientales. Los genes del grupo circadiano influenciados por medioambiente son *CLOCK*, *BMAL1* y la familia *PER*, estos últimos relacionados con cambios del perímetro de la cintura y desarrollo de síndrome metabólico en adolescentes obesos (39).

## **Obesidad en el modelo circadiano**

Generalidades.

Un ritmo circadiano es un proceso que se cumple cada 24 horas regulando actividades metabólicas, hormonales y de conducta. Obedece a una actividad transcripcional intrínseca y autosostenible de los genes “reloj/clock” que se expresan de modo rítmico en cerebro y tejidos periféricos ajustados a periodos de luz-oscuridad para sincronizar ritmos como sueño-vigilia, alimentación-ayuno y determinar rutinas de metilación (40, 41).

El ritmo circadiano es un proceso de mantenimiento de tiempo interno dependiente de un marcapasos biológico endógeno genéticamente determinado, que adapta al individuo a los cambios rítmicos de luz y oscuridad haciendo concordancia entre estos y las funciones biológicas (41, 42). Esta adaptación se relaciona con la rotación de la tierra sobre su eje que determina la exposición periódica a luz, temperatura y disponibilidad de alimento entre otros (10). El reloj central está en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo e influye sobre “relojes” periféricos generando orden temporal de actividades rítmicas como dormir-despertar, descanso-actividad, constantes vitales, liberación de insulina y consumo de oxígeno (41, 42).

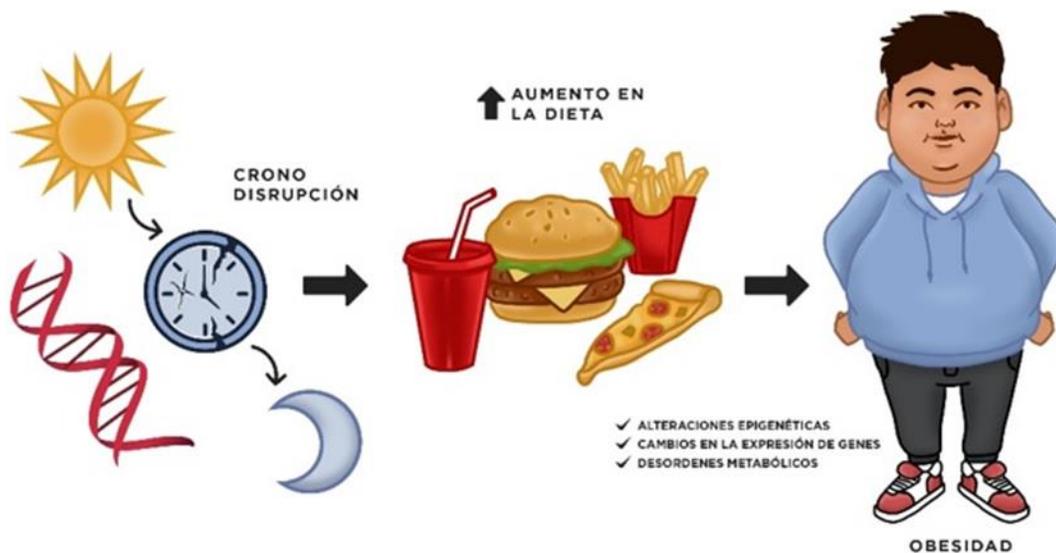
En mamíferos los genes *PER1*, *PER2*, *PER3*, *CRY1*, *CRY2*, *CLOCK*, *BMAL1* y *NPAS2* controlan la actividad circadiana (40, 43). Su expresión depende de aspas activantes y represoras: las proteínas clock, Bmal1 y de dominio neuronal tipo2 inician la activación; las proteínas del grupo período y criptocromo la bloquean (41, 42).

El ciclo se inicia con las primeras horas de la mañana cuando los heterodímeros proteicos *CLOCK:BMAL1* activan la transcripción de los genes *PER* y *CRY* generando las proteínas del grupo período y criptocromo (44, 45). Al inicio de la noche estas proteínas se heterodimerizan en el citosol, son fosforiladas por cinasas dependientes de ciclinas y se translocan al núcleo. La acumulación nuclear progresa durante la noche inhibiendo la transcripción de los genes *PER* y *CRY* permitiendo la

transcripción del gen *BMAL1* (45). Altas concentraciones de la proteína BMAL1 favorece la formación de los heterodímeros CLOCK: BMAL1 reanudando el ciclo (46). Las acciones transcripcionales opuestas de los dímeros CLOCK:BMAL1 y PER:CRY indican la periodicidad antagónica de señales cada 24 horas logrando activación máxima y mínima para la expresión de sus genes; para *BMAL1* el pico máximo de expresión es a media noche en tanto que para *PER-CRY* es al medio día.

### Ciclo circadiano y obesidad.

Desde el hipotálamo el ritmo circadiano optimiza la función y el comportamiento de procesos metabólicos en células, órganos y sistemas (41, 42). Su activación comienza con el incremento de la proteína NPAS2 dependiente de las señales luz-retina-hipotálamo (47). La exposición cotidiana a la luz y el proceso organizado de la toma de los alimentos induce ritmos específicos de memoria a repetir cada 24 horas (40, 47). Alteraciones en la periodicidad (cronodisrupcion) para el consumo de los alimentos o en sus contenidos como la introducción de luz artificial durante la noche se investigan en el modelo obesogénico al interferir con la señal del “reloj” (48). La figura 1 ilustra la relación entre cronodisrupcion, epigenética y desórdenes metabólicos como la obesidad.



**Figura 1.** La cronodisrupción induce cambios epigenéticos en los genes de control del ciclo circadiano, lo que conlleva a cambios en los hábitos alimenticios generando un ambiente adecuado para el desarrollo de la obesidad, la cual viene acompañada de alteraciones epigenéticas, cambios en la expresión de los genes y desórdenes metabólicos.

Individuos expuestos a luz nocturna artificial (personal de enfermería, médicos, trabajadores por turnos) presentan alteraciones en los patrones de metilación de los promotores de los genes circadianos al ser comparados con individuos con trabajos diurnos (49-51); interrumpir ritmos cotidianos fisiológicos, favorece conductas relacionadas con cambio en el índice de masa corporal y resistencia a la insulina (52, 53).

Las asincronías del comportamiento alimentario alteran vías integradas del apetito desregulando relojes periféricos y modificando el patrón de metilación de los genes circadianos en los tejidos (52, 53). Cambios en los hábitos alimenticios y en los contenidos de carbohidratos y grasa interfieren el patrón de metilación de *BMAL1* (43, 48, 53). El momento de comer es decisivo en la acumulación de grasa y alteraciones en su periodicidad se relaciona con obesidad (48, 53).

Conservar señales lumínicas matutinas rutinarias normaliza patrones de metilación de promotores de genes con función orexígena y libera insulina (48): retrasos de esta rutina modifican señales postraduccionales alterando ritmos completos del ciclo circadiano, su periodicidad y su duración (43, 53). Por ende, cambios en las actividades rítmicas en los horarios de alimentación influyen la acción represiva de la transcripción que se da en ausencia de luz afectando las actividades circadianas de *CLOCK/BMAL1*, operador clave en la activación del promotor de los respectivos genes (43, 47).

Si bien las relaciones de los genes del ritmo circadiano con el medio ambiente son complejas y asociadas a estrés inducible como primera respuesta tanto a la luz matutina como al consumo de alimentos, el tipo de alimento y la relación actividad física/descanso deben conservar rutinas (hábitos) cotidianas repetibles y con pocas interferencias, herramientas necesarias en la prevención de la obesidad desde el punto de vista ambiental.

## **Conclusión**

La epigenética genera conocimientos fisiopatológicos que establecen relaciones de causalidad para algunas enfermedades complejas de origen multifactorial; esta revisión aporta herramientas de análisis al poner en consideración el protagonismo de determinantes ambientales (entorno) y la metilación del ADN de genes específicos del reloj circadiano, especialmente si su accionar no es fisiológico.

Si bien el sobrepeso y la obesidad son consecuencia del acumulo de calorías sin su debido gasto, la asincronía entre hábitos de vida y la temporalidad de la ingesta son determinantes; cambios perdurables en rutinas de alimentación interfieren con la armonía epigenética del sistema circadiano generando alteración de la metilación en genes regulatorios que se pueden correlacionar con parte del origen de la obesidad.

## REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

1. Reig G, Concha ML. Impronta Genómica y Desarrollo Embrionario. *Int J Morphol*. 2012;30(4):1453-7.
2. Bianco-Miotto T, Craig JM, Gasser YP, van Dijk SJ, Ozanne SE. Epigenetics and DOHaD: from basics to birth and beyond. *J Dev Orig Health Dis*. 2017;8(5):513-9.
3. Lavebratt C, Almgren M, Ekström TJ. Epigenetic regulation in obesity. *Int J Obes*. 2012;36(6):757-65.
4. Cavalli G, Heard E. Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature*. 2019;571(7766):489-99.
5. Schultz NS, Broholm C, Gillberg L, Mortensen B, Jorgensen SW, Schultz HS, et al. Impaired leptin gene expression and release in cultured preadipocytes isolated from Individuals born with low birth weight. *Diabetes*. 2014;63(1):111-21.
6. Carrasco P. Síndrome de Prader Willi y Síndrome de Angelman. *Ed Cont Lab Clin*. 2015. 27:1-12.
7. Kresovich JK, Zheng Y, Cárdenas A, Joyce BT, Rifas-Shiman SL, Oken E, et al. Cord blood DNA methylation and adiposity measures in early and mild-childhood. *Clin Epigenet*. 2017;9(1):86. DOI 10.1186/s13148-017-0384-9.
8. Konopka RJ, Benzer S. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1971;68(9):2112-6.
9. Huang R-C. The discoveries of molecular mechanisms for the circadian rhythm: The 2017 Nobel prize in physiology or medicine. *Biomedical Journal*. 2018;41(1):5-8.
10. Pickel L, Sung H-K. Feeding rhythms and the circadian regulation of metabolism. *Front Nutr*. 2020;7:39. doi: 10.3389/fnut.2020.00039.
11. Samblas M, Milagro FI, Mansego ML, Marti A, Martinez JA, GENOI members. *PTPRS* and *PER3* methylation levels are associated with childhood obesity: results from a genome-wide methylation analysis: *PTPRS* and *PER3* methylation in childhood obesity. *Pediatric Obesity*. 2018;13(3):149-58.
12. Ryckman K, Smith C. Epigenetic and developmental influences on the risk of obesity, diabetes, and metabolic syndrome. *DMSO: Targets and Therapy*- 2015; 8: 295-302.
13. Comité Institucional ENSIN. (2015). *Encuesta Nacional de la situación Nutricional – ENSIN-2015*. Minsalud. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/GCFI/documento-metodologico-ensin-2015.pdf>.
14. Rivera J, de Cossío T, Pedraza L, Aburto T, Sánchez T, Martorell R. Childhood and adolescent overweight and obesity in Latin America: a systematic review. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2014;2(4):321-32.

15. Pauwels S, Ghosh M, Duca R, Bekaert B, Freson K, Huybrechts I, et al. Maternal intake of methyl-group donors affects DNA methylation of metabolic genes in infants. *Clin Epigenet.* 2017;9(1):16.
16. Grey K, Gonzales G, Abera M, Lelijveld N, Thompson D, Berhane M, et al. Severe malnutrition or famine exposure in childhood and cardiometabolic non-communicable disease later in life: a systematic review. *BMJ Glob Health.* 2021;6(3):e003161.
17. Zhou L-Y, Deng M-Q, Zhang Q, Xiao X-H. Early-life nutrition and metabolic disorders in later life: a new perspective on energy metabolism. *Chinese Medical Journal.* 2020;133(16):1961-70.
18. Murphy R, Baptista J, Holly J, Umpleby A, Ellard S, Harries L, et al. Severe intrauterine growth retardation and atypical diabetes associated with a translocation breakpoint disrupting regulation of the insulin-like growth factor 2 gene. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2008;93(11):4373-80.
19. Venniyoor A. PTEN: a thrifty gene that causes disease in times of plenty? *Front Nutr.* 2020;7:81. doi: 10.3389/fnut.2020.00081
20. Clark J, Martin E, Bulka C, Smeester L, Santos H, O'Shea T, et al. Associations between placental CpG methylation of metastable epialleles and childhood body mass index across ages one, two and ten in the extremely low gestational age newborns (ELGAN) cohort. *Epigenetics.* 2019;14(11):1102-11.
21. Morales E, Groom A, Lawlor D, Relton C. DNA methylation signatures in cord blood associated with maternal gestational weight gain: results from the ALSPAC cohort. *BMC Res Notes.* 2014;7(1):278. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1756-0500/7/278>
22. Liu X, Chen Q, Tsai H-J, Wang G, Hong X, Zhou Y, et al. Maternal preconception body mass index and offspring cord blood DNA methylation: exploration of early life origins of disease: maternal BMI and cord blood DNA methylation. *Environ Mol Mutagen.* 2014;55(3):223-30.
23. Solomon O, Macisaac J, Tindula G, Kobor M, Eskenazi B, Holland N. 5-hydroxymethylcytosine in cord blood and associations of DNA methylation with sex in newborns. *Mutagenesis.* 2019;34(4):315-22.
24. Murphy R, Ibáñez L, Hattersley A, Tost J. IGF2/H19 hypomethylation in a patient with very low birthweight, precocious pubarche and insulin resistance. *BMC Med Genet.* 2012;13(1):42. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1471-2350/13/42>
25. Czamara D, Eraslan G, Page C, Lahti J, Lahti-Pulkkinen M, et al. Integrated analysis of environmental and genetic influences on cord blood DNA methylation in new-borns. *Nat Commun.* 2019;10(1):2548. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10461-0>.
26. Jönsson J, Renault K, García-Calzón S, Perfilyev A, Estampador A, Nørgaard K. et al. Lifestyle Intervention in pregnant women with obesity impacts cord blood DNA methylation, which associates with body composition in the offspring. *Diabetes.* 2021;70(4):854-66.
27. Kwon E, Lee H, You Y-A, Park H, Cho S, Ha EH, et al. DNA methylations of MC4R and HNF4 $\alpha$  are associated with increased triglyceride levels in cord blood of preterm infants. *Medicine.* 2016;95(35):e4590.
28. Boyle K, Patinkin Z, Shapiro A, Bader C, Vanderlinden L, Kechris K, et al. Maternal obesity alters fatty acid oxidation, AMPK activity, and associated DNA methylation in mesenchymal stem cells from human infants. *Molecular Metabolism.* 2017;6(11):1503-16.
29. Lesseur C, Armstrong D, Paquette A, Koestler D, Padbury J, Marsit C. Tissue-specific Leptin promoter DNA methylation is associated with maternal and infant perinatal factors. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2013;381(1-2):160-7.

30. Burris H, Baccarelli A, Wright R, Wright R. Epigenetics: linking social and environmental exposures to preterm birth. *Pediatr Res*. 2016;79(1-2):136-40.
31. Yang I, Zhang W, Davidson E, Fingerlin T, Kechris K, Dabelea D. Epigenetic marks of *in utero* exposure to gestational diabetes and childhood adiposity outcomes: the EPOCH study. *Diabet Med*. 2018;35(5):612-20.
32. Soubry A, Murphy S, Wang F, Huang Z, Vidal A, Fuemmeler B, et al. Newborns of obese parents have altered DNA methylation patterns at imprinted genes. *Int J Obes*. 2015;39(4):650-7.
33. Concepto de Developmental Origins of Health and Disease: el ambiente en los primeros mil días de vida y su asociación con las enfermedades no transmisibles. *Arch Argent Pediat [Internet]*. 1 de agosto de 2020 [citado 20 de septiembre de 2021];118(4). Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2020/v118n4a27s.pdf>
34. Costa M, So AY-L, Kaasik K, Krueger K, Pillsbury M, Fu Y-H, et al. Circadian rhythm gene period 3 is an inhibitor of the adipocyte cell fate. *Journal of Biological Chemistry*. 2011;286(11):9063-70.
35. Elbein S, Kern P, Rasouli N, Yao-Borengasser A, Sharma N, Das S. Global gene expression profiles of subcutaneous adipose and muscle from glucose-tolerant, insulin-sensitive, and insulin-resistant individuals matched for BMI. *Diabetes*. 2011;60(3):1019-29.
36. Casanello P, Krause B, Castro-Rodríguez J, Uauy R. Epigenética y obesidad. *Revista Chilena de Pediatría*. 2016;87(5):335-42.
37. Pinzón-Cortés J, Perna-Chaux A, Rojas-Villamizar N, Díaz-Basabe A, Polanía-Villanueva D, Jácome M, et al. Effect of diabetes status and hyperglycemia on global DNA methylation and hydroxymethylation. *Endocrine Connections*. 2017;6(8):708-25.
38. Arroyo-Jousse V, García-Díaz D, Pérez-Bravo F. La metilación global del ADN y los niveles de homocisteína en plasma se encuentran disminuidos en pacientes con diabetes mellitus tipo 1. *Rev méd Chile*. 2015;143(5):562-8.
39. O'bri A, Serra D, Herrero L, Mera P. The role of epigenetics in the development of obesity. *Biochemical Pharmacology*. 2020;177:113973.
40. Mendoza J, Pévet P, Challet E. High-fat feeding alters the clock synchronization to light: high-fat diet alters circadian synchronization. *The Journal of Physiology*. 2008;586(24):5901-10.
41. Dudek M, Meng Q-J. Running on time: the role of circadian clocks in the musculoskeletal system. *Biochemical Journal*. 2014;463(1):1-8.
42. Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ. Gut clock: implication of circadian rhythms in the gastrointestinal tract. 2011; 62(2):139-150.
43. Haque S, Booreddy S, Welsh D. Effects of BMAL1 manipulation on the brain's master circadian clock and behavior. *Yale Journal of Biology Medicine*. 2019;92:252-258.
44. Bhadra U, Thakkar N, Das P, Pal Bhadra M. Evolution of circadian rhythms: from bacteria to human. *Sleep Medicine*. 2017;35:49-61.
45. Trott A, Menet J. Regulation of circadian clock transcriptional output by CLOCK:BMAL1. Kramer A, editor. *PLoS Genet*. 2018;14(1):e1007156.
46. Leloup J, Goldbeter A. Modelling the dual role of Per phosphorylation and its effect on the period and phase of the mammalian circadian clock. *IET Systems Biology*. 2011;5(1):44-9.
47. Olkkonen J, Kouri V-P, Kuusela E, Ainola M, Nordström D, Eklund K, et al. DEC2 blocks the effect of the ARNTL2/NPAS2 dimer on the expression of PER3 and DBP. *Journal of Circadian Rhythms*. 2017;15(1):6, pp 1-10.

48. Lopez-Minguez J, Gómez-Abellán P, Garaulet M. Timing of breakfast, lunch, and dinner. Effects on obesity and metabolic risk. *Nutrients*. 2019;11(11):2624. doi:10.3390/nu11112624.
49. Reszka E, Wieczorek E, Przybek M, Jabłońska E, Kałużny P, Bukowska-Damska A. et al. Circadian gene methylation in rotating-shift nurses: a cross-sectional study. *Chronobiology International*. 2018;35(1):111-21.
50. Bhatti P, Zhang Y, Song X, Makar K, Sather C, Kelsey K, et al. Nightshift work and genome-wide DNA methylation. *Chronobiology International*. 2015;32(1):103-12.
51. Bukowska-Damska A, Reszka E, Kaluzny P, Wieczorek E, Przybek M, Zienolddiny S. et al. Sleep quality and methylation status of core circadian rhythm genes among nurses and midwives. *Chronobiology International*. 2017;34(9):1211-23.
52. Samblas M, Milagro F, Gómez-Abellán P, Martínez J, Garaulet M. Methylation on the circadian gene *BMAL1* is associated with the effects of a weight loss intervention on serum lipid levels. *J Biol Rhythms*. 2016;31(3):308-17.
53. Ramos-Lopez O, Samblas M, Milagro F, Riezu-Boj J, Crujeiras A, Martinez J, et al. Circadian gene methylation profiles are associated with obesity, metabolic disturbances and carbohydrate intake. *Chronobiology International*. 2018;35(7):969-81.

**Revista: Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo**

**Ref. num: RAEM-2021-111**

Estimado Autor:

Me es grato comunicarle que su manuscrito ha sido aceptado para su publicación en RAEM.  
Oportunamente le enviaremos la prueba de galera y fecha de publicación.

Saludos cordiales.

**Prof. Dr. Osvaldo J. Ponzo**

Director Editorial

Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo

Departamento de Fisiología - Facultad de Medicina; Universidad de Buenos Aires. Paraguay 2155 (1113). Buenos

**RAEM**

Director: Osvaldo Juan Ponzo

Editores Asociados: Sergio Mario Aszpis, Cristina Faingold, Ana Maria Orlandi

RAEM | REVISTA ARGENTINA DE ENDOCRINOLOGÍA Y METABOLISMO  
Copyright © RAEM. Todos los derechos reservados. ISSN 0326-4610. Buenos Aires (Argentina)

Web: [www.raem.org.ar](http://www.raem.org.ar) // Email: [raem@raem.org.ar](mailto:raem@raem.org.ar)

Publicación de la Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo (SAEM) y de la Federación Argentina de Sociedades de Endocrinología (FASEN)

# **Capítulo 1. Caracterizar factores clínicos, sociodemográficos del nacimiento y los cambios en la composición corporal de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica entre julio 1 de 2008 a junio 30 de 2018 (Clínica CES de la ciudad de Medellín Colombia).**

**Objetivo específico 1.** Caracterizar los factores clínicos y sociodemográficos de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica que influyen en el desarrollo de obesidad pediátrica.

## ***ARTÍCULO SOMETIDO A LA REVISTA ACTA PEDIÁTRICA DE MEXICO***

---

### **Artículo original.**

### **Peso al nacer y comportamiento del índice de masa corporal entre los 4 y 17 años.**

Juan Alfaro Velásquez<sup>1</sup>, Laura Jaramillo Espinosa<sup>2</sup>, Diego Rojas-Gualdrón<sup>3</sup>, Rodrigo Urrego<sup>4</sup>, Elsa Vásquez Trespacios<sup>5</sup>

1. Grupo de investigación en Ciencias Básicas. Escuela de Graduados. Universidad CES. Medellín Colombia. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso tercero, Medellín, Antioquia, Colombia.
2. Médico. Universidad CES.
3. Grupo Especialidades Médico-quirúrgicas Universidad CES. Medellín. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso tercero, Medellín, Antioquia, Colombia.
4. Grupo INCA-CES. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Medellín, Colombia. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso cuarto, Medellín, Antioquia, Colombia.
5. Facultad de Medicina, Universidad CES. División de posgrados clínicos. Grupo de investigación Observatorio de la Salud Pública. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso tercero, Medellín, Antioquia, Colombia.

**Título corto:** índice de masa corporal según peso al nacer.

**E-mails:**

JAV: [juan.alfaro@ces.edu.co](mailto:juan.alfaro@ces.edu.co)

LJE: [lajaramilloe6@gmail.com](mailto:lajaramilloe6@gmail.com)

DRG: [dfrojas@ces.edu.co](mailto:dfrojas@ces.edu.co)

RUA: [rurrego@ces.edu.co](mailto:rurrego@ces.edu.co)

EVT: [evasquez@ces.edu.co](mailto:evasquez@ces.edu.co)

**\*Autor para correspondencia:**

Juan Manuel Alfaro Velásquez

Basic Sciences Research Group, Graduates School – CES University

Calle 10A N° 22-04. Medellín, Antioquia, Colombia.

Phone: (4) 4440555

[juan.alfaro@ces.edu.co](mailto:juan.alfaro@ces.edu.co)

**Resumen**

*Introducción:* La obesidad es una enfermedad crónica no transmisible y multifactorial relacionada con consumo de calorías, estilos de vida y bajo peso al nacer. Desde los 5 años se determina según el índice de masa corporal. En Colombia el sobrepeso y la obesidad incrementan su prevalencia en todas las edades pediátricas. Se analiza la trayectoria del índice de masa corporal en un grupo de escolares y adolescentes de Medellín considerando antecedentes prenatales y el peso al nacer. *Materiales y método:* estudio de casos y controles anidado en cohorte. Se analizó el cambio del índice de masa corporal de 37 niños desde los 4 años de edad, 19 nacidos con bajo peso. Las variables antenatales son hipertensión gestacional, diabetes gestacional, hemorragia gestacional, número de controles prenatales, número de abortos y edad gestacional; las postnatales son registro de lípidos, glucosa sérica y perímetro de cintura. *Resultados:* 54% de los pacientes desarrollan sobrepeso-obesidad, 50% habían nacido con bajo peso. El grupo obeso de bajo peso al nacer se relaciona con comorbilidad antenatal ( $p < 0,05$ ); el grupo obeso con peso normal al nacer desarrolla mayor incremento del índice de masa corporal ( $p < 0,05$ ). *Conclusiones:* el desarrollo de obesidad infantil se correlaciona con bajo peso al nacer, condiciones de salud de la madre y acelerado incremento del índice de masa corporal a partir de los 4 años.

## **Abstract**

Introduction: Obesity is a non-communicable and multifactorial chronic disease related to calorie consumption, lifestyles and low birth weight. From the age of 5, it is determined by the body mass index. In Colombia, overweight and obesity increase their prevalence in all pediatric ages. The trajectory of the body mass index in a group of schoolchildren and adolescents from Medellín is analyzed considering prenatal history and birth weight. Materials and method: case-control study nested in cohort. The change in the body mass index of 37 children from 4 years of age, 19 born with low weight, was analyzed. Antenatal variables are gestational hypertension, gestational diabetes, gestational bleeding, number of prenatal check-ups, number of abortions, and gestational age; the postnatal ones are lipid registration, serum glucose and waist circumference. Results: 54% of the patients develop overweight-obesity, 50% were born with low weight. The obese group with low birth weight is related to antenatal comorbidity ( $p < 0.05$ ); the obese group with normal birth weight developed a greater increase in body mass index ( $p < 0.05$ ). Conclusions: the development of childhood obesity is correlated with low birth weight, health conditions of the mother and accelerated increase in body mass index from 4 years of age.

## **Palabra Clave**

bajo peso al nacer  
índice de masa corporal  
sobrepeso  
factores de riesgo

## **Keywords**

low birth weight  
body mass index  
overweight  
risk factors

## **Introducción**

La obesidad es el exceso de depósitos de grasa por desequilibrio entre el consumo de calorías y el gasto de energía (1). En el mundo su prevalencia se triplicó entre 1975 y 2016 (2) por causas multifactoriales como mayor consumo de alimentos con alto contenido calórico, menor actividad física y sedentarismo (3). El sobrepeso y la obesidad se relacionan con mayor número de muertes en los entornos urbanos por dislipidemia, hipertensión arterial, alteración de tolerancia a la glucosa (ATG) y síndrome metabólico (SM) (4). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la prevalencia de sobrepeso y obesidad en adultos es respectivamente 39% y 18% (4); para la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), el 58% de los habitantes de América tienen sobrepeso y obesidad. En Colombia la prevalencia de sobrepeso-obesidad para edades de 12 a 19 años es 17%.

La nutrición fetal influye en la salud y la enfermedad de la adultez (5). El bajo peso al nacer (BPN) se relaciona con desarrollo de obesidad, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2 (DM<sub>2</sub>) y SM (6). En el mundo nacen cada año 20 millones de niños con bajo peso por factores fetales, maternos, placentarios y ambientales (7). En un tercio de los casos no se conoce la causa. En Colombia la prevalencia de BPN a 2017 es 9,2 % y en América latina y el caribe 9-10 % (8). A partir de los conceptos de Hales & Barker (9) nacer con bajo peso se relaciona con alteración de tolerancia a la glucosa (ATG), resistencia a la insulina (RI) y riesgo cardiovascular.

Según el consenso Latinoamericano para niños con BPN (10), este corresponde con peso inferior a percentil 10 por género y edad gestacional. Por recomendación OMS (adoptada en Colombia) es peso menor o igual a 2499 g (11). En escolares y adolescentes el sobrepeso-obesidad se relaciona con el perímetro de la cintura (PC) y el índice de masa corporal (IMC = kg/m<sup>2</sup>) (12, 13), este último, marcador clínico del riesgo de enfermedad cardiovascular y DM<sub>2</sub>.

Pocos reportes de cohortes analizan la relación sobrepeso-obesidad en niños con BPN donde casos y controles se sigan en el tiempo. Por ende, el objetivo de este estudio es analizar la trayectoria del IMC de un grupo de escolares y adolescentes de Medellín considerando antecedentes prenatales y el peso al nacer.

## **Materiales y métodos**

## Diseño del estudio.

Estudio de casos y controles anidado en cohorte de seguimiento en una consulta de endocrinología pediátrica de Medellín, aprobado por el comité institucional de ética en investigación en humanos de la Universidad CES (acta 122, mayo 8 de 2018). Los representantes legales dieron consentimiento informado por escrito y se tomó asentimiento del menor. Se valoró la capacidad de entendimiento y razonamiento mediante prueba psicométrica previo al asentimiento.

## Participantes.

Son 37 niños de la consulta externa de endocrinología pediátrica de la institución Clínica CES (Medellín-Colombia, 2008-2018) evaluados por endocrinólogo pediatra desde los 4 a los 18 años de edad, 19 mujeres y 18 varones, con controles consecutivos y registro del cambio del IMC durante al menos 7 años. Se excluyen hijos de partos múltiples, enfermedades cromosómicas o malformativas y obesidad monogénica.

## Variables.

La variable de resultado principal es el cambio del IMC ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) obtenido en posición vertical entre las 14:00–18:00 horas con la menor ropa posible empleando estadiómetro de pared Harpenden® (Ref.: HAR.98602VR, Gales, UK) y báscula de precisión Seca® 274 (Hamburgo, Alemania). Las variables de resultado secundario son el riesgo de SM, el PC, el valor lipídico y glucémico y el estado de sobrepeso u obesidad. El riesgo de SM se determinó según la International Diabetes Federation (IDF) (14) con tres de los siguientes cuatro criterios: PC  $\geq$  percentil 90 entre los 10 a 15 años o  $\geq$  a 94 cm en varones mayores de 15 años y  $\geq$  a 80 cm en niñas mayores de 15 años; glucemia (ayuno)  $\geq$  100 mg/dl o presencia de DM<sub>2</sub>; presión sistólica  $\geq$  130 mmHg o presión diastólica  $\geq$  85 mmHg o esté bajo tratamiento; triglicéridos (TG)  $\geq$  150 mg/dl o valores  $<$  40 mg/dl en varones tratados y  $<$  50 mg/dl en niñas tratadas. El PC se toma sobre el punto medio entre la última costilla y la cresta ilíaca (cinta métrica elástica, Prodalia®, Colombia). Sobrepeso es IMC con más de un desvío estándar (DE) arriba de la media pero menor de dos DE; obesidad es IMC mayor o igual a dos DE. Los controles son niños con IMC arriba de menos dos DE pero menor de un DE. Los equipos empleados tienen calibración anual a cargo de la unidad de métrica de la Clínica CES. Antecedentes neonatales

El peso al nacer y la edad gestacional se toman de registros del carné de vacunación y por datos maternos. Prematuro es el nacido con edad gestacional menor de 37 semanas a partir del primer día del último periodo menstrual. BPN es peso inferior a 2500 g (11). Diabetes gestacional es la diabetes que aparece por primera vez en el curso del embarazo. Hipertensión gestacional es tensión arterial  $\geq$  140/90 mmHg luego de 20 semanas gestacionales. Hemorragia gestacional es el sangrado vaginal durante la gestación.

### Evaluación Bioquímica

La muestra sanguínea procede de flebotomía antecubital (ayuno mayor a 8 horas) entre las 07:00 y las 08:30 AM con procesamiento inmediato en analizador de hematología DxC 700 AU (Beckman Coulter / serial B98654 / EE UU) empleando espectrofotometría y potenciometría. Se reportan TG, colesterol total (c-T), colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (c-HDL), colesterol ligado a proteínas de baja densidad (c-LDL) y glucemia.

### Tamaño de muestra y control de sesgos

La muestra se determinó por conveniencia. Los datos los toma endocrinólogo pediatra bajo protocolo para reducir posibles errores de extracción y a partir del historial condensado en la institución Clínica CES de Medellín. El control de sesgos dependió de los registros clínicos de nacimiento documentados por la madre, del reporte correcto de peso al nacer y de la edad gestacional.

### Análisis estadístico

En variables cuantitativas se empleó distribución de frecuencias y en cualitativas chi cuadrado. En muestras independientes se empleó test de Mann-Whitney y para datos dependientes pareados se empleó test de Friedman. El nivel de significancia es con  $p < 0,05$  (CI 95%). En el análisis longitudinal de datos cuantitativos se adopta modelo lineal (distribución de Poisson) empleando el programa STATA 16.1.

## Resultados

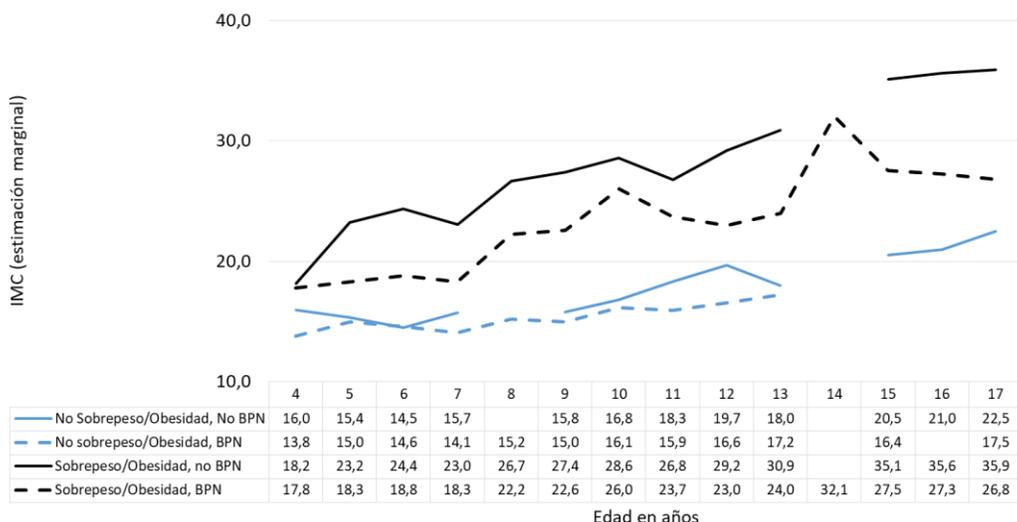
Se evaluaron 19 niñas (51,4%) y 18 varones (48,6 %), 20 desarrollan sobrepeso-obesidad (54,05%) y 17 son controles (45,95%). La tabla 1 reúne las características sociodemográficas y la gráfica 1 muestra la trayectoria del IMC entre los 4 a 17 años.

**Tabla 1.** Características sociodemográficas de casos y controles seguidos en la consulta de endocrinología pediátrica de la Clínica CES (2008-2018) según morbilidad antenatal, peso al nacer, edad materna al parto y edad gestacional.

Categoría	Casos (n=20)				Controles (n=17)			
	BPN (n=10)		No BPN (n= 10)		BPN (n=9)		No BPN (n=8)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Género</b>								
Masculino	2	5,4%	6	16,21%	4	10,81%	6	16,2%
Femenino	8	21,62%	4	10,81%	5	13,51%	2	5,4%
Diabetes gestacional	1	2,7%	1	2,7%	0	0%	0	0%
Hipertensión gestacional	2	5,4%	0	0%	0	0%	1	2,7%
Hemorragia gestacional	3	8,11%	0	0%	0	0%	0	0%
<b>Peso neonatal</b>								
< 1000 g	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
1000 - 1499 g	0	0%	0	0%	2	5,4%	0	0%
1500 - 2499 g	8	21,62%	0	0%	7	18,92%	0	0%
2500 - 3799 g	2	5,4%	9	24,32%	0	0%	7	18,92%
≥ 3800 g	0	0%	1	2,7%	0	0%	1	2,7%
<b>Edad materna al parto</b>								
< 18 años	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
18 a 34 años	7	18,92%	9	24,32%	7	18,92%	8	21,62%
≥ 35 años	3	8,11%	1	2,70%	2	5,4%	0	0%
<b>Edad gestacional</b>								
< 30 semanas	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
30 - < 37 semanas	6	16,2%	1	3,7%	6	16,2%	0	0%
37 – 41 semanas	4	10,8%	9	24,3%	3	8,1%	8	21,6%
> 41 semanas	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%

BPN: bajo peso al nacer.

**Gráfica 1.** Trayectoria del índice de masa corporal (media marginal) según sobrepeso-obesidad y antecedente de bajo peso al nacer (BPN) entre los 4 y 17 años.



Se determinó la media del cambio anual del IMC según sobrepeso-obesidad y antecedente de BPN, ajustada por morbilidad del embarazo (hipertensión inducida por el embarazo, diabetes gestacional y hemorragia gestacional), número de controles prenatales, número de abortos y edad gestacional. Los controles no mostraron cambios significativos según peso al nacer. La media del cambio anual del IMC en los casos vs control fue significativo ( $p < 0,001$ ). En los casos, la magnitud de incremento del IMC fue más alto en nacidos con peso normal que en nacidos con bajo peso, con promedio anual de 1,59 (IC 1,28 – 1,90). En los nacidos con bajo peso el promedio de magnitud anual de incremento del IMC fue 1,06 (IC 0,74 – 1,38). Los antecedentes por los que se ajustó la media del cambio anual del IMC no mostraron efecto confusor relevante. La tabla 2 compara los grupos de casos vs control relacionando la estimación cruda y ajustada del cambio del IMC (IC 95%). El seguimiento promedio de casos y controles son 7 años.

**Tabla 2.** Estimación cruda y ajustada de la media de cambio anual (estimación marginal) en el IMC según sobrepeso-obesidad y bajo peso al nacer

Grupo	Observado				Ajustado			
	Cambio medio	valor p	IC95%		Cambio medio	valor p	IC95%	
No Sobrepeso-obesidad y peso normal al nacer	0,23	0,123	-0,06	0,53	0,14	0,278	-0,11	0,39
No sobrepeso-obesidad y bajo peso al nacer	-0,02	0,907	-0,32	0,28	-0,09	0,500	-0,34	0,17
Sobrepeso-Obesidad y peso normal al nacer	1,60	0,000	1,25	1,95	1,59	0,000	1,28	1,90
Sobrepeso-Obesidad y bajo peso al nacer	0,97	0,000	0,64	1,29	1,06	0,000	0,74	1,38

Los nacimientos ocurren en promedio a los 28,59 años ( $\pm 5,37$  DE) con 36,81 semanas gestacionales ( $\pm 2,23$  DE) y 2.612,97 g ( $\pm 681,44$  DE) ( $p < 0,05$ ). Ocho gestantes (21,61%) desarrollan morbilidad asociada al embarazo (hipertensión inducida por el embarazo, diabetes gestacional y hemorragia gestacional) con predominio de hijos con BPN. No hay exposición al tabaco.

Según criterios IDF (14) 13 participantes del grupo de casos tienen riesgo de SM, 9 nacidos con peso normal. El c-HDL ( $p < 0,05$ ) y los TG ( $p < 0,05$ ) tiene valor estadístico significativo comparando sobrepeso-obeso vs control (tabla 3). No hay DM<sub>2</sub>.

**Tabla 3.** Indicadores de riesgo metabólico durante el desarrollo de sobrepeso-obesidad según peso al nacer, índice de masa corporal (IMC), perímetro de cintura (PC) y variables metabólicas evaluadas.

	Edad al cierre (años)	Genero	IMC* Kg/m <sup>2</sup>	IMC D.E.	PC* cm	Percentil PC	Glicemia* mg%	c-HDL* mg%	Triglicéridos* mg%	c-T* mg%	c-LDL* mg%
Sobrepeso-obesidad en nacidos con bajo peso	12	M	29,61	>2	97	> p90	99	32,7	237	138	85,2
	13	F	26,01	1-2	98	> p90	94	34,4	242	160	94,1
	15	M	35,64	>2	102	> p90	93	40,1	138	142	94,2
	17	F	26,70	1-2	94	>80 cm	102	39,3	97	172	126,9
	10	M	22,74	>2	83	> p90	84	62,2	29	264	105,9
	11	M	23,93	>2	85	> p90	107	60,3	65	115	52,6
	11	M	31,54	>2	105	> p90	102	41,4	139	152	95,8
Sobrepeso-obesidad en nacidos con peso normal	12	F	31,68	>2	102	> p90	89	63,9	106	137	67,7
	16	M	40,50	>2	128	>94 cm	89	37,3	127	160	108,5
	17	M	42,43	>2	132	>94 cm	95	25,3	212	127	83,1
	17	M	40,27	>2	122	>94 cm	107	40,1	198	158	95,1
	17	F	37,29	>2	122	>80 cm	101	28,8	190	134	89,7
	17	F	35,95	>2	95	>80 cm	99	46,3	85	167	117,9

\*Criterios de la International Diabetes Federation (IDF) (14). M: masculino. F: femenino. c-HDL: colesterol ligado a proteínas de alta densidad. c-T: colesterol total. c-LDL: colesterol ligado a proteínas de baja densidad.

## Discusión.

En el origen de las enfermedades crónicas no transmisibles incluyendo la obesidad, son prioritarias las condiciones de bienestar fetal y el peso al nacer (factores de exposición); la restricción alimentaria periconcepcional y/o durante el primer trimestre del embarazo se relaciona con enfermedad cardiovascular en tanto que la resistencia a la insulina y la hipertensión arterial se asocian con anomalías del último semestre (9, 15).

Para la OMS la edad materna avanzada es factor determinante en nacimientos con bajo peso, observación que no se correspondió en nuestro grupo donde las madres en su mayoría tenían entre 18 a 35 años pero elevado número de nacidos pretermino (1 en 3) y frecuente comorbilidad gestacional (1 en 5), características poco usuales a esta edad en madres colombianas (16); el menor nivel educativo de las gestantes, la situación marital y las condiciones socioeconómicas, frecuentemente asociadas con BPN, no se analizaron.

Dado que nuestra observación inicia a los 4 años de edad, no se conoce el comportamiento previo de la ganancia compensadora de peso; en población con BPN es frecuente que esta sea por encima de lo esperado (17), que de ser exagerada y persistente hasta la adolescencia, eleva el riesgo de obesidad para la vida adulta en un 77-92% (17) y con ella la de SM: en el grupo de casos, 2 de 3

tienen criterios de SM (14) con predominio de nacidos con peso adecuado, grupo que registra el mayor incremento del IMC ( $p < 0,05$ ). En los obesos con antecedente de BPN y con criterios de SM, el antecedente de hipertensión gestacional fue factor común, condición descrita en estudios colombianos (16, 18).

Eventos no evaluados y relacionados con obesidad infantil como aumento de peso materno durante el embarazo, conductas alimenticias, sedentarismo, patrones de sueño y dependencia de redes informáticas (19), se deben incluir en el desarrollo de estudios que empleen cohortes similares. En nuestro grupo de casos hay tendencia diferencial (temprana) a incremento del IMC, ya determinante desde los 8 años ( $p = 0,042$ ), lo que implica que las condiciones anticipadas medioambientales adversas y los hábitos desarrollados durante la infancia se involucran en el origen de la obesidad en concordancia con lo reportado en niños obesos españoles, latinoamericanos y estadounidenses (20- 22).

En el grupo de casos, el perímetro de la cintura ( $p < 0,05$ ), el c-HDL ( $p < 0,05$ ) y los TG ( $p < 0,05$ ) caracterizaron la presencia de SM. Nuestro grupo no se comportó diferente a la tendencia de esta comorbilidad en la creciente epidemia de obesidad entre jóvenes de la ciudad de Medellín, en donde se encontró prevalencia global de SM de 6,1% al ser valorados conjuntamente por el cambio del IMC y por alteración tanto del nivel de lípidos sanguíneos como de la glucemia (23).

A pesar de un bajo número de participantes analizados, este estudio se suma a los pocos publicados en Colombia de casos y controles (24-26) que relacionan en cohortes de seguimiento, la obesidad con SM y el bajo peso al nacer. Las aproximaciones aquí derivadas son parte informativa de un núcleo social que consulta en un nivel III-IV de atención en donde la obesidad infantil sigue escalando posiciones.

## **Conclusiones**

Nuestros hallazgos ratifican componentes de SM pediátrico en población que durante la infancia desarrolla sobrepeso-obesidad con o sin el antecedente de bajo peso al nacer. Una vez se determine un incremento anormal del IMC en el niño, este se debe correlacionar con indicadores metabólicos de comorbilidad a largo plazo.

El grupo de niños nacidos con peso adecuado que desarrolla obesidad tuvo mayor progresión del IMC, en tanto que en los nacidos con bajo peso, la obesidad se puede

relacionar entre otros con comorbilidades maternas. En ambos grupos se debe considerar a la obesidad infantil como nosología de etiología multifactorial con aporte de factores ambientales pre y posnatales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ruiz L, Zuelch M, Dimitratos S, Scherr R. Adolescent obesity: diet quality, psychosocial health, and cardiometabolic risk factors. *Nutrients*. 2019;12(1):43.
2. Nittari G, Scuri S, Petrelli F, Pirillo I, di Luca N, Grappasonni I. Fighting obesity in children from European World Health Organization member states. Epidemiological data, medical- social aspects, and prevention programs. *Childhood obesity*. *Clin Ter*. 2019;170(3):223-230.
3. Greydanus D, Agana M, Kamboj M, Shebrain S, Soares N, Eke R, et al. Pediatric obesity: current concepts. *Disease-a-month*. 2018;64(4):98-156.
4. Malo-Serrano M, Castillo M, Pajita D. La obesidad en el mundo. *An Fac Med*. 2017;78(2):67.
5. Hernández M, Mericq V. Metabolic syndrome in children born small-for-gestational age. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2011;55(8):583-9.
6. Ramírez-Vélez R, Correa-Bautista J, Villa-González E, Martínez-Torres J, Hackney A, García-Hermoso A. Effects of preterm birth and fetal growth retardation on life-course cardiovascular risk factors among school children from Colombia: The FUPRECOL study. *Early Human Development*. 2017; 106-107: 53-59.
7. Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, Sharma P. Intrauterine growth restriction – part 2. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2016;29(24):4037-48.
8. Daza V, Jurado W, Duarte D, Gich I, Sierra-Torres C, Delgado-Noguera M. Bajo peso al nacer: exploración de algunos factores de riesgo en el Hospital Universitario San José en Popayán (Colombia). *Rev Colomb Obstet Ginecol*. 2009;60(2):124-34.
9. Hales C, Barker D. The thrifty phenotype hypothesis. *British Medical Bulletin*. 2001;60(1):5-20.
10. Boguszewski M, Mericq V, Bergada I, Damiani D, Belgorosky A, González P, et al. Consenso Latinoamericano: niños pequeños para la edad gestacional. *Rev Chil Pediatr*. 2012;83(6):620-34.
11. Durán P, Merker A, Briceño G, Colón E, Line D, Abad V, et al. Colombian reference growth curves for height, weight, body mass index and head circumference. *Acta Paediatr*. 2016;105(3):e116-25.
12. Lo K, Wong M, Khalechelvam P, Tam W. Waist-to-height ratio, body mass index and waist circumference for screening paediatric cardio-metabolic risk factors: a meta-analysis: screening cardio-metabolic risk factors. *Obesity Reviews*. 2016;17(12):1258-75.

13. Patnaik L, Pattnaik S, Rao E, Sahu T. Validating neck circumference and waist circumference as anthropometric measures of overweight/obesity in adolescents. *Indian Pediatr*. 2017;54(5):377-80.
14. Reisinger C, Nikeh-Chungag B, Fredriksen P, Goswami N. The prevalence of pediatric metabolic syndrome a critical look on the discrepancies between definitions and its clinical importance. *Int J Obes*. 2021;45(1):12-24.
15. Pimiento-Infante L, Beltrán-Avendaño M. Restricción del crecimiento intrauterino: una aproximación al diagnóstico, seguimiento y manejo. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2015;80(6):493-502.
16. Mendoza-Tascón L, Claros-Benítez D, Mendoza-Tascón L, Arias-Guatibonza M, Peñaranda-Ospina C. Epidemiología de la prematuridad, sus determinantes y prevención del parto prematuro. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2016;81(4):330-42.
17. Concepto de Developmental Origins of Health and Disease: El ambiente en los primeros mil días de vida y su asociación con las enfermedades no transmisibles. *Arch Argent Pediat* [Internet]. 1 de agosto de 2020 [citado 20 de septiembre de 2021];118(4). Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2020/v118n4a27s.pdf>
18. Henao L, Cañón M, Herrera M. Caracterización de la morbilidad materna extrema en la Clínica Universitaria Colombia; una serie de casos. *Rev Med Sanitas*. 2016;12(2):66-77.
19. Echeburúa E, de Corral P. Adicción a las nuevas tecnologías y a las redes sociales en jóvenes: un nuevo reto. *Adicciones*. 2010. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2891/289122889001.pdf>.
20. Muñoz F, Arango-Álzate C. Childhood obesity: a new approach to its study. *Salud Uninorte*. 2017;33(3):492-503.
21. Bassan N, Solís C, Soldano O, Vinuesa M. Sobrepeso y obesidad en escolares de Rosario. Argentina. Relevancia de los factores hereditarios. *Rev Med Rosario*. 2011;7:130-136.
22. Robinson T, Banda J, Hale L, Lu A, Fleming-Milici F, Calvert S, et al. Screen media exposure and obesity in children and adolescents. *Pediatrics*. 2017;140 (Supplement 2):S97-101.
23. Agudelo-Ochoa G, Arias-Arteaga R. Prevalencia del síndrome metabólico en niños y adolescentes escolarizados del área urbana de la ciudad de Medellín. *IATREIA*. 2008;21(3):12.
24. Salazar-Sánchez L, Martínez N, Díaz-Palacios L, Estrada-Orozco K. Prevalencia de sobrepeso, obesidad y factores de riesgo en una cohorte de escolares en Bogotá, Colombia. *Pediatría*. 2020;53(1):5-13.
25. Zuluaga N, Osorno A, Lozano A, Villada O. Efecto clínico y metabólico de una intervención multidisciplinaria en el marco de un programa de atención integral para niños y adolescentes con obesidad. *Biomédica*. 2020;40(1):166-84.
26. Gamboa-Delgado E, Rangel-Díaz Y, Gutiérrez-Gómez Y. Asociación entre peso al nacer y factores de riesgo cardiometabólicos en niños de Bucaramanga, Colombia. *Nutr Hosp* [Internet]. 14 de septiembre de 2017 [citado 20 de septiembre de 2021]; Disponible en: <http://revista.nutricionhospitalaria.net/index.php/nh/article/view/1024>.

## **Capítulo 2. Metilación global del ADN y determinación de la metilación de un gen del ciclo circadiano y de un gen de la familia proteín-tirosín-fosfatasa durante el desarrollo de obesidad infantil empleando secuenciación de segunda generación.**

**Objetivo específico 2.** Determinar el perfil de metilación de *PER3* y *PTPRS* en niños obesos con o sin el antecedente de bajo peso al nacer de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica.

**Objetivo específico 3.** Establecer la asociación entre los perfiles de metilación global del ADN, de *PER3* y *PTPRS* y los factores clínicos y sociodemográficos que influyen en el desarrollo de obesidad pediátrica de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica.

### **Artículo original**

#### **Evaluación de metilación global del ADN en el desarrollo de la obesidad infantil, mediante microarreglos de metilación.**

Juan Manuel Alfaro Velásquez<sup>1\*</sup>, Elsa María Vásquez Trespalacios<sup>2</sup>, Nélida Rodríguez Osorio<sup>3</sup>, Rodrigo Urrego<sup>4</sup>

1. Grupo de investigación en Ciencias Básicas. Escuela de Graduados. Universidad CES. Medellín Colombia. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso tercero, Medellín, Antioquia, Colombia.
2. Facultad de Medicina, Universidad CES. División de posgrados clínicos. Grupo de investigación Observatorio de la Salud Pública. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso tercero, Medellín, Antioquia, Colombia.
3. Universidad de la República. Unidad de Genómica y Bioinformática. Departamento de Ciencias Biológicas. Centro Universitario Regional Litoral Norte, Universidad de la República. Rivera 1350 (50000) Salto, Uruguay.

4. Grupo INCA-CES. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad CES. Medellín, Colombia. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso cuarto, Medellín, Antioquia, Colombia.

Título corto: metilación del ADN y obesidad infantil

E-mails:

JAV: [juan.alfaro@ces.edu.co](mailto:juan.alfaro@ces.edu.co)

EVT: [evasquez@ces.edu.co](mailto:evasquez@ces.edu.co)

NRO: [nelida.rodriguez@unorte.edu.uy](mailto:nelida.rodriguez@unorte.edu.uy)

RUA: [rurrego@ces.edu.co](mailto:rurrego@ces.edu.co)

\*Autor para correspondencia:

Juan Manuel Alfaro Velásquez

Basic Sciences Research Group, Graduates School – CES University

Calle 10A N° 22-04. Medellín, Antioquia, Colombia.

Phone: (4) 4440555

[juan.alfaro@ces.edu.co](mailto:juan.alfaro@ces.edu.co)

## Resumen

*Introducción:* la obesidad es un estado inflamatorio crónico por interacción entre factores ambientales, genéticos y epigenéticos. Para la población colombiana, la cual posee un alto grado de mestizaje, no se conocen perfiles epigenéticos asociados con obesidad infantil evaluando metilación del ADN en estudios de asociación del epigenoma completo (EWAS). *Objetivo:* evaluar la metilación global del ADN en niños que desarrollan obesidad explorando genes candidatos con metilación diferencial y su importancia biológica. Se incluyen niños con bajo peso al nacer. *Métodos:* estudio de seguimiento a una cohorte de niños de la consulta externa endocrinológica de la Clínica CES 2008 a 2018. Se analizaron 16 niños (8 obesos y 8 no obesos) de una cohorte de 37. Se recolectaron muestras de sangre periférica. El ADN se obtuvo de leucocitos para análisis de 5 mC empleando la plataforma EPIC BeadChip arrays que cubre más de 850.000 sitios CpGs en todo el genoma. Se relaciona la metilación con el cambio del índice de masa corporal (IMC). *Resultados:* la metilación del ADN cambia significativamente entre obesos y no obesos en 41 sitios CpG de 11 genes ( $p < 0,05$ ). Empleando FDR hay hipermetilación de *TYRO3* (cg19169023) y *SMYD3* (cg04798314) e hipometilación de *DBH* (cg14007688), todos relacionados con el metabolismo de la glucosa. Se

confirmó cambio del patrón de metilación de *PER3* y *PTPRS* durante el desarrollo de obesidad. *Conclusión:* se reportan sitios diferencialmente metilados durante el desarrollo de obesidad infantil relacionados con rutas metabólicas y expresión de comorbilidad. El grupo obeso con bajo peso al nacer registra cambios metabólicos de mayor interés. El grupo obeso con peso normal al nacer tiene el mayor impacto de factores ambientales. *PER3* y *PTPRS* tienen sitios CpG con metilación diferencial al comparar obesos con sanos ( $p < 0,05$ ).

## **Abstract**

**Introduction:** obesity is a chronic inflammatory state due to the interaction between environmental, genetic and epigenetic factors. For the Colombian population, which has a high degree of miscegenation, there are no known epigenetic profiles associated with childhood obesity, evaluating DNA methylation in complete epigenome association studies (EWAS). **Objective:** to evaluate global DNA methylation in children who develop obesity, exploring candidate genes with differential methylation and their biological importance. Low birth weight children are included. **Methods:** Follow-up study of a cohort of children from the endocrinological outpatient clinic of the CES Clinic from 2008 to 2018. 16 children (8 obese and 8 non-obese) from a cohort of 37 were analyzed. Peripheral blood samples were collected. DNA was obtained from leukocytes for 5 mC analysis using the EPIC BeadChip arrays platform that covers more than 850,000 CpGs sites throughout the genome. Methylation is related to change in body mass index (BMI). **Results:** DNA methylation changes significantly between obese and non-obese in 41 CpG sites of 11 genes ( $p < 0.05$ ). By FDR there is hypermethylation of *TYRO3* (cg19169023) and *SMYD3* (cg04798314) and hypomethylation of *DBH* (cg14007688), all related to glucose metabolism. Change in the methylation pattern of *PER3* and *PTPRS* was confirmed during the development of obesity. **Conclusion:** differentially methylated sites are reported during the development of childhood obesity and related to metabolic pathways and expression of comorbidity. The obese group with low birth weight shows metabolic changes of greater interest. The obese group with normal birth weight has the greatest impact of environmental factors. *PER3* and *PTPRS* have CpG sites with differential methylation when comparing obese with healthy ( $p < 0.05$ ).

## **Palabra Clave**

epigenética  
metilación diferencial

inflamación crónica  
obesidad  
índice de masa corporal

## Key Word

epigenetics  
differential methylation  
chronic inflammation  
obesity  
body mass index

## Introducción

La obesidad es un padecimiento crónico por expansión global del tejido blanco adiposo con características de estado inflamatorio perenne (1). Es definida como el exceso en los depósitos de grasa por desequilibrio entre el consumo y el gasto de energía por interacción entre factores ambientales, susceptibilidad genética (2) y epigenética. El mecanismo epigenético, como la metilación del ADN, se puede definir como cambios reversibles que alteran la expresión génica sin modificaciones en la secuencia de nucleótidos (3). El epigenoma puede representar un vínculo entre los factores ambientales y el genoma para determinar el riesgo de obesidad.

En este sentido, las alteraciones epigenéticas que afectan la expresión génica podrían ser un factor determinante en la aparición de la obesidad infantil. Hay un cuerpo de evidencias que vienen relacionando las alteraciones en la metilación del ADN en la primera infancia con un mayor riesgo de obesidad en edades posteriores (4). El bajo peso al nacer (BPN) se relaciona con mayor susceptibilidad para el desarrollo de obesidad involucrando mecanismos epigenéticos como la metilación del ADN.

A partir del 2016 la tecnología por micromatrices (microarrays) y los modelos de secuenciación de segunda generación impulsan los estudios de asociación del epigenoma completo (EWAS) en preadolescentes y adolescentes que modifican su índice de masa corporal (IMC). Empleando Illumina 450K se reconocen 20 genes con sitios de metilación diferencial (5): *FYN*, *MLLT4*, *PIWL4*, *TAOK3*, *CFLAR*, *LMX1A*, *ZNF643*, *PER3*, *ACSF3*, *SNED1*, *SOS1*, *KLHL6*, *WDR51A*, *ST6GAL1*, *C3orf70*, *CYTH4-ELFN2*, *PRDM14*, *LOC101929268*, *CILP2* y *PTPRS*.

En Colombia, país que cuenta con un alto grado de mestizaje dentro de su población, la prevalencia de sobrepeso-obesidad en los últimos años se incrementó en todas las edades pediátricas y no se cuenta con análisis empleando EWAS para evaluar el estado de metilación de genes. Por ende, el objetivo de este estudio fue evaluar la metilación global del ADN en niños que desarrollan obesidad estableciendo comparación entre ellos según el peso al nacer.

## **Materiales y métodos**

### Diseño de estudio

Estudio EWAS con 16 niños menores de 18 años (62,5% varones y 37,5 % mujeres) de la consulta externa de endocrinología pediátrica de la institución Clínica CES (Medellín Colombia) (tabla 1).

### Población de estudio

16 participantes de 4 grupos: obesos nacidos de peso normal, obesos nacidos con bajo peso, BPN sin obesidad y grupo sanos (control); todos tienen registro del IMC durante al menos 7 años validados por endocrinólogo pediatra. Se excluyen hijos de partos múltiples, enfermedades cromosómicas o malformativas y obesidad monogénica. La población analizada tiene ancestría “paisa”, características ya tipificadas por estudios locales (6- 8).

### Variables antropométricas

Las variables antropométricas se registraron entre las 14:00 – 18:00 h. El IMC es el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura en metros. La altura se midió mediante procedimiento estándar con estadiómetro de pared Harpenden® (Ref.: HAR.98602VR, Gales, UK). El peso se registró en báscula electrónica de precisión (Seca® 274, Hamburgo, Alemania). La calibración de los equipos se hace por la unidad de métrica de la Clínica CES. El peso y la talla se determinaron en posición vertical con el niño descalzo y la menor ropa acompañante.

### Extracción del ADN

El ADN se extrajo de leucocitos de sangre total (laboratorio clínico de la Clínica CES) con procesamiento en las siguientes 3 horas. La sangre total (tubo con EDTA) se transportó a 4°C y se centrifugó separando glóbulos blancos de eritrocitos y

plasma; la capa leucocitaria se transfirió a solución de lisis para centrifugación y procesamiento. El ADN genómico se aisló empleando el Kit de purificación de ADN MasterPure™<sup>®</sup> según las instrucciones del fabricante (Epicentre Biotechnologies, WI). La concentración y la pureza del DNA se determinó en Nanodrop 1000–ThermoScientific<sup>®</sup>.

#### Perfil de metilación del ADN genómico.

El ADN genómico (500 ng) obtenido de linfocitos de cada uno de los pacientes, se distribuyó aleatoriamente en cajas de 96 pozos para el tratamiento con bisulfito de sodio utilizando el EZ DNA Methylation Kit (Zymo Research, Irvine, CA). El análisis de metilación de todo el genoma se realizó utilizando el Illumina Infinium MethylationEPIC BeadChip kits (Illumina, Inc., San Diego, CA) (9). La matriz EPIC mide el nivel de ADN<sub>m</sub> en > 850.000 sitios CpG y cubre todos los promotores de genes, cuerpos de genes y elementos reguladores distales asignados en la Enciclopedia de elementos de ADN (10). La evaluación de la calidad de las muestras se realizó mediante QuantiFluor y un subconjunto de muestras se reveló en un gel de agarosa al 0,8% a 130 V durante 60 min. A continuación, las muestras se normalizaron a 200 ng de ADN en 45µl para la conversión con el bisulfito de sodio. En promedio, se detectan alrededor de 865561 y 865646,1 sitios CpG de alta calidad mediante el valor P-value <0,01 y un P-value <0,05, respectivamente.

Los archivos de datos de intensidad se procesaron y analizaron utilizando los paquetes minfi y MissMethyl para R (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria), ambos disponibles en Bioconductor (<https://www.bioconductor.org>) (11). Para reducir el sesgo en el ensayo los datos se normalizaron con BMIQ (Beta Mixture Quantile) (12) (gráfico 1). Los datos se transformaron por valor  $\beta$  y M value más oddsRatio llevándolo a gráficos de densidad (gráfico 2); según M se estableció la reproducibilidad entre muestras (correlación de Pearson's, rangos entre  $-1 \leq r \leq 1$ ) y el grado de similitud entre estas (dendogramas vinculantes de dos dimensiones).

Las 16 muestras seleccionadas se identificaron como aparece en la tabla 2.

**Tabla 2.** Identificación de 16 participantes según 4 grupos analizados

Grupo	Muestra	Sentrix.Barcode	Sentrix.Section
1	PO_1	204972790104	R01C01
2	PO_2	204972790104	R02C01

BPN	3	PO_4	204972790104	R03C01
obeso	4	PO-10	204972790104	R04C01
	5	NP_13	204972790104	R05C01
Obeso	6	NP_15	204972790104	R06C01
	7	NP_16	204972790104	R07C01
	8	NP_27	204972790104	R08C01
	9	SP_6	205003700087	R01C01
BPN no	10	SP_12	205003700087	R02C01
obeso	11	SP_21	205003700087	R03C01
	12	SP_30	205003700087	R04C01
	13	S_19	205003700087	R05C01
Sano	14	S_25	205003700087	R06C01
	15	S_26	205003700087	R07C01
	16	S_28	205003700087	R08C01

BPN: bajo peso al nacer. PO: obeso que nació con bajo peso. NP: obeso que nació con peso normal. SP: no obeso y nacido con bajo peso. S: no obeso y nacido de peso normal.

Cada posición de metilación se representó por señales fluorescentes de los alelos M (metilado) y U (no metilado); la relación entre señales fluorescentes se calculó con la fórmula  $\beta = (\text{máx. (M, 0)}) / (|U| + |M| + 100)$  con valor de  $\beta$  de 0~1 (0% a 100%) o porcentaje de metilación por sitio CpG (software Illumina GenomeStudio v2011.1; módulo de metilación v1.9.0 y R 3.3.3). El valor p (calidad de señal) por cada CpG resultó de comparar la señal total (M+U) vs el nivel de señal de fondo; valores p muy pequeños son señal confiable (<0,01). Las micromatrices (microarrays) se analizaron con el chip Infinium MethylationEPIC BeadChip Kit.

El valor p significativo se representó en diagramas volcano plot considerando el cambio del pliegue vs control (valor M), determinado por la distribución normal de la prueba estadística vs el logaritmo negativo del valor de p en base 10. Las relaciones estadísticas por grupos se representaron en gráficos de 4 dimensiones (dendrogramas) asociando en familias los componentes con características similares.

### Consideraciones éticas

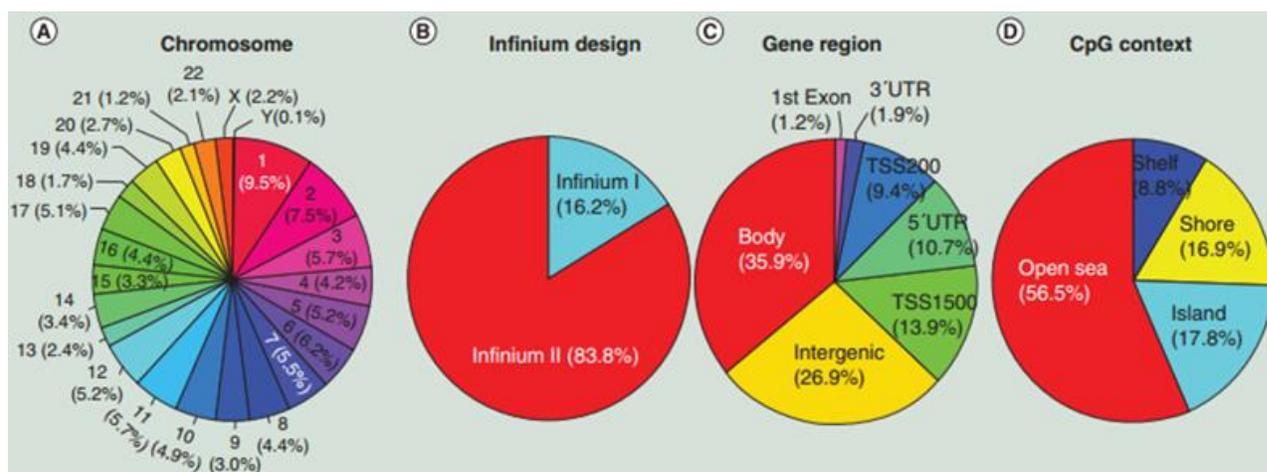
Estudio aprobado por el Comité de Investigación de la Universidad CES (Medellín, Colombia) acta 122 y por el Comité de Ética de la Clínica CES. Se realizó consentimiento y asentimiento informado aprobados por el comité institucional de ética en investigación en humanos de la Universidad CES. Participantes y familia

respondieron instructivo que evaluó la capacidad de entendimiento y razonamiento elaborado por el laboratorio de psicología de la Universidad CES.

## Resultados

Se valoró el IMC y la metilación del ADN de 16 niños menores de 18 años (8 obesos). El promedio del IMC en obesos fue 30,07 vs 17,05 en los no obesos ( $p < 0,05$ ). Se analizaron 865.646,1 CpG por  $p < 0,05$  y 865.561 por  $p < 0,01$ . El 17,8% de la metilación del ADN se encontró en islas CpG y el 35,9 % en el cuerpo de los genes (gráfico 3). Empleando la correlación de Pearson's la reproducibilidad entre muestras fue cercana a 1 ( $\geq 0,98$ ) (gráfico 4).

**Gráfico 3.** Caracterización de la metilación de sitios CpG según MethylationEPIC BeadChip de 16 niños obesos y no obesos.



A: Distribución de sitios CpG por cromosoma (%). B: detección de sitios CpG según la plataforma introducida por EPIC. C: ubicación detallada de los sitios CpG considerando la posición en los cromosomas. D: ubicación de sitios CpG según la nomenclatura sugerida por EPIC.

## Posiciones de metilación variable del ADN (pmvADN)

Se identificaron 521 pmvADN en la población que desarrolla obesidad. Al relacionarlas con el peso al nacer, hay evidencia de hipermetilación e hipometilación en 38 ( $p < 0,05$ ), predominantemente en el cuerpo de los genes. En obesos nacidos con bajo peso, tres pmvADN tienen  $FDR < 0,05$  en *TYRO3*, *SMYD3* y *DBH*. En el análisis sobre *PER3* y *PTPRS*, se identifican 83 pmvADN al comparar obesos con sanos, 3 de ellas con metilación diferencial de interés ( $p < 0,05$ ), una de ellas en isla CpG (*PER3*).

Comparación entre obesos con bajo peso al nacer (PO) vs sano (S). Se identificaron 18 pmvADN en los genes *DBH*, *SMYD3* y *TYRO3* ( $p < 0,05$ ) (tabla 3), tres de ellas con  $FDR < 0,05$  (figura 1).

**Tabla 3.** Caracterización de 18 pmvADN al comparar obesos con bajo peso al nacer vs sanos.

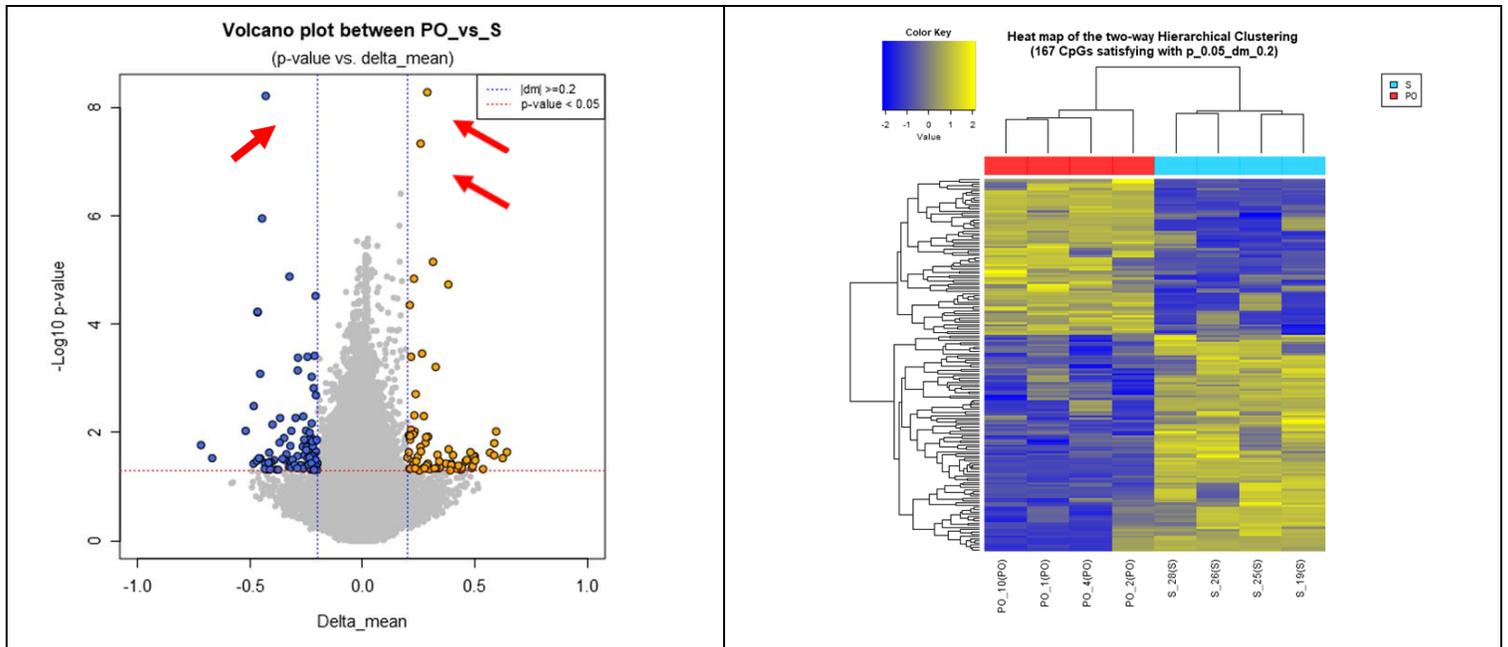
Gen	CHR	pmvADN	Target p<0,05	Valor p	FDR	Región del gen
<i>DBH</i>	9	2	cg14007688	$1 \times 10^{-8}$	0,00257366	Cuerpo
			cg14301000	$1,912202 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
<i>SMYD3</i>	1	11	cg03045478	$2,703422 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg04798314	$5 \times 10^{-8}$	0,013028	N-shore
			cg09016610	$1,261097 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg09692889	$1,5236 \times 10^{-3}$	0,74225562	Cuerpo
			cg10557782	$1,038077 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg13977623	$1,768466 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg14640420	$3,291379 \times 10^{-2}$	0,74225562	Isla
			cg16652841	$1,744045 \times 10^{-2}$	0,74225562	Isla
			cg16838795	$3,86117 \times 10^{-3}$	0,74225562	Cuerpo
			cg21119962	$7,26635 \times 10^{-3}$	0,74225562	Isla
<i>TYRO3</i>	15	5	cg24589017	$3,530782 \times 10^{-2}$	0,74225562	S-shore
			cg01050433	$4,570573 \times 10^{-2}$	0,74225562	N-shore
			cg04760526	$8,06414 \times 10^{-6}$	0,74225562	Cuerpo
			cg17208363	$3,282822 \times 10^{-2}$	0,74225562	Isla
			cg19169023	$1 \times 10^{-8}$	0,00257366	S-shore
			cg26741380	$4,448891 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo

**Figura 1.** Ilustración empleando volcano plot y mapas de calor de tres genes con pmvADN al comparar PO vs sanos.

Obesos con BPN (PO) vs sano (S)							
PO	gen	valor p	FDR	cg	Metilación	Ubicación	Posición de metilación
	<b>DBH</b>	0,00000001	0,00257366	14007688	Hipometilado	Cuerpo del gen	TSS1500;3'UTR
	<b>TYRO3</b>	0,00000001	0,00257366	19169023	Hipermetilado	S-shore	41561147-41561149
	<b>SMYD3</b>	0,00000005	0,013028	04798314	Hipermetilado	N-shore	246505298-246505300

Panel A. grupos analizados	Panel B. Mapa de calor según ajuste por jerarquías
----------------------------	--



Panel A (eje X) cambio del pliegue vs control determinado por valor M: externo a las líneas azules es distribución normal de la prueba estadística. Eje de Y (logaritmo negativo del valor de p en base 10) o cambios de pliegue que se aleja de cero. Puntos grises: sitios cg con cambio de pliegue de poca significancia. Flechas rojas: puntos de interés (cambios de pliegue) de gran magnitud y significancia. Línea roja discontinua hacia arriba es  $p < 0,05$ . Panel B. Lectura en cuatro dimensiones para 2 dendrogramas. Eje de X superior grupo a comparar (rojo) vs grupo con el que se compara (azul). Eje Y o asociaciones por jerarquías: azul o pobre significancia y amarillo o mejor significancia. Cada brazo del dendrograma (familias) asocia componentes con características similares. Adóptese esta explicación para las figuras 2 a 5.

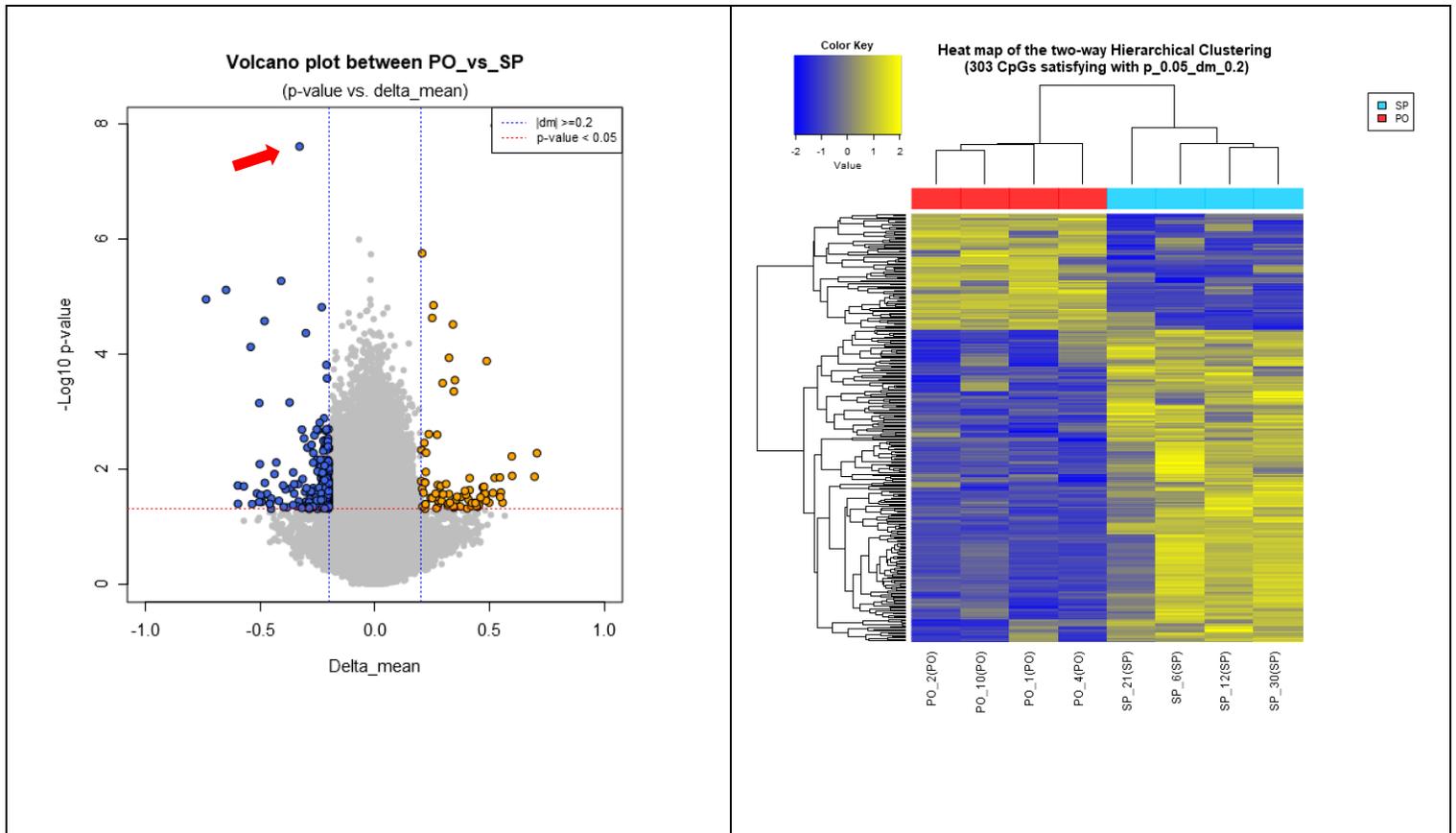
Comparación entre obesos con bajo peso al nacer (PO) vs sano nacidos de peso bajo (SP). Se encontró 1 pmvADN hipermetilada en cg23022034 ( $p < 0,05$ ) en *ZNF117* (FDR=0,74225562) (figura 2).

**Figura 2.** Ilustración empleando volcano plot y mapa de calor que representa el gen *ZNF117* al comparar obesos con BPN (PO) vs nacidos con bajo peso sin desarrollo de obesidad (SP).

Obesos con BPN (PO) vs sano nacidos de peso normal (SP)							
	gen	valor p	FDR	cg	Metilación	Ubicación	Posición de metilación
<b>PO</b>	<b>ZNF117</b>	0,04604839	0,74225562	cg03730546	Hipermetilado	Cuerpo	64994432-64994434

Panel A. grupos analizados

Panel B. Mapa de calor según ajuste por jerarquías



Comparación entre obesos nacidos de peso normal (NP) vs obesos con bajo peso al nacer (PO). Se identifica 1 pmvADN en *MTF2* (hipermetilado en cg17669433) ( $p < 0,05$ ) y 5 pmvADN en *SPG21* ( $p < 0,05$ ) (tabla 4). Su ilustración se representa en la figura 3.

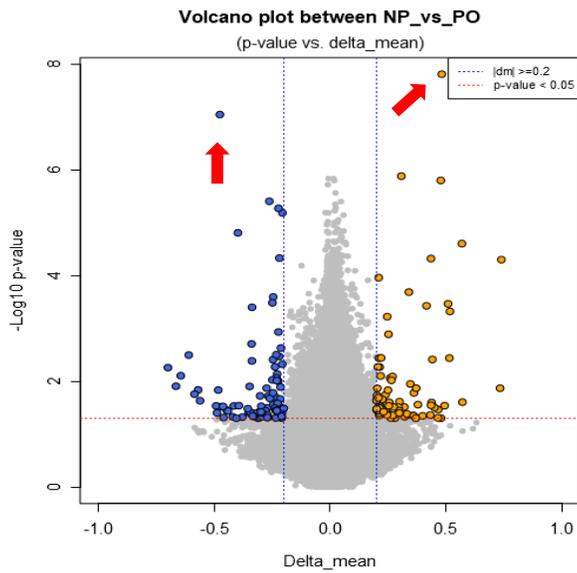
**Tabla 4.** Caracterización de 1 pmvADN de *MTF2* y 5 pmvADN de *SPG21* al comparar obesos nacidos de peso normal vs obesos nacidos con bajo peso.

Gen	CHR	Sitios CpG	Target p<0,05	Valor p	FDR	Región del gen
<i>MTF2</i>	1	1	cg17669433	$2,014284 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
<i>SPG21</i>	15	5	cg04090599	$1,24468 \times 10^{-2}$	0,74225562	N-Shore
			cg07448057	$4,466959 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg16992257	$4,074286 \times 10^{-2}$	0,74225562	S-shore
			cg18399988	$2,303587 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg25879395	$5,866 \times 10^{-5}$	0,33306003	Cuerpo

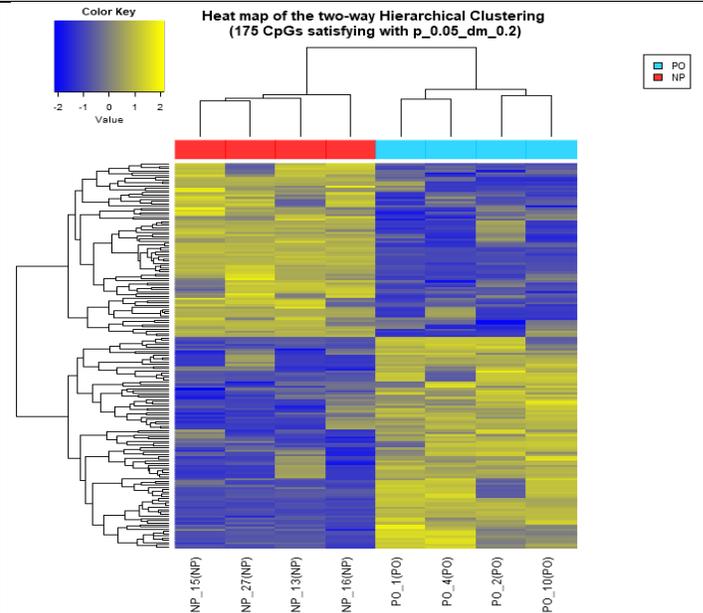
**Figura 3.** Ilustración empleando volcano plot y mapa de calor según sitios con pmvADN al comparar obesos nacidos con adecuado peso (NP) vs obesos con bajo peso al nacer (PO). Solo se caracteriza la p de menor valor (\*)

Obeso nacido de peso normal (NP) vs obesos con bajo peso al nacer (PO)							
Gen	valor p	FDR	cg	Metilación	Ubicación	Posición de metilación	
<b>NP</b>	<b>MTF2</b>	0,02014284	0,74225562	17669433	Hipermetilado	Cuerpo	93128782-93128784
	<b>SPG21</b>	0,00005866*	0,33306003	25879395	Hipermetilado	Cuerpo	64980221-64980223

Panel A. grupos analizados



Panel B. Mapa de calor según ajuste por jerarquías



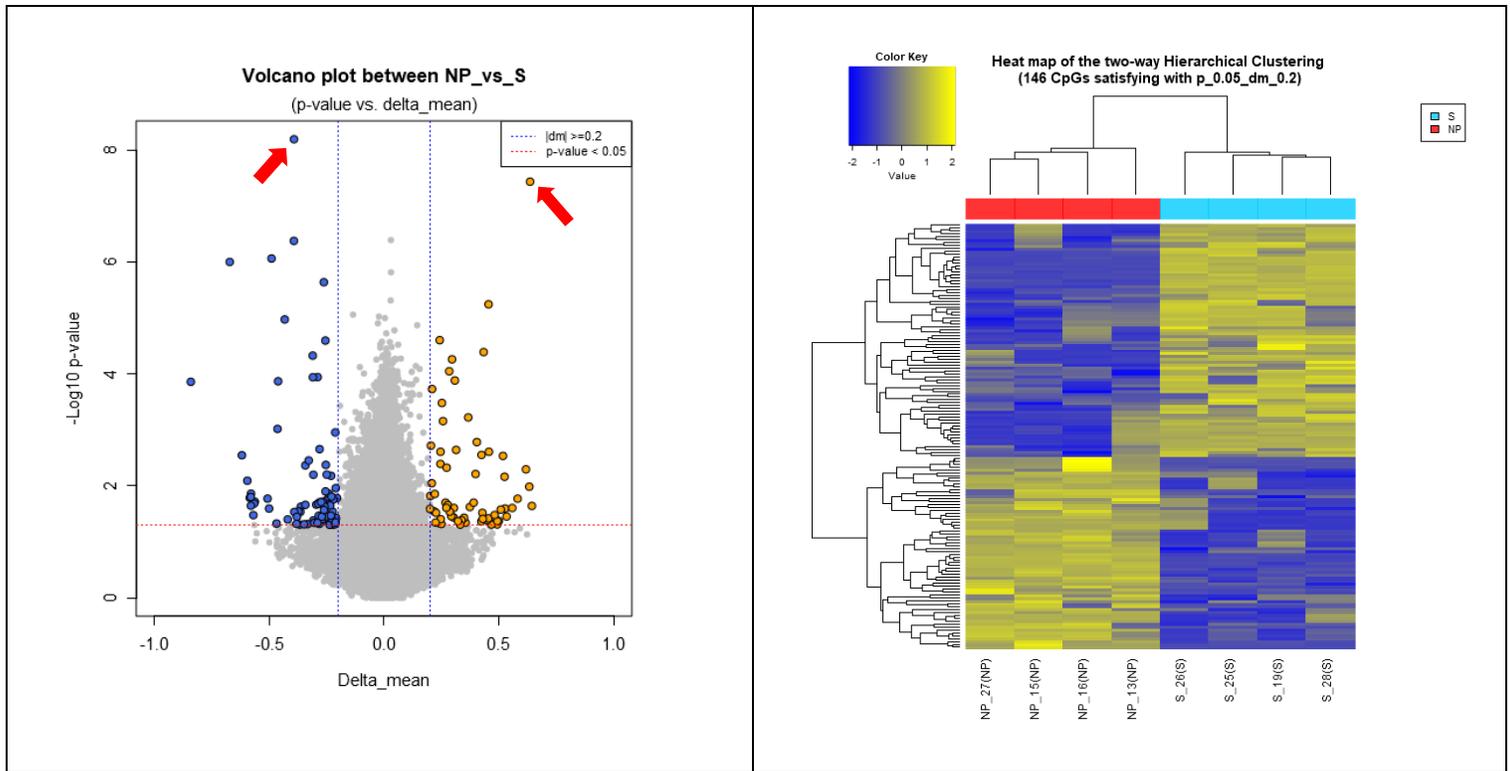
Comparación entre obesos nacidos de peso normal (NP) vs sano (S). Se identificaron 2 pmvADN de interés ( $p < 0,05$ ), hipometilación de cg02037122 en *ARHGAP17* e hipermetilación de cg11201297 en *SETBP1*, figura 4.

**Figura 4.** Ilustración empleando volcano plot y mapa de calor que representa los genes *ARHGAP17* y *SETBP1* al comparar obesos nacidos de peso normal (NP) vs sanos (S).

Obeso nacido de peso normal (NP) vs sano (S)							
gen	Valor p	FDR	cg	Metilación	Ubicación	Posición de metilación	
<b>NP</b>	<b>ARHGAP17</b>	0,02562303	0,74225562	cg02037122	Hipometilado	Cuerpo	1stExon;TSS1500;3'UTR;
	<b>SETBP1</b>	0,03912991	0,74225562	cg11201297	Hipermetilado	Cuerpo	44693467-44693469

Panel A. grupos analizados

Panel B. Mapa de calor según ajuste por jerarquías



Comparación entre obesos nacidos de peso normal (NP) vs sano nacidos con bajo peso (SP). Se encontraron 11 pmvADN en el gen *PPP2R5C* ( $p < 0,05$ ) (Tabla 5). Su caracterización se revisa en la figura 5.

**Tabla 5.** Caracterización de 11 pmvADN al comparar obesos nacidos de peso normal vs no obesos nacidos con bajo peso

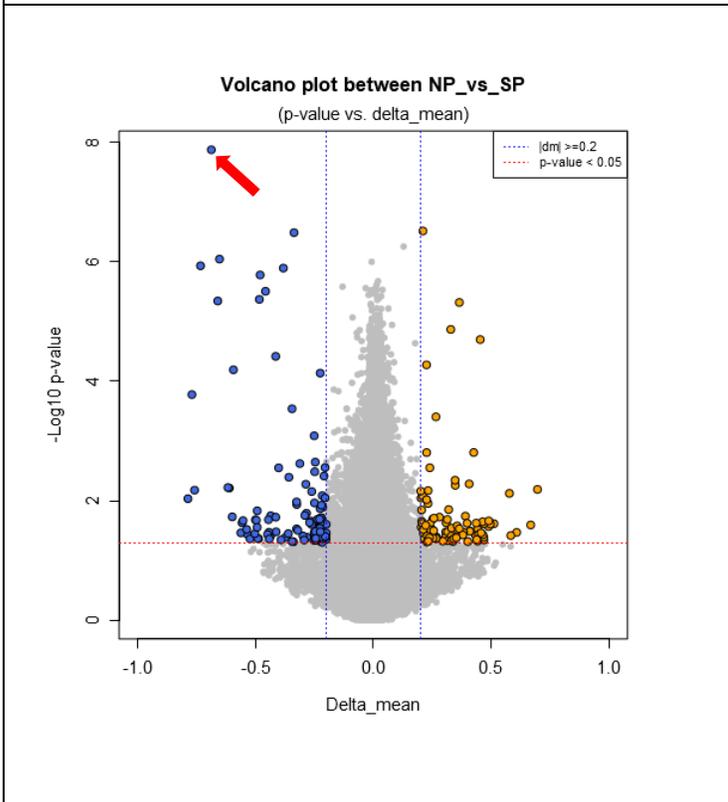
Gen	CHR	Sitios CpG	Target $p < 0,05$	Valor p	FDR	Región del gen
<i>PPP2R5</i>	14	11	cg02997573	$3,451524 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg05020081	$1,658932 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg05071770	$1,677293 \times 10^{-2}$	0,74225562	N-shelf
			cg13696228	$2,238243 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg14512008	$4,324832 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg16954369	$4,43574 \times 10^{-3}$	0,74225562	Cuerpo
			cg19405711	$1,991683 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo
			cg21570168	$3,180848 \times 10^{-2}$	0,74225562	Isla
			cg23439621	$1,649816 \times 10^{-2}$	0,74225562	Isla
			cg27022326	$2,812572 \times 10^{-2}$	0,74225562	N-shore
			cg27055481	$2,100496 \times 10^{-2}$	0,74225562	N-shore

**Figura 5.** Ilustración empleando volcano plot y mapa de calor de 11 sitios con pmvADN para el gen *PPP2R5C* al comparar NP vs SP. Solo se caracteriza un valor de p correspondiente con una isla CpG (\*).

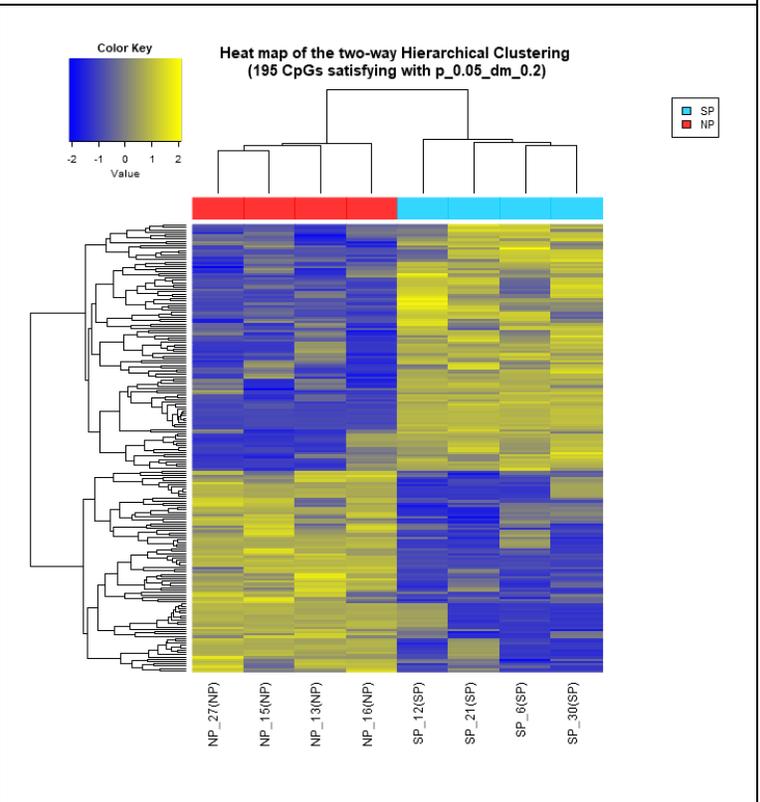
Obeso nacido de peso normal (**NP**) vs no obesos nacidos con bajo peso (**SP**)

	gen	Valor p	FDR	cg	Metilación	Ubicación	Posición de metilación
<b>NP</b>	<b>PPP2R5C</b>	0,01649816*	0,74225562	23439621	Hipometilado	Isla	101761878-101761880

Panel A. grupos analizados



Panel B. Mapa de calor según ajuste por jerarquías



Posiciones de metilación variable del ADN (pmvADN) en *PER3* y *PTPRS*

Al comparar obesos vs no obesos se encontraron 3 pmvADN según EWAS para los genes *PER3* y *PTPRS*, tabla 6.

**Tabla 6.** Caracterización de 2 pmvADN en *PER3* y 1 pmvADN en *PTPRS* al comparar obesos vs no obesos.

Gen	CHR	Sitios CpG	Target	Valor p	FDR	Región del gen	Ubicación	Estado de metilación
<i>PER3</i>	1	2	cg04917262	$1,604231 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo	7808408-7808410	hipermetilado
			cg08764927	$3,066109 \times 10^{-2}$	0,74225562	Isla	7784834-7784836	hipermetilada
<i>PTPRS</i>	19	1	cg23022034	$4,806741 \times 10^{-2}$	0,74225562	Cuerpo	5320377-5320379	hipometilado

## Discusión

Se evaluó el perfil de metilación del ADN de niños obesos y sanos en leucocitos de sangre periférica empleando EWAS. Según distribución por grupos hay 604 sitios CpG diferencialmente metilados, 38 con  $p < 0,05$  (83% en el cuerpo de los genes), nueve de estos a relacionar con comorbilidad por obesidad ( $p < 0,01$ ). Adicionalmente se analizaron 3 pmvADN de interés, una en el cuerpo de *PTPRS* ( $p < 0,05$ ), una en el cuerpo de *PER3* ( $p < 0,05$ ) y una en isla CpG de este último gen ( $p < 0,05$ ). Estos tres últimos con FDR  $> 0,05$ .

Nuestros resultados aportan al conocimiento de las marcas epigenéticas durante el desarrollo de obesidad infantil aún no completamente dilucidadas y ninguna reportada en niños obesos colombianos. Cuatro sitios CpG están hipometilados en los cuerpos de *DBH*, *ARHGAP17*, *PPP2R5C* y *PTPRS*; 7 sitios CpG están hipermetilados en los cuerpos de *TYRO3* (S-shore), *SMYD3* (N-shore), *ZNF117*, *MTF2*, *SETBP1*, *SPG21* y *PER3*, este último además hipermetilado en una isla CpG.

Al comparar obesos de bajo peso al nacer con individuos sanos se encuentran tres pmvADN de interés, respectivamente en el cuerpo de los genes *DBH* (hipometilado en cg14007688), *SMYD3* (hipermetilado en cg04798314) y *TYRO3* (hipermetilado en cg19169023). El gen *DBH* codifica la enzima dopamina beta-hidroxilasa, oxigenasa para la hidroxilación oxidativa de dopamina a norepinefrina en vesículas presinápticas unidas a membranas biológicas conectando el sistema dopaminérgico con el adrenérgico para controlar funciones fisiológicas (13, 14). En su interpretación clínica, la estimulación adrenérgica, el estrés agudo y la hipoglicemia elevan los niveles de DBH tanto en plasma como en vísceras de inervación simpática (hígado y pulmón) y en vasos sanguíneos (respuesta presora), con un efecto neto paracrino de liberar glucosa por glucogenólisis (15). Si bien en el caso de una enfermedad de curso crónico como la obesidad no se conoce el papel de DBH, se debe investigar si el estado hipometilado encontrado señala menor actividad enzimática y menor efecto simpático de las catecolaminas en esta población.

Nuestros resultados indican que los obesos con bajo peso al nacer tienen menor impacto de síndrome metabólico (SM) vs obesos de peso normal, reconocido por mejor control metabólico durante los primeros años de la vida y determinado por menor perímetro de la cintura ( $p < 0,05$ ), niveles más bajos de triglicéridos ( $p < 0,05$ ) y de colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (c-HDL). Sin embargo, la disfunción endotelial anticipada (inflamación) podría corresponder con el patrón de

metilación reportado para *TYRO3* y *SMYD3* dada su participación en la fisiología vascular desde la vida fetal. La proteína *TYRO3* hace parte de los receptores transmembrana de tirosina kinasa (familia TAM) con funciones en inmunidad, supervivencia celular, integridad de endotelios y procesos inflamatorios; el receptor *TYRO3* se activa por dimerización a partir de los factores *GAS9* (gen 6 específico en detención del crecimiento) y *PROS1* (factor anticoagulante tipo Proteína S) dependientes de vitamina K para autofosforilación intracelular por quinasas; ambos factores comparten origen endotelial: *PROS1* proviene de células endoteliales, hepatocitos, osteoblastos y megacariocitos en tanto que *GAS9* de riñón, intestino, ovarios, testículos, cerebro, medula ósea, corazón, pulmón y endotelios (16). Adicionalmente, *SMYD3* codifica una metiltransferasa con funciones sobre la proliferación y la capacidad de supervivencia de las células normales desempeñando papel epigenético durante la embriogénesis (preimplantación), modulando genes específicos de la miogénesis, este último, componente intrínseco de los vasos sanguíneos (17). Adicionalmente en el grupo de obesos nacidos con bajo peso, hay hipermetilación en el cuerpo de *ZNF117* (cg03730546) al ser comparados con individuos sanos; este gen, relacionado con el desarrollo adipogénico tardío, es un elemento viral endógeno incorporado ancestralmente al genoma humano, codificador de la proteína 117 de la familia dedos de zinc, normalmente inactivado epigenéticamente; acorde con nuestros hallazgos, su estado hipermetilado correspondería con activación del gen (18).

Nuestros resultados encuentran información de interés en tres direcciones para los obesos nacidos con peso adecuado, recordando que es la población con el más alto incremento anual del IMC ( $p < 0,05$ ) desde temprana edad ( $p = 0,042$ ). Si se comparan con obesos nacidos con bajo peso, las diferentes opciones encontradas y relacionadas con cambio en la metilación de *MTF2* y *SPG21* se debe correlacionar (nuevos estudios) con el desarrollo de enfermedad metabólica temprana con o sin presencia de hígado graso no alcohólico; al compararlos con sanos de peso normal al nacer, lo encontrado para *ARHGAP17* y *SETBP1* deberá ser evaluado en dirección a pérdida de tolerancia a la glucosa a largo plazo. Por último y al compararlos con niños sanos de bajo peso al nacer, lo encontrado para *PPP2R5C* se debe correlacionar con el desarrollo de síndrome metabólico pediátrico.

El gen *MTF2* codifica para una proteína del grupo Polycomb que unida a H3K36met actúa reprimiendo la expresión de los genes empleando PRC2 (19); tiene expresión hipotalámica diferencial relacionada con lipotoxicidad inducida por dieta, condición dada por incremento de los ácidos grasos generando activación de vías metabólicas no oxidativas con degradación lisosomal, estrés al retículo endoplásmico (RE) y conformación de hígado graso no alcohólico (HGNA) (20). En nuestro caso y

estableciendo comparación entre obesos, en el grupo con peso normal al nacer su hipermetilación se relacionaría con los hábitos nutricionales lipotóxicos sin excluir su papel en el HGNA, parámetro clínico que se conoce acompaña al incremento del perímetro de la cintura (PC) y al elevado cambio del IMC. Esta observación está adicionalmente correspondida con hipermetilación de *SPG21*, gen codificador de la proteína maspardina relacionada con la expresión de genes para el desarrollo de HGNA. Maspardina es una proteína ligada a linfocitos CD4 con funciones de regulación negativa sobre la activación de células T que interactúa con la superfamilia aldehído deshidrogenasa (*ALDH16A1*). Su ubicación en membranas celulares y su interacción con Rab7GTPasa le permite participar de la estructura de endosomas y lisosomas para funciones de autofagosomas y autofagolisosomas. Algunas anomalías de su estructura se han relacionado con pérdida del metabolismo del colesterol, alteración morfológica del RE y defecto del tráfico y transporte intracelular (21). Lo encontrado sugiere que durante el desarrollo de obesidad en individuos nacidos con peso normal, la hipermetilación en el cuerpo de estos dos genes son dos condiciones epigenéticas influenciadas postnatalmente por las características nutricionales derivadas del medio ambiente o de los estilos de vida (dieta).

Los nacidos con peso adecuado que desarrollan obesidad tienen hipometilación en el cuerpo *ARHGAP17* (cg02037122) e hipermetilación en el cuerpo de *SETBP1* (cg11201297) al ser comparados con individuos sanos. *ARHGAP17* codifica la proteína activante 17 de RhoGTPasa de la superfamilia de 20 RasGTPasa, necesarias en el control del cito esqueleto de actina e indispensable en el mantenimiento de las características de unión intraepitelial garantizando el control a la permeabilidad de barreras mucosas (p.e. barrera intestinal); esta familia participa en el tráfico de vesículas, exocitosis en las neuronas y regulación del transporte transcelular (22). RhoGTPasa está relacionada con procesos metabólicos incluyendo el equilibrio de la glucosa y la señal con insulina no solo por interactuar con la vía metabólica Akt2, específica de adipocitos para la retoma de glucosa, sino reduciendo la glicemia postprandial por acelerada traslocación de GLUT4 (23). Si bien en nuestro grupo de obesos nacidos de peso normal no hay DM<sub>2</sub>, es latente el estado hiperglucémico preprandial: la hipometilación encontrada se relacionaría con poca recuperación de receptores GLUT4 o saturación de los mismos como parte del SM, la RI y antesala de la DM<sub>2</sub>. Se debe advertir que el único parámetro de RI evaluado fue el incremento del PC ( $p < 0,05$ ). Adicionalmente, el estado de metilación en el cuerpo de *SETBP1* ratifica su relación con el incremento del IMC como lo reporta la literatura (24); este gen codifica la proteína SETBP1 integrante de un complejo epigenético facilitador de acceso al ADN durante

la transcripción, estrechamente relacionada con cambio del IMC (25, 26); según nuestros resultados, su hipermetilación en obesos nacidos con adecuado peso (vs sanos) señala mayor transcripción del gen, ratificada por el más alto cambio anual de IMC entre grupos ( $p < 0,05$ ).

Al comparar obesos nacidos de peso adecuado con individuos sanos nacidos con bajo peso, 11 pmvADN son de interés en *PPP2R5C* (tabla 5), 9 sobre el cuerpo del gen y dos hipometilaciones en islas CpG, respectivamente en cg21570186 ( $p = 0,03180848$ ) y cg23439621 ( $p = 0,01649816$ ). *PPP2R5C* codifica una enzima reguladora del control metabólico post ingesta facilitando almacenamiento hepático de glucosa y transitoria hipertrigliceridemia postprandial. El incremento del PC eleva su transcripción (27). En intolerancia a la glucosa pierde parte de su actividad regulatoria acumulando glucosa hepática (glicógeno) y elevando la lipogénesis con incremento de la trigliceridemia a relacionar con hepatomegalia (28). Nuestros resultados indican que el estado hipometilado en islas CpG, directamente relacionado con incremento del IMC, acompaña mayor expresión del gen con pérdida de regulación metabólica para la glucosa y los lípidos.

Estudios previos comparando adolescentes obesos vs sanos han referenciado hipometilación en el cuerpo de *PER3* y *PTPRS* ( $p < 0,05$ ), respectivamente en cg10059324 y cg04757389 (29); nuestros resultados ratifican parcialmente estas observaciones reconociendo un cambio global del patrón de metilación en 29 pmvADN de *PER3* y 54 de *PTPRS*, además de encontrar concordancia en cg 10059324 para *PER3* ( $p > 0,05$ ); nuestros hallazgos suman 3 nuevos sitios cg de interés a esta comparación: cg 04917262 más cg 08764927 ( $p < 0,05$ ) para *PER3* y cg23022034 para *PTPRS* ( $p < 0,05$ )

*PER3* codifica la proteína periodo 3 (*per3*), componente central de las proteínas del reloj circadiano en el hipotálamo o sistema regulador interno de acciones fisiológicas periódicas a repetir cada 24 horas. Su influencia es sobre el metabolismo y el comportamiento (sueño, temperatura, presión sanguínea y funciones endocrinas entre otras). Su activación depende de señales ambientales (*Zeitgebers*) como la luz para secundariamente activar relojes periféricos en los tejidos integrados a mecanismos básicos como la alimentación o el sueño, todos en armonía precisa con los periodos de luz-oscuridad. *PTPRS* codifica la proteína sigma del receptor de membrana celular proteína-tirosín-fosfatasa. Se une a glicosaminoglicanos como los proteoglicanos de condroitín sulfato y el proteoglicano de heparán sulfato relacionados con el crecimiento de las neuronas y el desarrollo cerebral, especialmente en hipófisis y bulbo olfatorio. Funciona como tirosina fosfatasa

defosforilando NTRK1, NTRK2 y NTRK3 además de regulador negativo de la producción de interferón alfa y beta y disminuir la cascada de señales para la activación de Akt y MAP (30)

En la relación obesidad-medio ambiente resulta de interés la exploración de genes de la familia “PER/período”; la metilación esperada se asocia con actividades repetitivas diarias si estas se realizan en sincronía con la luz diurna (31-33) y con la ingesta periódica de alimentos correspondiendo con un patrón específico de memoria (31, 34, 35); alteraciones de esta periodicidad y de las características de los alimentos interfieren con la señal de temporalidad circadiana, situación ya referenciada en ambientes obesogénicos (35). Por otro lado, cambios de metilación en *PTPRS* se describen en el deterioro temprano de los islotes del páncreas con riesgo de diabetes DM<sub>2</sub> (36); reportamos metilación diferencial en el cuerpo de este gen, sitio cg23022034 ( $p < 0,05$ ) en niños que desarrollan obesidad al compararlo con sanos.

Nuestros hallazgos encuentran 9 sitios CpG nuevos durante el desarrollo de obesidad infantil, ninguno referenciado en estudios EWAS publicados recientemente (1, 37-39) y nueva información en tres sitios CpG para *PER3* y *PTPRS*; la caracterización de los genes con pmvADN encontrada puede no ser exclusiva de la elevación del IMC y deberá ser considerada en estudios longitudinales comparativos y/o evaluando comorbilidades de la obesidad infantil especialmente si se desarrolla a largo plazo DM<sub>2</sub>, hipertensión arterial, HGNA y dislipidemia. Este conjunto de observaciones trazaría componentes de un modelo predictivo epigenético en obesidad infantil.

Acorde con la literatura, en este trabajo las pmvADN encontradas en obesos están en su mayoría en el cuerpo del gen y como tal son de interpretación incierta. En nacidos con bajo peso que desarrollan obesidad (sin complicaciones), la enfermedad metabólica temprana con pérdida del control glucémico y lipídico se relacionaría con *TYRO3*, la inflamación sistémica con daño a la integridad del endotelio involucraría a *SMYD3* y a *TYRO3* y, la adaptación a la hiperglicemia relacionaría a *DBH*. Un panorama epigenético distinto ocurre en nacidos con peso adecuado que desarrollan obesidad y donde los factores ambientales son determinantes; la hipermetilación sobre el cuerpo de *SPG21*, *MTF2* y *SETBP1* se corresponde con efectos potenciales del incremento del IMC; la hipometilación de *PPP2R5C* con alteración de la función hepática.

Finalmente, la población analizada en este estudio es el producto de 500 años de migración y mestizaje; en la subregión antioqueña el grupo “paisa” es el producto de aislamiento geográfico, político y social al que confluyen africanos, europeos ibéricos, caucásicos europeos no ibéricos, población sefardita e indígenas precolombinos. Acorde con el proyecto 1000 genomas (40), la distribución reportada para Medellín corresponde con 74,6% europeos, 18,1% asiáticos (indígenas precolombinos) y 7,3% africanos; si se analiza el linaje cromosómico, el 93,4% es blanco caucásico además de mestizos (europeo caucásico con indígena), 6,5% entre mulatos (negro africano con europeo), negros africanos y zambos (indígena con negro africano) y, 0,1% indígenas (41). Bajo estas condiciones la caracterización de genes objeto de metilación del ADN durante el desarrollo de obesidad genera resultados diferentes a los publicados en estudios europeos adicionando nuevos sitios cg y nuevos genes.

## **Conclusiones**

Nuestros resultados aportan 41 nuevos sitios diferencialmente metilados sobre el ADN durante el desarrollo de obesidad infantil empleando análisis EWAS, hallazgos contributivos al desarrollo del mapa epigenético de la obesidad infantil, mayoritariamente en el cuerpo de los genes.

En este trabajo se encontraron nuevos sitios CpG diferencialmente metilados en el cuerpo de los genes *DBH*, *TYRO3* y *SMYD3* entre niños con BPN y sanos. Este es el primer reporte en donde se encuentran dichas diferencias en estos genes en una población latinoamericana con un alto índice de mestizaje. Quizá la metilación diferencial entre estos genes pueda ser utilizada como un posible marcador de obesidad en niños nacidos con bajo peso de ascendencia latina, para lo cual sugerimos nuevos experimentos.

El empleo de plataformas de segunda generación en la evaluación epigenética del desarrollo de obesidad infantil permitió ampliar la información existente de algunos genes y la exploración de otros. En obesos nacidos con bajo peso la metilación diferencial encontrada señala interferencia sobre genes constitutivos de rutas metabólicas; en obesos nacidos de peso adecuado el cambio del índice de masa corporal (factor ambiental) es determinante de los eventos epigenéticos, estos últimos poco referenciados en niños obesos.

En obesidad infantil se debe avanzar en la búsqueda de nuevos genes y nuevas posiciones de metilación variables empleando muestras más robustas; los datos encontrados se deben correlacionar con el estado clínico del sujeto explorado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. He F, Berg A, Imamura Kawasaki Y, Bixler EO, Fernandez-Mendoza J, Whitsel EA, et al. Association between DNA methylation in obesity-related genes and body mass index percentile in adolescents. *Sci Rep.* 2019;9(1):2079.
2. Concepto de Developmental Origins of Health and Disease: El ambiente en los primeros mil días de vida y su asociación con las enfermedades no transmisibles. *Arch Argent Pediat* [Internet]. 1 de agosto de 2020 [citado 20 de septiembre de 2021];118(4). Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2020/v118n4a27s.pdf>
3. Choi SW, Claycombe KJ, Martinez JA, Friso S, Schalinske KL. Nutritional epigenomics: a portal to disease prevention. *Adv Nut.* 2013; 4: 530–532.
4. van Dijk SJ, Tellam RL, Morrison JL, Muhlhausler BS, Molloy PL. Recent developments on the role of epigenetics in obesity and metabolic disease. *Clin Epigenetics* 2015; 7 66-015-0101-5. eCollection 2015; 7: 66.
5. Aguilera C, Labbé T, Busquets J, Venegas P, Neira C, Valenzuela Á. Obesidad: ¿Factor de riesgo o enfermedad? *Rev méd Chile.* 2019;147(4):470-4.
6. Ossa H, Aquino J, Pereira R, Ibarra A, Ossa RH, Pérez LA, et al. Outlining the ancestry landscape of Colombian admixed populations. Chiang T-Y, editor. *PLoS ONE.* 2016;11(10):e0164414.
7. Conley AB, Rishishwar L, Norris ET, Valderrama-Aguirre A, Mariño-Ramírez L, Medina-Rivas MA, et al. A comparative analysis of genetic ancestry and admixture in the Colombian populations of Chocó and Medellín. *G3 Genes|Genomes|Genetics.* 2017;7(10):3435-47.
8. Ruderman A, Pérez LO, Adhikari K, Navarro P, Ramallo V, Gallo C, et al. Obesity, genomic ancestry, and socioeconomic variables in Latin American mestizos. *Am J Hum Biol* [Internet]. septiembre de 2019 [citado 20 de septiembre de 2021];31(5). Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajhb.23278>.
9. Moran S, Arribas C, Esteller M. Validation of a DNA methylation microarray for 850,000 CpG sites of the human genome enriched in enhancer sequences. *Epigenomics.* 2016; 8(3):389-99. doi: 10.2217/epi.15.114.
10. Pidsley R, Zotenko E, Peters TJ, Lawrence M, Risbridger G, Molloy P. et al. Critical evaluation of the Illumina MethylationEPIC BeadChip microarray for whole-genome DNA methylation profiling. *Genome Biol* 2016;17: 208. doi: 10.1186/s13059-016-1066-1.
11. Gentleman RC, Carey VJ, Bates DM, Bolstad B, Dettling M, Dudoit S. et al. Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. *Genome Biol.* 2004;5: R80.
12. Teschendorff A, Msarabita F, Lechner M, Bartlett T, Tenger J, Gómez-Cabrero D, et al. A beta-mixture quantile normalization method for correcting probe

- design bias in Illumina Infinium 450k DNA methylation data. *Bioinformatics*. 2013;29(2):189-196.
13. Chen Y, Wen G, Rao F, Zhang K, Wang L, Rodríguez-Flores J, et al. Human dopamine beta-hydroxylase (DBH) regulatory polymorphism that influences enzymatic activity, autonomic function, and blood pressure. *J Hypertens*. 2010; 28(1): 76–86. doi:10.1097/HJH.0b013e328332bc87.
  14. Isaza-Mejía C, Henao-Bonilla J, Valencia-Castillo S, Beltrán-Angarita L, Sepúlveda-Calvo A. Caracterización del gen de la dopamina beta-hidroxilasa en población mestiza colombiana. *Rev Investigaciones Andina*. 2013; 15(27): 760-769.
  15. Barrie E, Weinshenker D, Verma A, Pendergrass S, Lange L, Ritchie M. et al. Regulatory polymorphisms in human *DBH* affect peripheral gene expression and sympathetic activity. *Circ Res*. 2014;115:1017-1025.
  16. Smart S, Visileiadi E, Wang X, DeRyckere D, Graham D. The emerging role of Tyro3 as a therapeutic target in cancer. *Cancers*. 2018; 10(12), 474; <https://doi.org/10.3390/cancers10120474>.
  17. Bottino C, Paserico A, Simone C, Carelli G. SMYD3: an oncogenic driver targeting epigenetic regulation on signaling pathways. *Cancers*. 2020; 12,142; doi:10.3390/cancers12010142 [www.mdpi.com/journal/cancers](http://www.mdpi.com/journal/cancers).
  18. Bustamante-Rivera Y, Brutting Ch, Schmidt C, Volkmer I, Staeger M. Endogenous retrovirus 3- history, physiology, and pathology. *Front Microbiol*. 2018; *Front. Microbiol.*, 15 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02691>.
  19. Perino M, van Mierlo G, Keremker I, Genesen S, Vermeulen M, Marks H. et al. MTF2 recruits Polycomb repressive complex 2 by helical-shape-selective DNA binding. *Nature genetics*. 2018; 50:1002-1010.
  20. Martínez-Samaná J, Torres-Durán P, Juárez-Oropesa M. Los ácidos grasos y la lipotoxicidad: implicaciones metabólicas. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 2013; 56(1): 5-18.
  21. Soderblom C, Stadler J, Jupille H, Blackstone C, Shupliakov P, Hanna M. Targeted disruption of the Mast syndrome gene SPG21 in mice impairs hind limb function and alters axon branching in cultured cortical neurons. *Neurogenetics*. 2010; 11(4): 369-378.
  22. Lee S-Y, Kim H, Kim K, Lee H, Lee S, Lee D. Arhgap17, a RhoGTPase activating protein, regulates mucosal and epithelial barrier function in the mouse colon. *SCIENTIFIC Reports*. 2016 | 6:26923 | DOI: 10.1038/srep26923.
  23. Machin P, Tsonou E, Herningold D, Welch H. Rho family GTPases and Rho GEFs in glucose homeostasis. *Cell*, 2021, 10, 915. <https://doi.org/10.3390/cells10040915>.
  24. Choi J, Kwon D, Kim M-S, Lee M. Genome-wide association study for the interaction between BMR and BMI in Korean obese females (628.24). *The FASEB journal*. 2014;(28), Issue 1/ [https://doi.org/10.1096/fasebj.28.1\\_supplement.628.24](https://doi.org/10.1096/fasebj.28.1_supplement.628.24).
  25. Piazza R, Magistroni V, Redaelli S, Mauri M, Massimino L, Sessa A, et al. SETBP1 induces transcription of a network of development genes by acting as an epigenetic hub. *Nat Commun*. 2018;9(1):2192.
  26. Kvaløy K, Page CM, Holmen TL. Epigenome-wide methylation differences in a group of lean and obese women – A HUNT Study. *Sci Rep*. 2018;8(1):16330.

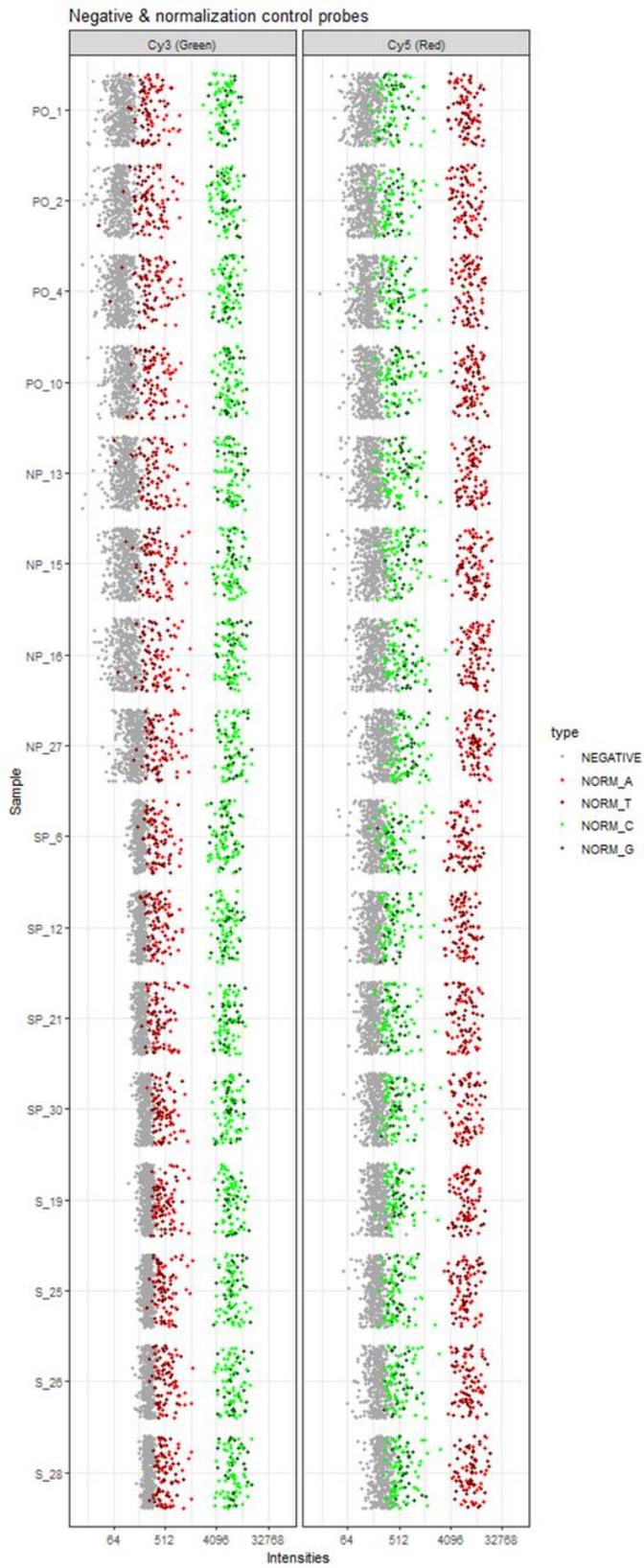
27. Barberio MD, Nadler EP, Sevilla S, Lu R, Harmon B, Hubal MJ. Comparison of visceral adipose tissue DNA methylation and gene expression profiles in female adolescents with obesity. *Diabetol Metab Syndr*. 2019;11(1):98.
28. Cheng Y-S, Seibert O, Klötting N, Dietrich A, Straßburger K, Fernández-Veledo S. et al. PPP2R5C Couples Hepatic Glucose and Lipid Homeostasis. Xu A, editor. *PLoS Genet*. 2015;11(10):e1005561.
29. Samblas M, Milagro FI, Mansego ML, Marti A, Martinez JA, GENOI members. *PTPRS* and *PER3* methylation levels are associated with childhood obesity: results from a genome-wide methylation analysis: *PTPRS* and *PER3* methylation in childhood obesity. *Pediatric Obesity*. 2018;13(3):149-58
30. Senis YA, Barr AJ. Targeting receptor-type protein tyrosine phosphatases with biotherapeutics: is outside-in better than side-out?. *Molecules*. 2018; 23(3). 559: <https://doi.org/10.3390/molecules23030569>
31. Haque SN, Booreddy SR, Welsh DK. Effects of BMAL1 Manipulation on the brain's master circadian clock and behavior. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 2019; 92:251-258.
32. Dudek M, Meng Q-J. Running on time: the role of circadian clocks in the musculoskeletal system. *Biochemical Journal*. 2014;463(1):1-8.
33. Olkkonen J, Kouri V-P, Kuusela E, Ainola M, Nordström D, Eklund KK, et al. DEC2 Blocks the Effect of the ARNTL2/NPAS2 dimer on the expression of PER3 and DBP. *Journal of Circadian Rhythms*, 15(1): 6, pp.1–10, DOI: <https://doi.org/10.5334/jcr.149>
34. Mendoza J, Pévet P, Challet E. High-fat feeding alters the clock synchronization to light: High-fat diet alters circadian synchronization. *The Journal of Physiology*. 2008;586(24):5901-10.
35. Lopez-Minguez J, Gómez-Abellán P, Garaulet M. Timing of Breakfast, Lunch, and Dinner. Effects on obesity and metabolic risk. *Nutrients*. 2019;11(11):2624.
36. Ouni M, Saussenthaler S, Eichelmann F, Jähnert M, Stadion M, Wittenbecher C. et al. Epigenetic changes in islets of Langerhans preceding the onset of diabetes. *Diabetes*. 2020;69(11):2503-17.
37. Concepción María Aguilera A. Epigenética de la obesidad. *Nutrición clínica en medicina*. 2018;(2):47-60.
38. Kühnen P, Handke D, Waterland RA, Hennig BJ, Silver M, Fulford AJ. et al. Interindividual variation in DNA methylation at a putative POMC metastable epiallele is associated with obesity. *Cell Metabolism*. 2016;24(3):502-9.
39. Kochmanski J, Goodrich JM, Peterson KE, Lumeng JC, Dolinoy DC. Neonatal bloodspot DNA methylation patterns are associated with childhood weight status in the healthy families project. *Pediatr Res*. 2019;85(6):848-55.
40. Rishishwar L, Conley A, Wigington C, Wang L, Valderrama-Aguirre A, Jordan K. Ancestry, admixture and fitness in Colombian genome. *Scientific Reports* | 5:12376 | DOI: 10.1038/srep12376.
41. Bedoya G, Montoya P, García J, Soto I, Bourgeois S, Carvajal L, et al. Admixture dynamics in hispanics: a shift in the nuclear genetic ancestry of a South American population isolate. *PNA*. 2006; 103(19): 7234-7239.

**Tabla 1.** Características clínicas de 16 niños según peso al nacer, antecedentes perinatales y química analítica.

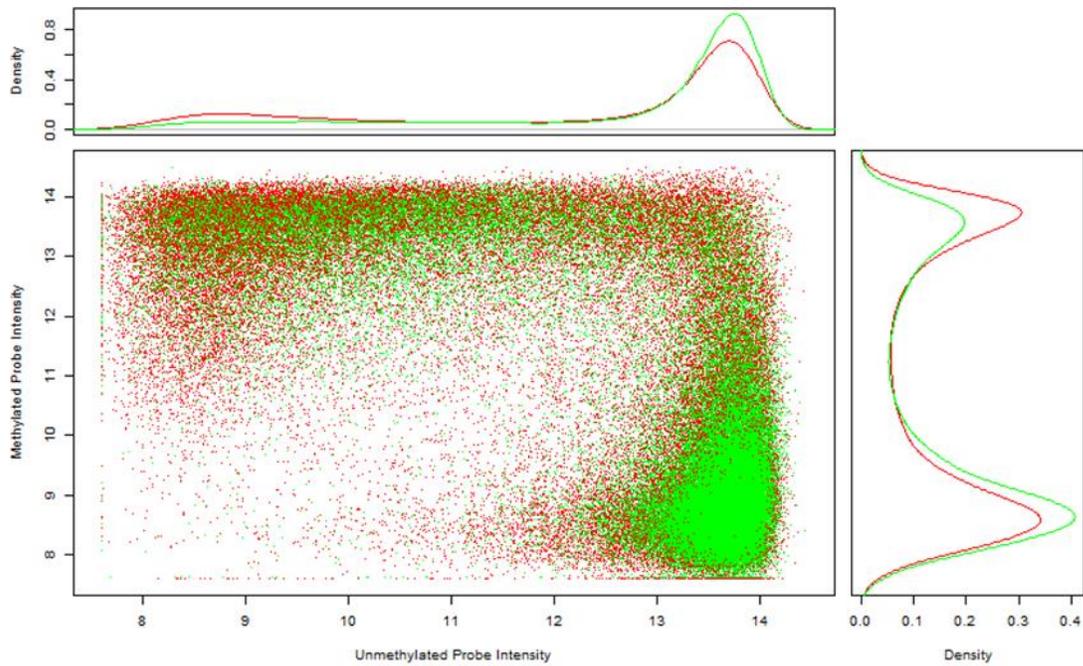
Estado	Peso al nacer (g)	G	IMC Kg/m <sup>2</sup>	PC cm	Glu mg%	c-HDL mg%	TG mg%	c-Total mg%	c-LDL mg%	Edad (M)	Antecedentes perinatales					Orden de gestación	Abortos
											EG (sem)	CP	DM	HTA	Hgia		
Obesos	1700	F	24,26	65	85	65,5	39	154	93	37	31	6	Si	No	Si	2	1
	1640	M	35,64	102	93	40,1	138	142	94,2	25	36	7	No	Si	No	1	0
	2130	F	21,29	75	88	36,7	139	152	108	36	36	7	No	No	No	2	0
	2580	F	31,96	73	83	34,9	171	229	177	34	37	10	No	Si	No	1	2
	3500	M	40,27	122	107	40,1	198	158	95,1	35	39	8	No	No	No	2	0
	2840	M	22,74	83	84	62,2	29	264	105,9	22	39	8	No	No	No	1	0
	2940	M	40,50	128	89	37,3	127	160	108,5	29	36	7	Si	No	No	1	3
	3800	M	23,93	85	107	60,3	65	115	52,6	31	38	9	No	No	No	1	0
No obesos	2460	M	14,58	47	88	63,8	83	212	143	25	37	12	No	No	No	1	1
	2140	F	17,45	90	84	57	57	174	120	29	36	9	No	No	No	1	0
	1840	F	17,62	66	98	45,9	134	181	123	41	36	9	No	Si	No	1	0
	2100	M	17,43	73	90	44,9	54	270	224	30	37	8	No	No	No	1	0
	3000	F	15,86	52	83	73,6	80	263	191	27	38	8	No	No	No	2	0
	3160	M	18,09	72	106	46,5	65	101	53,7	27	39	8	No	No	No	2	0
	3500	M	16,05	73	93	49,5	140	181	123	26	38	9	No	No	No	1	4
	2800	M	19,35	57	95	63,98	90	175	107	24	38	8	No	No	No	1	0

G: género. M: masculino. F: femenino. IMC: índice de masa corporal. PC: perímetro de cintura en centímetros. C-HDL: colesterol ligado a proteínas de alta densidad. c-LDL: colesterol ligado a proteínas de baja densidad. c-total: colesterol total. EG: edad gestacional en semanas. CP: número de controles prenatales. DM: diabetes gestacional. HTA: hipertensión gestacional. Hgia: hemorragia gestacional.

**Gráfico 1.** Dispersión de los datos en dos dimensiones de las 16 muestras analizadas según la intensidad de señal obtenida después de la corrección inicial por la plataforma EPIC.

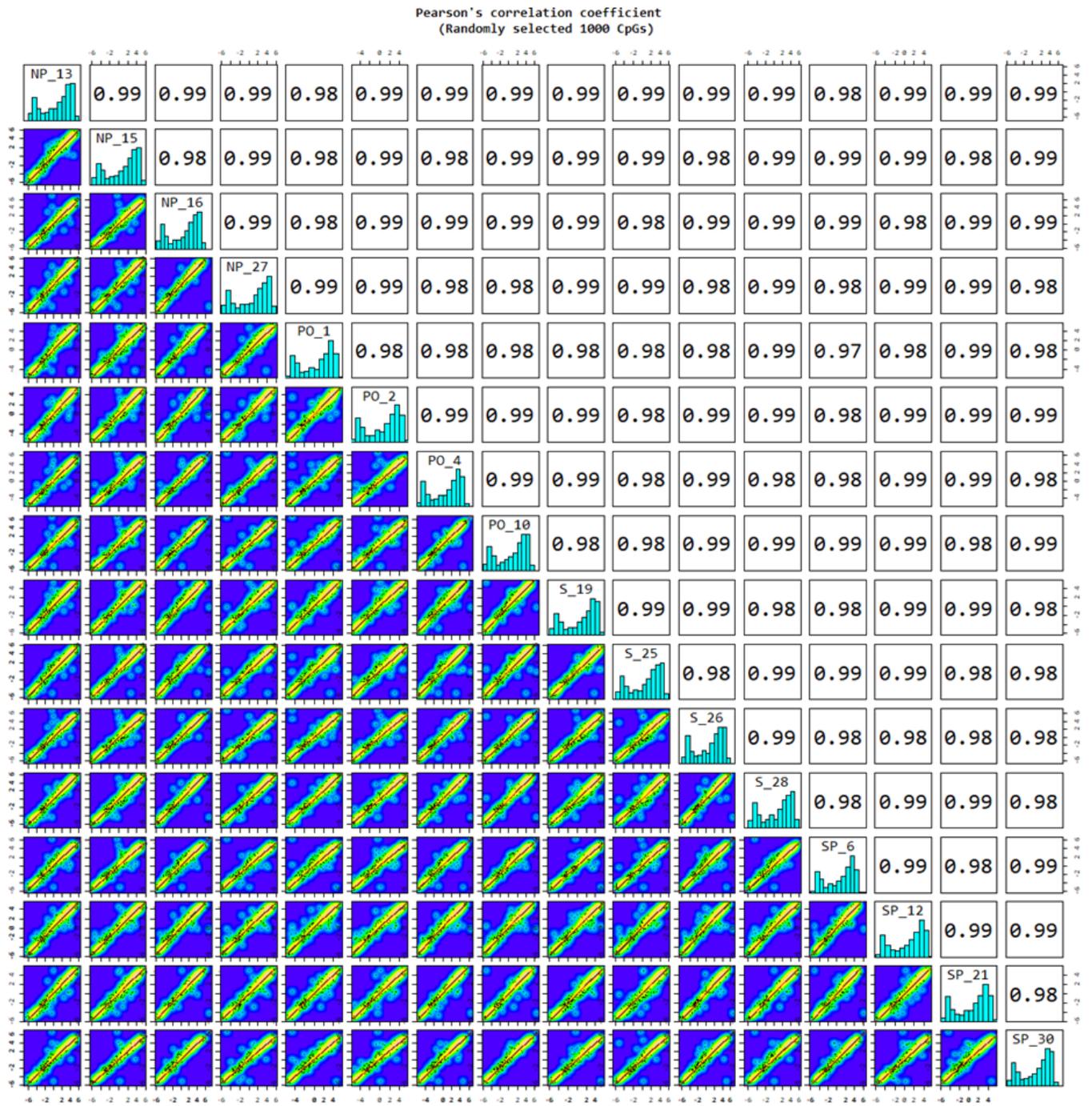


**Gráfico 2.** Ejemplo de coeficiente de correlación entre las variables densidad e intensidad de metilación por muestra aplicado por la plataforma EPIC.



Correlación positiva de las muestras; léase como positiva si la correlación  $r$  (densidad) está entre 0 y 1 sin llegar a ser 0 y 1. En el panel superior y en el de la derecha, el grado de cercanía de es respectivamente 1 y 0,4 lo que expresa proporcionalidad directa entre dos variables

**Gráfico 4.** Correlación de Pearson's para las 16 muestras analizadas.



Histogramas con distribución del nivel de metilación para los sitios CG para las 16 muestras. Todos los coeficientes de correlación fueron positivos; ningún valor fue inferior a 0,98.

## **Capítulo 3. Variables relacionadas con el desarrollo de obesidad pediátrica: punto de partida en la construcción de un modelo predictivo obesogénico.** Observaciones derivadas de un grupo de casos y controles.

### **Objetivos**

Explorar las variables que mejor expliquen el desarrollo de obesidad pediátrica y plantear un modelo predictivo para el desarrollo de obesidad pediátrica.

### **Artículo original**

## **Variables durante el desarrollo de obesidad pediátrica y aportes a un modelo predictivo.**

Juan Manuel Alfaro Velásquez<sup>1\*</sup>, Elsa María Vásquez Trespalcios<sup>2</sup>, Nélica Rodríguez Osorio<sup>3</sup>, Rodrigo Urrego<sup>4</sup>

1. Grupo de investigación en Ciencias Básicas. Escuela de Graduados. Universidad CES. Medellín Colombia. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso tercero, Medellín, Antioquia, Colombia.

2. Facultad de Medicina, Universidad CES. División de posgrados clínicos. Grupo de investigación Observatorio de la Salud Pública. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso tercero, Medellín, Antioquia, Colombia.

3. Universidad de la República. Unidad de Genómica y Bioinformática. Departamento de Ciencias Biológicas. Centro Universitario Regional Litoral Norte, Universidad de la República. Rivera 1350 (50000) Salto, Uruguay.

4. Grupo INCA-CES. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad CES. Medellín, Colombia. Calle 10 A # 22-04. Bloque C, piso cuarto, Medellín, Antioquia, Colombia.

Título corto: variables en obesidad y modelo predictivo.

E-mails:

JAV: [juan.alfaro@ces.edu.co](mailto:juan.alfaro@ces.edu.co)  
EVT: [evasquez@ces.edu.co](mailto:evasquez@ces.edu.co)  
NRO: [nelida.rodriguez@unorte.edu.uy](mailto:nelida.rodriguez@unorte.edu.uy)  
RUA: [rurrego@ces.edu.co](mailto:rurrego@ces.edu.co)

\*Autor para correspondencia:

Juan Manuel Alfaro Velásquez

Basic Sciences Research Group, Graduates School – CES University

Calle 10A N° 22-04. Medellín, Antioquia, Colombia.

Phone: (4) 4440555

[juan.alfaro@ces.edu.co](mailto:juan.alfaro@ces.edu.co)

## Resumen

*Introducción:* la obesidad es un estado inflamatorio crónico, recurrente y progresivo, caracterizada por el excesivo almacenamiento de grasa como resultado de interacción entre factores ambientales y epigenéticos. Conocer las variables durante su desarrollo aporta en la construcción de un modelo predictivo. *Objetivos:* explorar variables clínicas, sociodemográficas y epigenéticas que aporten al desarrollo de obesidad pediátrica y su relación con un modelo predictivo; se incluyen nacidos con bajo peso (BPN). *Métodos:* descripción de variables en 20 obesos (50% BPN) relacionadas con cambio del índice de masa corporal (IMC) y determinar posiciones de metilación por EWAS en 16 niños (50% no obesos) de una cohorte de la consulta externa endocrinológica de la Clínica CES 2008 a 2018. Las variables clínicas se evaluaron por 7 años. El ADN se obtuvo de leucocitos para análisis de 5 mC empleando la plataforma EPIC BeadChip arrays que cubre más de 850.000 sitios CpGs en todo el genoma. Los aportes al modelo predictivo se seleccionaron por  $p < 0,05$ . *Resultados:* el peso al nacer, el acelerado incremento del IMC y 11 sitios cg diferencialmente metilados aportan en la construcción del modelo predictivo en obesidad, todas relacionadas con el medio ambiente y con comorbilidades. *Conclusión:* en niños obesos colombianos el incremento anormal del IMC y el bajo peso al nacer son indicadores de obesidad infantil relacionados con sitios diferencialmente metilados del ADN.

## Abstract

Introduction: obesity is a chronic, recurrent and progressive inflammatory state, characterized by excessive fat storage as a result of interaction between environmental and epigenetic factors. Knowing the variables during their

development contributes to building a predictive model. Objectives: to explore clinical, sociodemographic and epigenetic variables that contribute to development of pediatric obesity and its relationship with a predictive model. Low birthweight babies (SGA) are included. Methods: description of variables in 20 obese (50% SGA) related to change in body mass index (BMI) and determination of methylation positions by EWAS in 16 children (50% non-obese) from a cohort of the endocrinological outpatient clinic of the CES Clinic 2008 to 2018. The clinical variables were evaluated for 7 years. DNA was obtained from leukocytes for 5 mC analysis using the EPIC BeadChip arrays platform that covers more than 850,000 CpGs sites throughout the genome. The contributions to the predictive model were selected by  $p < 0.05$ . Results: birth weight, the accelerated increase in BMI and 11 differentially methylated cg sites contribute to the construction of the predictive obesity model, all related to the environment and comorbidities. Conclusion: in obese Colombian children the abnormal increase in BMI and low birth weight are indicators of childhood obesity related to differentially methylated sites of DNA.

### **Palabra Clave**

inflamación crónica  
modelo predictivo  
bajo peso al nacer  
metilación diferencial  
índice de masa corporal

### **Keyword**

chronic inflammation  
predictive model  
low birth weight  
differential methylation  
body mass index

### **Introducción.**

La obesidad es un estado de inflamación crónica relacionado con la producción anormal de citoquinas y aumento de proteínas reactivas de fase aguda secundario a hiperplasia e hipertrofia del adipocito visceral, muscular y hepático (1); en niños su origen se relaciona con componentes medioambientales, genéticos y epigenéticos (2) dependientes de estilos de vida, conductas alimenticias, ambiente

intrauterino y las condiciones socioeconómicas (3). Reconocer variables para su desarrollo aporta en lo etiológico, epidemiológico y terapéutico.

El balance acumulativo de energía se ha vuelto frecuente y está determinado entre otros por el modelo económico y social del entorno familiar. En niños y a largo plazo, la expansión anormal del tejido adiposo se relaciona con diabetes tipo 2 (DM<sub>2</sub>), dislipidemia, hipertensión arterial, morbilidad osteoarticular, hígado graso no alcohólico (HGNA), resistencia a la insulina (RI), deslizamientos epifisarios de la cabeza femoral y síndrome de ovario poliquístico entre otros (4, 5).

Condiciones adversas en momentos críticos del desarrollo intrauterino y/o durante la lactancia determinan cambios en el funcionamiento de ejes endocrinos o “nueva programación”; noxas ambientales durante los primeros mil días de vida contados a partir de la concepción se relacionan con el desarrollo de enfermedades no transmisibles como la obesidad (6); la expresión clínica de estas depende en parte del impacto sobre el epigenoma: el bajo peso al nacer y la influencia de factores nutricionales durante el tránsito hacia la adolescencia son parte de estas (7); la temporalidad de tales experiencias se extiende más allá de la primera infancia aunque el mayor impacto ocurre durante la diferenciación celular y la conformación de los tejidos; luego de esto el epigenoma se estabiliza y es menos vulnerable.

El objetivo de este trabajo fue determinar las variables relacionadas con el desarrollo de obesidad en el seguimiento de un grupo de adolescentes de la ciudad de Medellín como punto de partida para el desarrollo de un modelo predictivo de obesidad infantil a partir de elementos clínicos y genómicos. Los modelos predictivos dependen de características multifactoriales y son desarrollados como estrategia para identificar individuos de riesgo aplicando la estadística.

## **Materiales y métodos**

### Diseño de estudio

Estudio que relaciona dos unidades de análisis: 1) casos (niños obesos) anidado en una cohorte de seguimiento y 2) estudio de posiciones de metilación de todo el genoma (EWAS). Los participantes son de la consulta externa de endocrinología pediátrica de la institución Clínica CES (Medellín Colombia). Estudio aprobado por el comité institucional de ética en investigación en humanos de la Universidad CES (acta 122, mayo 8 de 2018) y por la clínica CES; los representantes legales dieron

consentimiento informado (escrito); en el menor se tomó asentimiento. Se valoró la capacidad de entendimiento y razonamiento mediante prueba psicométrica previo al asentimiento.

## Participantes

20 niños obesos de la consulta externa de endocrinología pediátrica (60% mujeres), la mitad nacidos con bajo peso (BPN) (tabla 1). Se extrajo ADN a 8 de ellos para estudio EWAS (37,5% mujeres), la mitad nacidos con bajo peso; se estableció un grupo control no obeso para estudio EWAS (n=8), la mitad nacidos con bajo peso y 37,5% mujeres. Todos tienen registro de IMC durante al menos 7 años validados por endocrinólogo pediatra. Se excluyen hijos de partos múltiples, enfermedades cromosómicas o malformativas y obesidad monogénica.

## Variables

Son dos las variables de resultado principal: 1) el cambio del IMC (kg/mt<sup>2</sup>) obtenido en posición vertical entre las 14:00–18:00 horas con la menor ropa posible empleando estadiómetro de pared Harpenden® (Ref.: HAR.98602VR, Gales, UK) y báscula de precisión Seca® 274 (Hamburgo, Alemania) y 2) los puntos de metilación diferencial del ADN (pmvADN) determinados con la plataforma Illumina Infinium MethylationEPIC (Illumina, Inc., San Diego, CA).

## Consideraciones entre grupos

El grupo de obesos se comparó con no obesos según peso al nacer (50% con BPN); en el análisis EWAS se determinaron 5 unidades de comparación: BPN obeso vs sano y vs BPN no obesos, obesos nacidos con peso normal vs BPN obesos, BPN no obesos y sanos.

## Antecedentes neonatales

El peso al nacer y la edad gestacional se toman de registros del carné de vacunación y por datos maternos totalmente confiables. BPN es peso inferior a 2500 g (8). Diabetes gestacional es la diabetes que aparece por primera vez en el curso del embarazo (9). Hipertensión gestacional es tensión arterial  $\geq 140/90$  mmHg luego de 20 semanas gestacionales (10). Hemorragia gestacional es el sangrado vaginal durante la gestación (11).

## Evaluación Bioquímica

La muestra sanguínea se toma por flebotomía antecubital (ayuno mayor a 8 horas) entre las 07:00 y las 08:30 AM con procesamiento inmediato en analizador de hematología DxC 700 AU (Beckman Coulter / serial B98654 / EE UU), calibración diaria (ACE calibrator 3 x 1 mL) (REF 1665001), empleando espectrofotometría y potenciometría (12).

## Metilación del ADN en leucocitos

El ADN se extrajo de leucocitos de sangre periférica por venopunción antecubital (laboratorio clínico de la Clínica CES) con procesamiento en las siguientes 3 horas. La sangre total se transportó a 4°C y se centrifugó separando glóbulos blancos de eritrocitos y plasma; la capa leucocitaria se transfirió a solución de lisis para centrifugación y procesamiento. El ADN genómico se aisló empleando el Kit de purificación de ADN MasterPure™<sup>®</sup> según las instrucciones del fabricante (Epicentre Biotechnologies, WI). La concentración y la pureza del DNA se determinó en Nanodrop 1000–ThermoScientific<sup>®</sup>.

## Perfil de metilación del ADN genómico

Se determinaron posiciones de metilación CpG con la plataforma Illumina Infinium MethylationEPIC según instrucciones del fabricante (Illumina, Inc., San Diego, CA); cada posición de metilación se representó por señales fluorescentes de los alelos M (metilado) y U (no metilado); la relación entre señales fluorescentes se calculó con la fórmula  $\beta = (\text{máx. (M, 0)}) / (|U| + |M| + 100)$  con valor de  $\beta$  de 0~1 (0% a 100%) (Illumina GenomeStudio v2011.1; módulo de metilación v1.9.0 y R 3.3.3).

## Tamaño de muestra y control de sesgos

La muestra se determinó por conveniencia. Los datos los toma endocrinólogo pediatra bajo protocolo para reducir posibles errores de extracción y a partir del historial condensado en la institución Clínica CES de Medellín. El control de sesgos dependió de los registros clínicos de nacimiento documentados por la madre, del reporte verificado del peso al nacer y de la edad gestacional.

## Análisis estadístico

En variables cuantitativas se empleó distribución de frecuencias y en cualitativas chi cuadrado. En muestras independientes test de Mann-Whitney y para datos dependientes pareados test de Friedman. El nivel de significancia es  $p < 0,05$  (CI 95%). En el análisis longitudinal de datos cuantitativos se adopta modelo lineal (distribución de Poisson) empleando el programa STATA 16.1.

Los reportes EWAS confiables ( $p < 0,01$ ) dependieron de: 1) extracción de datos crudos, 2) preprocesamiento y verificación de calidad (BMIQ), 3) pruebas estadísticas (delta mean, T independiente, Odds ratio y fold change), 4) selección de resultados significativos  $p < 0,05$  y delta mean  $\geq 0,2$  y 5) conformación de grupos jerárquicos. Según M la correlación de Pearson's  $r$  estuvo entre  $-1 \leq r \leq 1$ ; la reducción de falsos positivos se hizo con FDR (q-valor) para  $p < 0,05$  (método de p-valor secuencial o fdr-p-val).

Aportes a un modelo predictivo obesogénico

Se cuenta con pmvADN según librerías R y RStudio reportadas por la plataforma HumanMethylationEPIC BeadChip (EPIC) ®; se suman algunas características sociodemográficas y clínicas; no se suma correlación genotipo-fenotipo ni contexto social, cultural y familiar. No se incluyen comorbilidades a largo plazo.

## Resultados

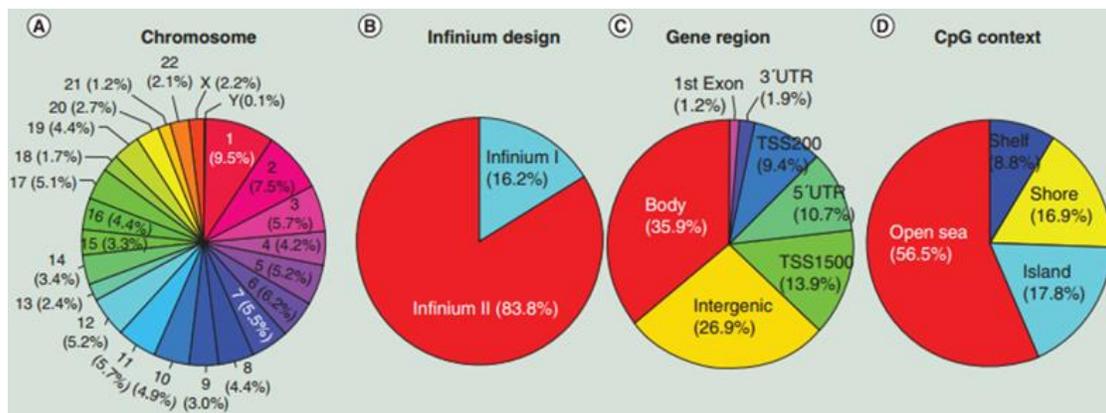
No se encontró DM<sub>2</sub>. La magnitud de incremento del IMC más alto corresponde a nacidos con peso normal (promedio anual 1,59, IC 1,28 – 1,90); en obesos nacidos con bajo peso es 1,06 (IC 0,74 – 1,38). La tabla 2 compara la estimación cruda y ajustada del cambio del IMC (IC 95%). En los casos, los antecedentes por los que se ajustó la media del cambio anual del IMC no tuvo efecto confusor relevante; en los nacidos con bajo peso hay mayor morbilidad materna. Los nacimientos ocurren en promedio a los 28,59 años ( $\pm 5,37$  DE) con 36,81 semanas gestacionales ( $\pm 2,23$  DE) y 2.612,97 g ( $\pm 681,44$  DE) ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 2.** Estimación cruda y ajustada de la media de cambio anual en el IMC (estimación marginal) en obesos según antecedente de peso al nacer

Grupo	Observado			Ajustado		
	Cambio medio	valor p	IC95%	Cambio medio	valor p	IC95%
Obesidad y peso normal al nacer	1,60	<0,0001	1,25 1,95	1,59	<0,0001	1,28 1,90
Obesidad y bajo peso al nacer	0,97	<0,0001	0,64 1,29	1,06	<0,0001	0,74 1,38

Se valoró el IMC y la metilación del ADN por EWAS a 16 menores de 18 años (8 obesos). El promedio del IMC en obesos fue 30,07 vs 17,05 en los no obesos ( $p < 0,05$ ). El 17,8% de la metilación del ADN se encontró en islas CpG y el 35,9 % en el cuerpo de los genes (gráfico 1). Se detectaron 865.646,1 CpG por  $p < 0,05$  y 865.561 por  $p < 0,01$ . La reproducibilidad entre muestras según correlación de Pearson's  $r$  fue  $\geq 0,98$ .

**Gráfico 1.** Caracterización de la metilación de sitios CpG según MethylationEPIC BeadChip de 16 niños obesos y no obesos.



A: Distribución de sitios CpG por cromosoma (%). B: detección de sitios CpG según la plataforma introducida por EPIC. C: ubicación detallada de los sitios CpG considerando la posición en los cromosomas. D: ubicación de sitios CpG según la nomenclatura sugerida por EPIC.

### Posiciones de metilación variable del ADN (pmvADN)

Se encontraron 385 sitios CpG hipermetilados y 603 hipometilados con 41 pmvADN de interés ( $p < 0,05$ ), 38 relacionadas con la comparación entre grupos (9 genes), 2 en *PER3* y 1 en *PTPRS* (tabla 3).

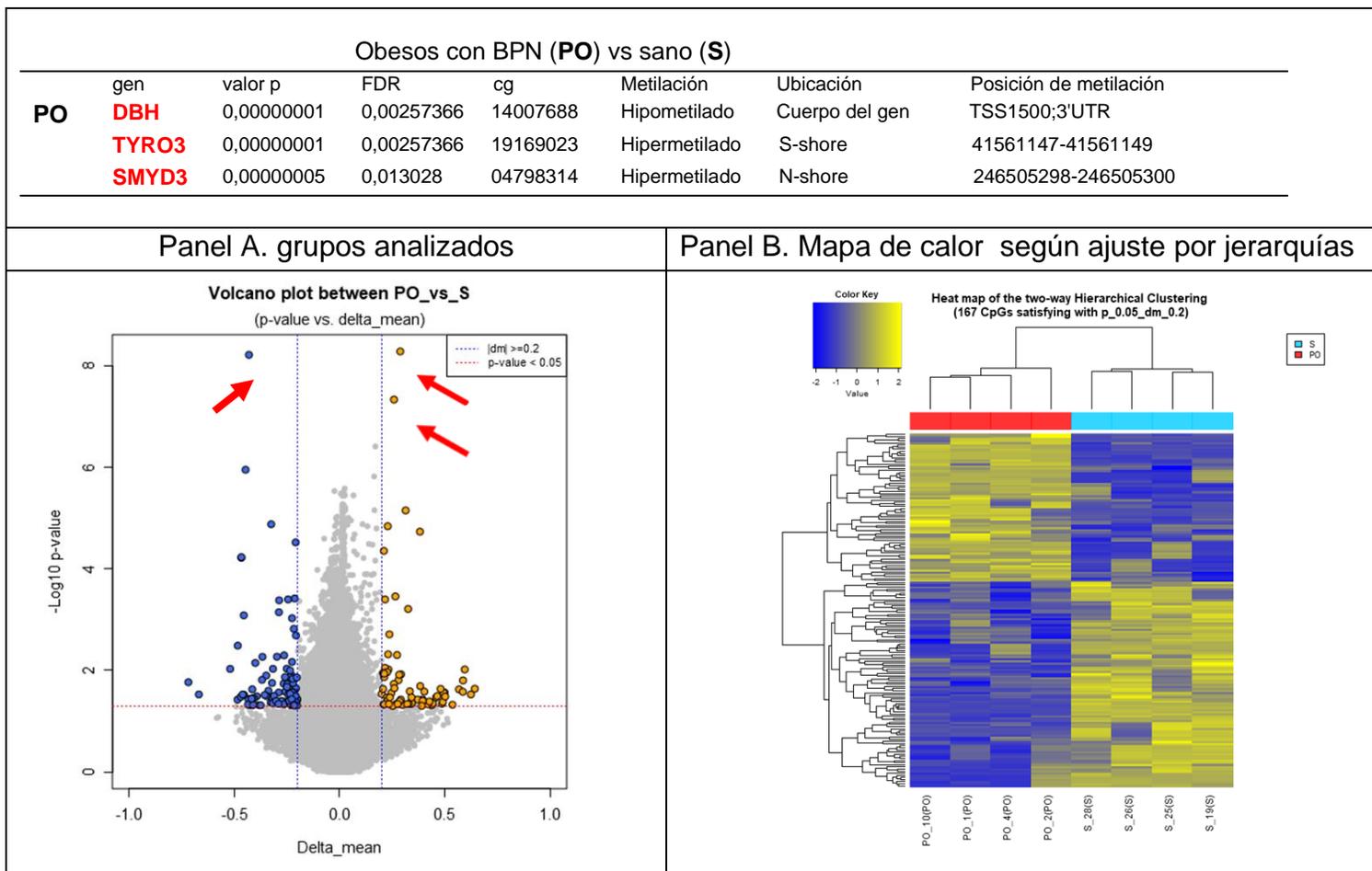
**Tabla 3.** Variables durante el desarrollo de obesidad pediátrica a considerar en la construcción de un modelo predictivo

VARIABLES ( $p < 0,05$ )			METILACION DEL ADN SEGÚN EWAS					
Tipo	Descripción	Caracterización	Caracterización de las metilaciones por grupos		pmvADN de interes	Estado de metilación	Gen	Otras pmvADN según EWAS
			hipermetilado	hipometilado				
Sociodemográficas	Bajo peso al nacer y comorbilidad antenatal	Peso en g al nacer y enfermedad materna	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Clínicas	Incremento anual del IMC entre obesos según peso al nacer	Cambio del IMC entre obesos según el peso al nacer	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	Cambio del IMC entre obesos y no obesos	Cambio del IMC en adolescente obeso vs sano	-----	-----	cg04917262 cg23022034	Hipometilado Hipometilado	PER3 PTPRS	-----
		Obesos con BPN vs no obeso nacido con peso normal	70 (41,92 %)	97 (58,08 %)	cg14007688 cg19169023	Hipometilado Hipermetilado	DBH TYRO3	cg14301000 cg01050433 cg04760526 cg17208363 cg26741380 cg03045478 cg09016610 cg09692889 cg10557782 cg13977623 cg14640420 cg16652841 cg16838795 cg21119962 cg24589017
	Obesos con BPN vs no obesos nacidos con BPN	Obesos con BPN vs no obesos nacidos con BPN	82 (27,06 %)	221 (72,94 %)	cg03730546	Hipermetilado	ZNF117	-----
		Obesos nacidos de peso normal vs no obesos nacidos de peso normal	66 (45,21 %)	80 (54,79 %)	cg02037122 cg11201297	hipometilado Hipermetilado	ARHGAP17 SETBP1	-----
	Obesos nacidos de peso normal vs BPN no obeso	88 (45,15%)	107 (54,87 %)	cg23439621	Hipometilado	PPP2R5C	cg02997573 cg05020081 cg05071770 cg13696228 cg14512008 cg16954369 cg19405711 cg21570168 cg27022326 cg27055481	
	Obesos nacidos de peso normal vs obesos nacidos con bajo peso	Obesos nacidos de peso normal vs obesos nacidos con bajo peso	79 (45,14 %)	96 (54,86 %)	cg25879395	Hipermetilado	SPG21	cg04090599 cg07448057 cg16992257 cg18399988
					cg17669433	Hipermetilado	MTF2	-----

Posiciones de metilación variable de ADN según grupos de comparación.

1. Comparación entre obesos con bajo peso al nacer (PO) vs sano (S). Se identificaron 18 pmvADN en los genes *DBH*, *SMYD3* y *TYRO3* ( $p < 0,05$ ) (figura 1).

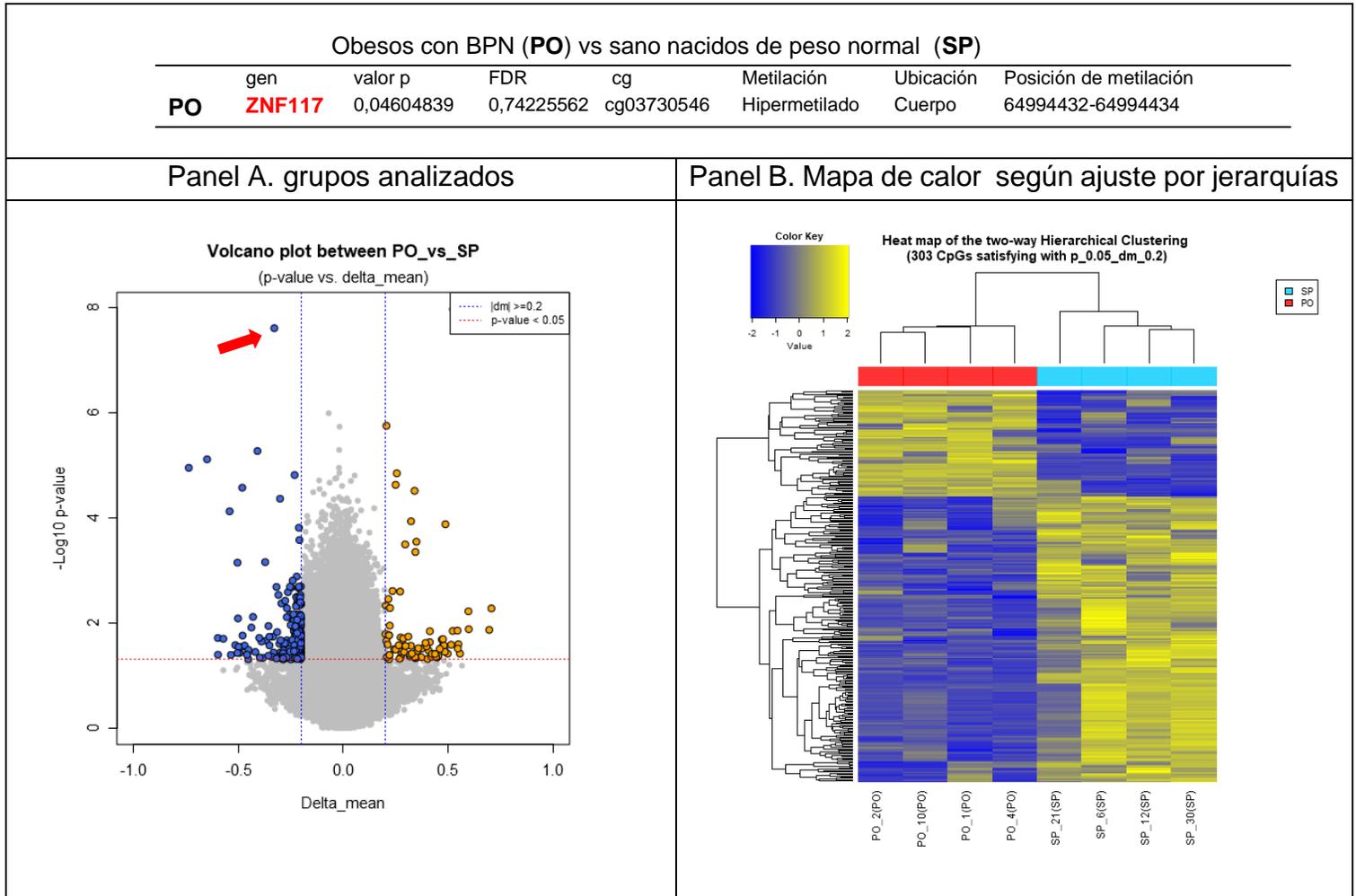
**Figura 1.** Ilustración empleando volcano plot, mapas de calor y selección de tres 3 genes con pmvADN al comparar PO vs sanos.



Panel A (eje X) cambio del pliegue vs control determinado por valor M: externo a las líneas azules es distribución normal de la prueba estadística. Eje de Y (logaritmo negativo del valor de p en base 10) o cambios de pliegue que se aleja de cero. Puntos grises: sitios cg con cambio de pliegue de poca significancia. Flechas rojas: puntos de interés (cambios de pliegue) de gran magnitud y significancia. Línea roja discontinua hacia arriba es  $p < 0,05$ . Panel B. Lectura en cuatro dimensiones para 2 dendrogramas. Eje de X superior grupo a comparar (rojo) vs grupo con el que se compara (azul). Eje Yo asociaciones por jerarquías: azul o pobre significancia y amarillo o mejor significancia. Cada brazo del dendrograma (familias) asocia componentes con características similares. Adóptese esta explicación para las figuras 2 a 5.

2. Comparación entre obesos con bajo peso al nacer (PO) vs sano nacidos de peso bajo (SP). Se encontró 1 pmvADN con hipermetilación en cg03730546 ( $p < 0,05$ ) del gen *ZNF117* (figura 2).

**Figura 2.** Ilustración empleando volcano plot y mapa de calor que representa el gen *ZNF117* al comparar obesos con BPN (PO) vs nacidos con bajo peso sin desarrollo de obesidad (SP).

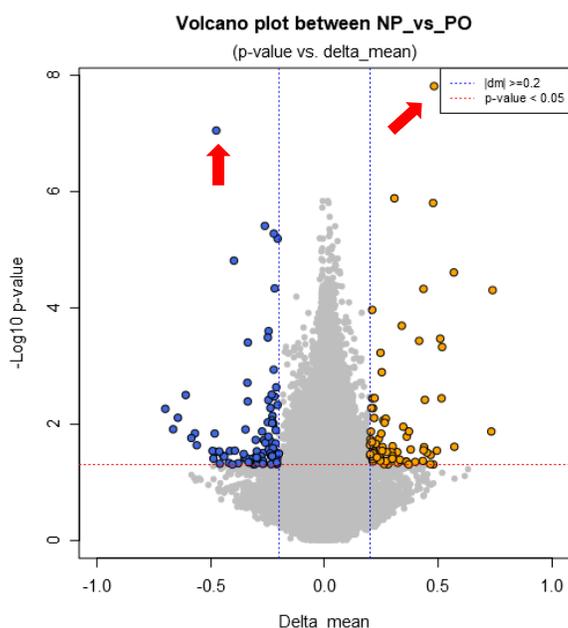


3. Comparación entre obesos nacidos de peso normal (NP) vs obesos con bajo peso al nacer (PO). Se identifica 1 pmvADN en *MTF2* (hipermetilado en cg17669433) ( $p < 0,05$ ) y 5 pmvADN en *SPG21* ( $p < 0,05$ ) (figura 3).

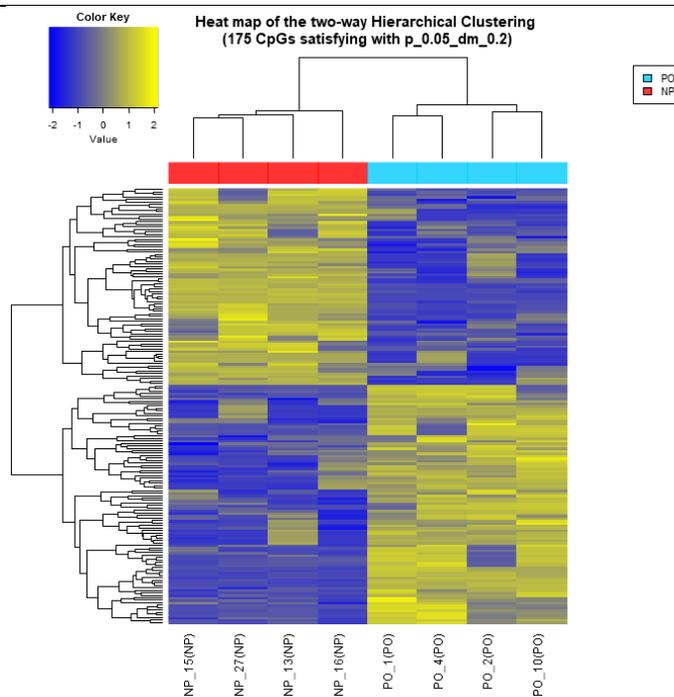
**Figura 3.** Ilustración empleando volcano plot y mapa de calor según sitios con pmvADN al comparar obesos nacidos con adecuado peso (NP) vs obesos con bajo peso al nacer (PO). Solo se caracteriza la p de menor valor (\*)

Obeso nacido de peso normal (NP) vs obesos con bajo peso al nacer (PO)							
	Gen	valor p	FDR	cg	Metilación	Ubicación	Posición de metilación
NP	<b>MTF2</b>	0,02014284	0,74225562	17669433	Hipermetilado	Cuerpo	93128782-93128784
	<b>SPG21</b>	0,00005866*	0,33306003	25879395	Hipermetilado	Cuerpo	64980221-64980223

Panel A. grupos analizados



Panel B. Mapa de calor según ajuste por jerarquías



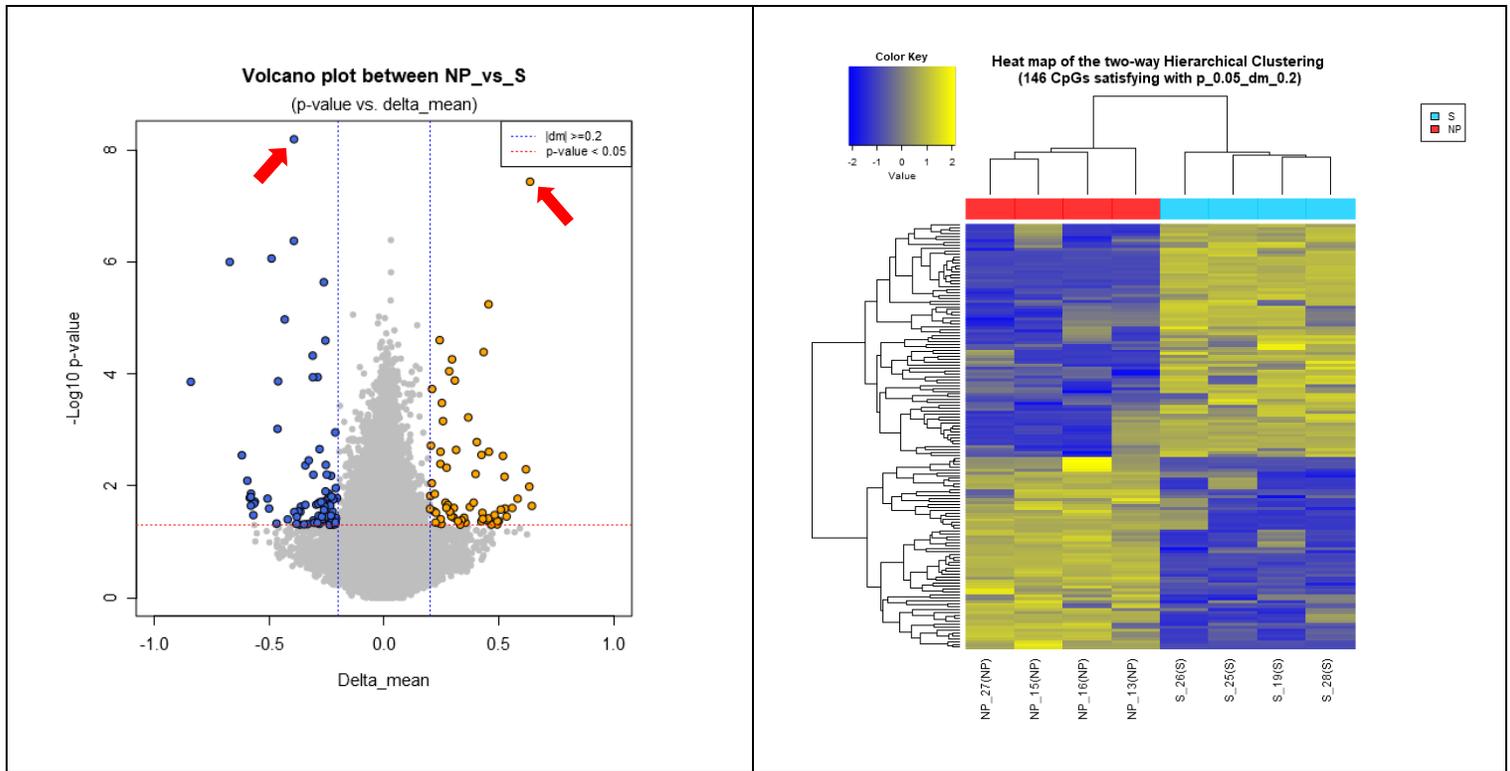
4. Comparación entre obesos nacidos de peso normal (NP) vs sano (S). Se identificaron 2 pmvADN de interés ( $p < 0,05$ ), hipometilación de cg02037122 de *ARHGAP17* e hipermetilación de cg11201297 en *SETBP1*, figura 4.

**Figura 4.** Ilustración empleando volcano plot y mapa de calor que representa los genes *ARHGAP17* y *SETBP1* al comparar obesos nacidos de peso normal (NP) vs sanos (S).

Obeso nacido de peso normal (NP) vs sano (S)							
	gen	Valor p	FDR	cg	Metilación	Ubicación	Posición de metilación
NP	<b>ARHGAP17</b>	0,02562303	0,74225562	cg02037122	Hipometilado	Cuerpo	1stExon;TSS1500;3'UTR;
	<b>SETBP1</b>	0,03912991	0,74225562	cg11201297	Hipermetilado	Cuerpo	44693467-44693469

Panel A. grupos analizados

Panel B. Mapa de calor según ajuste por jerarquías



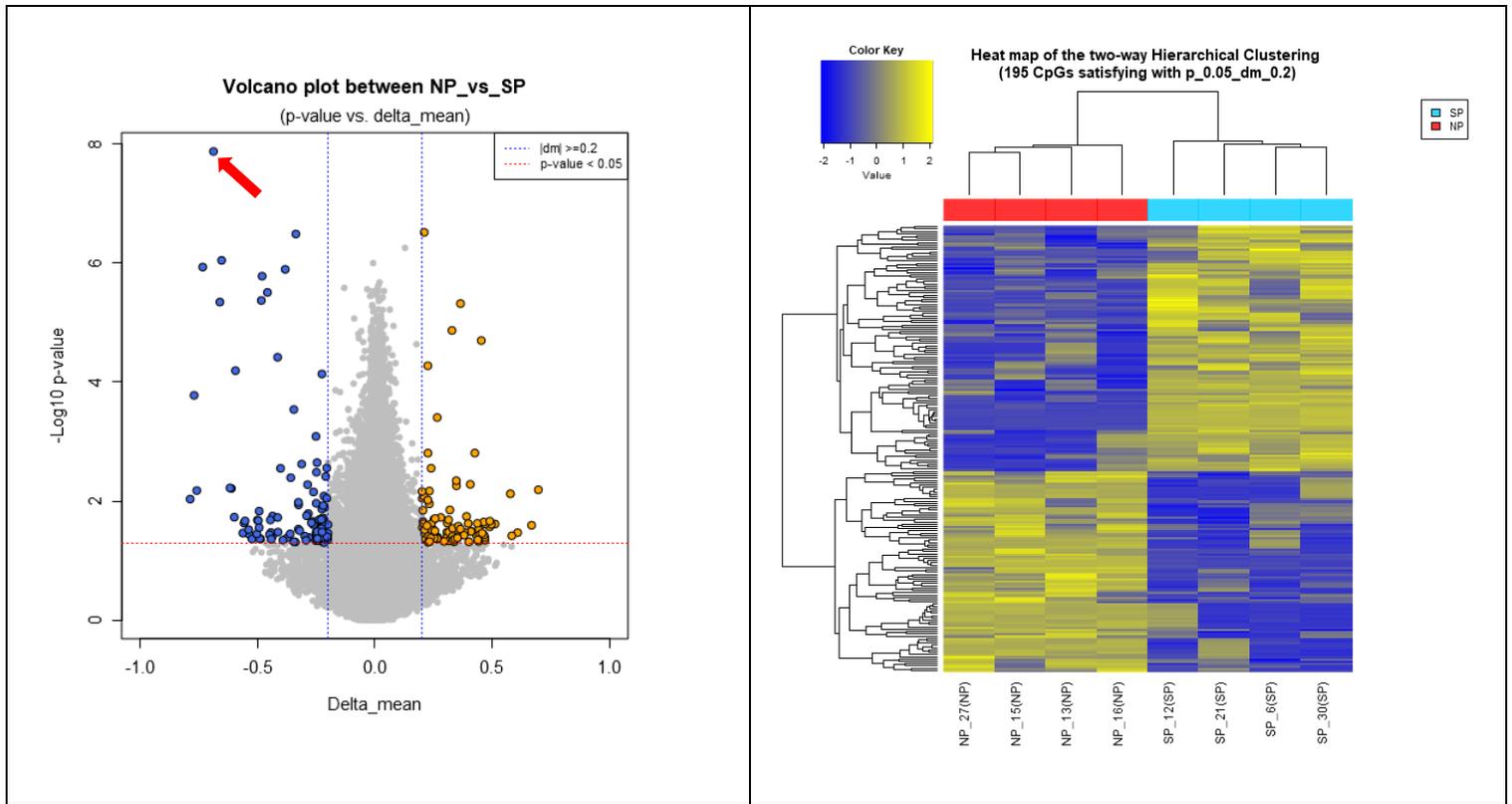
5. Comparación entre obesos nacidos de peso normal (NP) vs sano nacidos con bajo peso (SP). Se encontraron 11 pmvADN en el gen *PPP2R5C* ( $p < 0,05$ ), figura 5.

**Figura 5.** Ilustración empleando volcano plot y mapa de calor de 1 sitio con pmvADN para el gen *PPP2R5C* al comparar NP vs SP. Solo se caracteriza un valor de p correspondiente con una isla CpG (\*).

Obeso nacido de peso normal (NP) vs no obesos nacidos con bajo peso (SP)							
	gen	Valor p	FDR	cg	Metilación	Ubicación	Posición de metilación
<b>NP</b>	<b>PPP2R5C</b>	0,01649816*	0,74225562	23439621	Hipometilado	Isla	101761878-101761880

Panel A. grupos analizados

Panel B. Mapa de calor según ajuste por jerarquías



## Discusión.

En nuestro grupo de casos la obesidad se establece anticipadamente (antes de los 8 años) con incremento diferencial del IMC ( $p=0,042$ ), observación a relacionar con el peso al nacer, el comportamiento de la ganancia compensadora del peso posnatal y las condiciones obesogénicas ambientales (sociofamiliares), situación ya analizada en otros modelos (13). Las condiciones obesogénicas ambientales determinan el mayor cambio anual del IMC observado en nacidos de peso adecuado y el modelo ecosocial de Rivera Donmarco et al (14) aplica con ajustes. En este, el microsistema conformado por el hogar participa en la ganancia compensadora de peso antes de los 4 años de edad generando niños obesos ya para la edad escolar a integrar en un meso sistema obesogénico externo conformado por el entorno social.

Para la OMS la edad materna avanzada es determinante en nacimientos de niños con bajo peso (15) observación que no se correspondió en nuestro grupo (~18-35 años); la exposición ambiental fetal depende de la salud gestacional materna, hábitos de vida y cambio del IMC, características que no se evaluaron dada las inconsistencias en la fuente primaria de la información (historia clínica); estas y las

condiciones medioambientales posnatales se deben relacionar con el cambio del IMC y los perfiles de metilación del ADN; al cierre del estudio el análisis de estos últimos resultó de interés.

Nuestros resultados reportan 41 pmvADN ( $p < 0,05$ ) en genes de inflamación sistémica, proliferación de adipocitos, RI, cambio del IMC, ciclo circadiano, HGNA, incremento de la masa hepática y síndrome metabólico (SM), observaciones no reportadas en niños colombianos obesos (16-19). Al comparar obesos nacidos con bajo peso vs nacidos de peso normal no obesos, las pmvADN en el cuerpo de *DBH* (cg14007688), *SMYD3* (cg04798314) y *TYRO3* (cg19169023) se relacionan con proliferación de adipocitos, inflamación sistémica y disfunción endotelial, situándolos como candidatos a enfermedad metabólica temprana (20-25); si se comparan con individuos sanos nacidos de bajo peso, la pmvADN cg03730546 (*ZNF117*) se relaciona con un desarrollo adipocítico avanzado (26, 27); estos resultados proponen avanzar en el análisis que relacione modificaciones introducidas por el medio ambiente (desde la vida fetal, los primeros mil días de vida y la pubertad) con el fenotipo ahorrador de las hipótesis de Hales y Barker (28).

Al comparar obesos con el mayor cambio anual del IMC (obesos nacidos de peso adecuado) ( $p < 0,05$ ) vs obesos nacidos con bajo peso, las pmvADN involucran genes del desarrollo de HGNA y lipotoxicidad derivada de la dieta (21, 23, 24, 29), a relacionar con medio ambiente obesogénico; los cg de interés son cg25879395 (*SPG21*), cg17669433 (*MTF2*) y cg 11201297 (*SETBP1*); todos en el cuerpo del gen. Este grupo vs nacido con bajo peso que no desarrolla obesidad tiene pmvADN en cg23439621 (*PPP2R5C*) a relacionar con el control metabólico post ingesta de glúcidos y lípidos (29, 30). El obeso vs sano ( $p < 0,05$ ) tiene pmvADN en cg23022034 (*PTPRS*), cg 04917262 (*PER3*) y cg 08764927 (*PER3*).

La mayoría de pmvADN se ubican en el cuerpo del gen y su relación con obesidad infantil tiene interpretación incierta como lo sugiere la literatura; estas se deben correlacionar con características medioambientales que modifiquen el IMC posnatal a caracterizar en modelos predictivos de obesidad infantil. La tabla 3 reúne las variables encontradas en este estudio ( $p < 0,05$ ) a considerar en la construcción de un modelo predictivo de obesidad infantil.

Nuestros resultados sugieren que el escenario común para menores de 18 años que desarrollan obesidad es la alteración del IMC según haya sido su peso al nacer y dependiente respectivamente del ambiente; estas observaciones son consistentes en parte con la reportada por Aguilera et al. (3) empleando EWAS en niños obesos

y calificando el IMC (Illumina 450K). Nuestras observaciones encuentran que las características ambientales relacionadas con el grupo de mayor incremento del IMC (obesos nacidos con peso normal) alteran el metiloma en los sitios cg02037122 (*ARHGAP117*), cg11201297 (*SETBP1*), cg23439621 (*PPP2R5C*), cg25879395 (*SPG21*) y cg17669433 (*MTF2*); en individuos obesos con deterioro del bienestar fetal estas correspondieron con los sitios cg14007688 (*DBH*), cg19169023 (*TYRO3*) y cg04798314 (*SMYD3*). En ambos casos las influencias ambientales seleccionan escenarios diferentes según las circunstancias. La hipometilación en cg04917262 y cg08764927 de *PER3* se debe seguir explorando durante el desarrollo de obesidad pediátrica; su relación con el medio ambiente se establece a través del ciclo circadiano.

Aunque la obesidad persistente y exagerada en adolescentes genera riesgo de obesidad para la adultez (77-92%) (3, 14), nuestros resultados no determinan si el estado de metilación encontrado sobre el ADN se corresponde con el reportado en adultos obesos; algunas características de metilación del ADN relacionadas con el cambio del IMC, el estado de salud materno y las condiciones metabólicas del afectado se presentan en la tabla 4 (31-36).

## **Conclusiones**

El peso al nacer y el incremento acelerado del índice de masa corporal son variables clínicas de alto impacto en la evolución de la obesidad infantil en menores de 18 años, ambas estrechamente relacionadas con el medio ambiente. Una vez se determine incremento anormal del IMC en el niño, se debe correlacionar con indicadores metabólicos y epigenéticos de comorbilidad a largo plazo.

Se describen 11 sitios cg con patrón de metilación variable durante el desarrollo de obesidad infantil, fuertemente influenciados por el ambiente pre y posnatal; la revisión de las características de sus genes se relaciona con comorbilidad metabólica; se amplía la relación entre ciclo circadiano, medio ambiente y obesidad.

Se determinan los primeros sitios cg de interés como aporte epigenético a la elaboración de un modelo predictivo en obesidad infantil. Este aporte debe complementarse con seguimiento a la exposición a otros factores de riesgo extrauterinos, valoración de un número mayor de características sociodemográficas gestacionales y correlación genotipo-fenotipo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ruiz LD, Zuelch ML, Dimitratos SM, Scherr RE. Adolescent obesity: diet quality, psychosocial health, and cardiometabolic risk factors. *Nutrients*. 2019;12(1):43. <https://doi.org/10.3390/nu12010043>.
2. Bovi APD, Michele LD, Laino G, Vajro P. Obesity and obesity related, sugar consumption and bad oral health: a fatal epidemic mixtures: the pediatric and odontologist point of view. *Translational Medicine*. 2017;16:11-16.
3. Aguilera C, Labbé T, Busquets J, Venegas P, Neira C, Valenzuela Á. Obesidad: ¿Factor de riesgo o enfermedad? *Rev Méd Chile*. 2019;147(4):470-4.
4. Kelishadi R, Poursafa P. Obesity and air pollution: global risk factors for pediatric non-alcoholic fatty liver disease. *Hepat Mon*. 2011;11(10):794-802.
5. Gurnani M, Birken C, Hamilton J. Childhood obesity. *Pediatric Clinics of North America*. 2015;62(4):821-40.
6. Grey K, Gonzales GB, Abera M, Lelijveld N, Thompson D, Berhane M, et al. Severe malnutrition or famine exposure in childhood and cardiometabolic non-communicable disease later in life: a systematic review. *BMJ Global Health*. 2021; 6:e003161. Doi: 10.1136/bmjgh-2020-003161.
7. López-Cabra CA, Sternberg ÁMR, Rondón ÁMP. Factores perinatales para riesgo de sobrepeso y obesidad en niños de 4 a 5 años en Colombia. Trabajo de grado para optar por el título de Especialista en Epidemiología. 2010.91. Universidad del Rosario. Universidad CES. Disponible en: <https://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/11502/Lopez-Cabra-Claudia-Alejandra-2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
8. Durán P, Merker A, Briceño G, Colón E, Line D, Abad V, et al. Colombian reference growth curves for height, weight, body mass index and head circumference. *Acta Paediatr*. 2016;105(3):e116-25.
9. 6. Glycemic targets: standards of medical care in diabetes-2020. American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2020; 43 (Supplement 1): S66-S76. Disponible en: <https://doi.org/10.2337/dc20-S006>.
10. Turbay DYA, Zárate VC. Hipertensión en embarazo. *Acta Médica Colombiana*, 2019; 44(2) (Suplemento Digital - 1). pp:71-75.
11. Gómez-Gutiérrez-Solana I, Larrañaga C. Hemorragia en la gestación. *Anales Sis San Navar*. 2009;32 (supl.1). pp: 81-90. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1137-66272009000200009](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1137-66272009000200009)
12. Analizador de química BECKMAN COULTER DxC 700 AU. Disponible en: <https://www.beckmancoulter.com/es/products/chemistry/dxc-700-au>
13. Ramirez-Vélez R, Correa-Bautista JE, Villa-González E, Martínez-Torres J, Hackney AC, García-Hermoso A. Effects of preterm birth and fetal growth retardation on life-course cardiovascular risk factors among schoolchildren from Colombia: The FUPRECOL study. *Early Human Development*. 2017;106-107:53-8.
14. Muñoz-Muñoz FL, Arango-Álzate C. Childhood obesity: a new approach to its study. *Salud Uninorte. Barranquilla*. 2017;33(3):492-503.

15. Concepto de Developmental Origins of Health and Disease: El ambiente en los primeros mil días de vida y su asociación con las enfermedades no transmisibles. Arch Argent Pediatr [Internet]. 2020 [citado 20 de septiembre de 2021];118(4). Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2020/v118n4a27s.pdf>
16. He F, Berg A, Imamura Kawasawa Y, Bixler EO, Fernández-Mendoza J, Whitsel EA, et al. Association between DNA methylation in obesity-related genes and body mass index percentile in adolescents. Sci Rep. 2019;9(1):2079. doi: 10.1038/s41598-019-38587-7.
17. Wang J, Zhang H, Rezwan FI, Relton C, Arshad SH, Holloway JW. Pre-adolescence DNA methylation is associated with BMI status change from pre- to post-adolescence. Clin Epigenetic. 2021;13(1):64. doi: 10.1186/s13148-021-01042-4.
18. Rzehak P, Covic M, Saffery R, Reischl E, Wahl S, Grote V, et al. DNA-methylation and body composition in preschool children: epigenome-wide-analysis in the european childhood obesity project (CHOP)-Study. Sci Rep. 2017;7(1):14349. doi: 10.1038/s41598-017-13099-4.
19. Wang S, Song J, Yang Y, Zhang Y, Wang H, Ma J. HIF3A DNA Methylation is associated with childhood obesity and ALT. Costa M, editor. PLoS ONE. 2015;10(12):e0145944. doi: 10.1371/journal.pone.0145944. eCollection 2015
20. Wu K-S, Hung Y-J, Lee C-H, Hsiao F-C, Hsieh P-S. The Involvement of GAS6 signaling in the development of obesity and associated Inflammation. International Journal of Endocrinology. 2015;2015:1-7.
21. Scroyen I, Frederix L, Lijnen HR. Axl deficiency does not affect adipogenesis or adipose tissue development. Obesity. 2012;20(6):1168-73.
22. Bozek T, Blazekovic A, Perkovic MN, Jercic KG, Sustar A, Smircic-Duvnjak L, et al. The influence of dopamine-beta-hydroxylase and catechol O-methyltransferase gene polymorphism on the efficacy of insulin detemir therapy in patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetol Metab Syndr. 2017;9(1):97. doi: 10.1186/s13098-017-0295-0. eCollection 2017.
23. Liu C, Kraja A, Smith J, Brody J, Franceschini N, Bis J, et al. Meta-analysis identifies common and rare variants influencing blood pressure and overlapping with metabolic trait loci. Nat Genet. 2016;48(10):1162-70. doi: 10.1038/ng.3660. Epub 2016 Sep 1.
24. Ailanen L, Ruohonen ST, Vähätalo LH, Tuomainen K, Eerola K, Salomäki-Myftari H, et al. The metabolic syndrome in mice overexpressing neuropeptide Y in noradrenergic neurons. Journal of Endocrinology. 2017;234(1):57-72.
25. Wang Q, Jiang Y, Luo X, Wang C, Wang N, He H, et al. Chitooligosaccharides modulate glucose-lipid metabolism by suppressing SMYD3 pathways and regulating gut microflora. Marine Drugs. 2020;18(1):69. doi: 10.3390/md18010069.
26. Sullivan EA, Dickinson JE, Vaughan GA, Peek MJ, Ellwood D, Homer C. et al. Maternal super-obesity and perinatal outcomes in Australia: a national population-based cohort study. BMC Pregnancy Childbirth. 2015;15(1):322. doi: 10.1186/s12884-015-0693-y
27. Ambele MA, Dessels C, Durandt C, Pepper MS. Genome-wide analysis of gene expression during adipogenesis in human adipose-derived stromal cells reveals

- novel patterns of gene expression during adipocyte differentiation. *Stem Cell Research*. 2016;16(3):725-34.
28. Hales CN, Barker DJP. The thrifty phenotype hypothesis. *British Medical Bulletin*. 2001;60(1):5-20.
  29. Cheng Y-S, Seibert O, Klötting N, Dietrich A, Straßburger K, Fernández-Veledo S, et al. PPP2R5C couples hepatic glucose and lipid homeostasis. Xu A, editor. *PLoS Genet*. 2015;11(10):e1005561.
  30. Barberio MD, Nadler EP, Sevilla S, Lu R, Harmon B, Hubal MJ. Comparison of visceral adipose tissue DNA methylation and gene expression profiles in female adolescents with obesity. *Diabetol Metab Syndr*. 2019;11(1):98. DOI: 10.1186/s13098-019-0494-y
  31. Kühnen P, Handke D, Waterland RA, Hennig BJ, Silver M, Fulford AJ, et al. Interindividual variation in DNA methylation at a putative POMC metastable epiallele is associated with obesity. *Cell Metabolism*. 2016;24(3):502-9.
  32. Fradin D, Boëlle P-Y, Belot M-P, Lachaux F, Tost J, Besse C, et al. Genome-wide methylation analysis identifies specific epigenetic marks in severely obese children. *Sci Rep*. 2017;7(1):46311. doi: 10.1038/srep46311 .
  33. McMorrow AM, Connaughton RM, Magalhães TR, McGillicuddy FC, Hughes MF, Cheishvili D, et al. Personalized cardio-metabolic responses to an anti-inflammatory nutrition intervention in obese adolescents: a randomized controlled crossover trial. *Mol Nutr Food Res*. 2018;62(10):1701008. doi: 10.1002/mnfr.201701008
  34. Kwon EJ, Lee HA, You Y-A, Yoo JY, Park H, Park EA, et al. MC4R and HNF4 $\alpha$  promoter methylation at birth contribute to triglyceride levels in childhood: a prospective cohort study. *Medicine*. 2019;98(28):e16424.
  35. Pauwels S, Symons L, Vanautgaerden E-L, Ghosh M, Duca RC, Bekaert B, et al. The influence of the duration of breastfeeding on the Infant's metabolic epigenome. *Nutrients*. 2019;11(6). 1408; <https://doi.org/10.3390/nu11061408>.
  36. Kochmanski J, Goodrich JM, Peterson KE, Lumeng JC, Dolinoy DC. Neonatal bloodspot DNA methylation patterns are associated with childhood weight status in the Healthy Families Project. *Pediatr Res*. 2019;85(6):848-55.

**Tabla 1.** Características sociodemográficas de niños obesos según morbilidad antenatal, peso al nacer, edad materna al parto y edad gestacional

Categoría		Obesos (n=20)			
		BPN (n=10)		No BPN (n= 10)	
		n	%	n	%
<b>Género</b>					
	Masculino	2	5,4%	6	16,21%
	Femenino	8	21,62%	4	10,81%
<b>Diabetes gestacional</b>					
		1	2,7%	1	2,7%
<b>Hipertensión gestacional</b>					
		2	5,4%	0	0%
<b>Hemorragia gestacional</b>					
		3	8,11%	0	0%
<b>Peso neonatal</b>					
	< 1000 g	0	0%	0	0%
	1000 - 1499 g	0	0%	0	0%
	1500 - 2499 g	8	21,62%	0	0%
	2500 - 3799 g	2	5,4%	9	24,32%
	≥ 3800 g	0	0%	1	2,7%
<b>Edad materna al parto</b>					
	< 18 años	0	0%	0	0%
	18 a 34 años	7	18,92%	9	24,32%
	≥ 35 años	3	8,11%	1	2,70%
<b>Edad gestacional</b>					
	< 30 semanas	0	0%	0	0%
	30 < 37 semanas	6	16,2%	1	3,7%
	37 – 41 semanas	4	10,8%	9	24,3%
	> 41 semanas	0	0%	0	0%

BPN: nacido con bajo peso.

**Tabla 4.** Relación entre el cambio IMC y la metilación del ADN en estudios EWAS.

Gen	Nombre	Muestra	Metilación del ADN	Estudio	n	Caracterización	Estudio
<i>HIF3A</i>	Gen de la subunidad alfa del factor 3 inducible por hipoxia	Leucocitos de sangre periférica	Hipermetilación del gen	Casos y controles	220	Cambio del IMC	Wang et al. <sup>19</sup>
<i>POMC</i>	Gen de la proopiomelanocortina	Sangre venosa	Nivel de metilación del gen	Casos	66	Cambio del peso materno gestacional	Kuhnen et al. <sup>31</sup>
<i>IRS1</i>	Gen del sustrato del receptor de la insulina 1	Células sanguíneas	Metilación diferencial en sitios específicos	Casos y controles	40	Niños severamente obesos	Fradin et al. <sup>32</sup>
<i>SNED1 (IRE-BP1) y 9 mas</i>	Gen para dominios similares a sushi, nidogen y EGF o gen de la secuencia de respuesta 1 a la insulina en unión al ADN	Células sanguíneas	Metilación diferencial según el gen analizado	Casos	374	Cambio del IMC	Rzehk P. et al. <sup>18</sup>
<i>ADIPOQ</i>	Gen de la adiponectina	Células mononucleares de sangre periférica	Cambios del patrón de metilación del gen	Casos y controles	70	Tratamiento de obesos con resistencia a la insulina	McMorrow et al. <sup>33</sup>
<i>MC4R</i>	Gen del receptor 4 de melanocortina	Células del cordón umbilical	Hipometilación de su promotor	Casos y controles	90	Elevación de triglicéridos en la infancia	Kwon et al. <sup>34</sup>
<i>LEP</i>	Gen de la leptina	Células de mucosa oral durante la lactancia materna	Hipermetilación del gen	Casos y controles	101	Menor adiposidad a los 12 meses de vida	Pauwels et al. <sup>35</sup>
		Células sanguíneas	Hipermetilación del gen	Casos	65	Modificación del peso en la infancia	Kochmanski J. et al. <sup>36</sup>
<i>ESR1</i>	Gen del receptor de estrógenos alfa (factor de transcripción activado por ligando)	Células sanguíneas	Hipometilación del gen	Casos	65	Modificación del peso en la infancia	Kochmanski J. et al. <sup>36</sup>
<i>SIM1 (bHLHe14) y 14 mas</i>	Gen para el factor de transcripción 1 de la familia bHLH, relacionado con Prader Willi	Células sanguíneas	Hipermetilación en sitios específicos	Casos	391	Según estado del IMC	He F. et al. <sup>16</sup>

## Discusión General

La obesidad pediátrica es un desorden inflamatorio crónico multifactorial que se comporta como enfermedad primaria y como factor de riesgo, derivada de la expansión exagerada del tejido blanco adiposo, secundaria a interacciones entre factores ambientales y susceptibilidad genética, relacionada con pérdida del estado de salud (1-3). En su origen, son determinantes los factores ambientales influenciados por la cultura, la economía, el entorno familiar y el ambiente intrauterino. Su persistencia hasta la adolescencia se relaciona con alta probabilidad de generar adultos obesos por lo que el incremento acelerado de peso durante la infancia precisa medidas inmediatas de promoción y prevención para su control.

La obesidad y el bajo peso al nacer (BPN) se relacionan fisiopatológicamente a través de condiciones de programación fetal; la programación fetal diseña los mecanismos que soportan las reglas metabólicas para la vida extrauterina según haya sido su curso involucrando la morbilidad materna, la función placentaria y las condiciones sociales durante la gestación; estos determinantes participan en el desarrollo de las enfermedades empleando mecanismos epigenéticos o puentes entre el medio ambiente y la expresión de los genes, adecuadamente demostrados por el concepto del origen de la salud y la enfermedad en el curso de la vida (DOHaD) (1, 4); en materia de obesidad, este concepto considera que la nutrición durante la gestación es factor influyente de la programación epigenética facilitando el desarrollo de complicaciones metabólicas tardías a través de cambios de metilación del ADN individualmente dependientes del evento desencadenante (1, 5).

Si bien desde el punto de vista prenatal el desarrollo de obesidad se relaciona con el peso al nacer, en las variables aquí evaluadas para población nacida de bajo peso no se encontró un grupo de ellas determinantes o específicas; tampoco se encontró relación con la edad materna avanzada, frecuentemente reconocida como de máxima importancia; pocos niños de este grupo desarrollaron criterios de síndrome metabólico pediátrico (SMP) al compararlos con obesos nacidos de peso normal, estos últimos con mayor incremento del índice de masa corporal (IMC) ( $p < 0,05$ ), del perímetro de la cintura (PC) ( $p < 0,05$ ), del colesterol ligado a proteínas de alta densidad ( $p < 0,05$ ) y de los triglicéridos ( $p < 0,05$ ), a relacionar con influencias sociales, nutricionales, educativas y familiares. Ningún obeso desarrolló diabetes tipo 2 (DM<sub>2</sub>).

A partir de los 5 años de edad la obesidad se determina por el valor del IMC; su exagerado incremento durante períodos críticos del desarrollo posnatal modifica el riesgo de presentar enfermedades complejas empleando mecanismos epigenéticos; en este sentido, la principal marca epigenética analizada fue la metilación del ADN que mayoritariamente se encontró en el cuerpo de los genes con interpretación incierta como lo sugiere la literatura; nuestros resultados precisan que en la relación medioambiente-obesidad hay cambios del patrón de metilación en genes de la familia periodo del ciclo circadiano; al respecto, si bien los dos sitios CpG encontrados para *PER3* no se correspondieron con lo publicado (2017) (6), se ratifica como fundamental en la comparación de obesos contra sanos como reflejo de modificaciones a los estilos de vida. Nuestros resultados no coinciden con los de otros autores como Samblas et al, (6) que reportan diferencias altamente significativas en la metilación de los genes *PER3* y *PTPRS* quizá porque nuestra población de estudio no es caucásica sino correspondiente con población mestiza con demostrada participación de europeos (74,6%), asiáticos (indígenas precolombinos) (18,1%) y africanos (7,3%) (7, 8)

Desde el 2014 el estudio de las características epigenéticas asociadas a obesidad y a otras enfermedades se puede realizar analizando la metilación global de todo el genoma ("*epigenome-wide association studies*", EWAS), modelo aplicado en esta tesis doctoral para evaluar más de 850.000 sitios CpG. La metilación del ADN es una herramienta exploratoria en la relación salud-enfermedad buscando interpretación adicional a la expresión de los genes; este modelo de análisis determinó que 41 posiciones de metilación variable del ADN están relacionadas con el desarrollo de obesidad en niños colombianos.

Nuestros resultados se ajustan al concepto de que un gen no puede ser candidato individual durante el desarrollo de obesidad con excepción de los ya reportados para enfermedades de impronta, para algunos síndromes con BPN y obesidad tardía como Silver Russell y los ya reconocidos con cambios de metilación en genes de las vías de regulación del apetito (*POMC*) o protagónicos de adipogénesis exagerada (*LEP*). En nuestro caso el avance con el uso de EWAS determinó nuevas marcas epigenéticas a integrar al mapa del epigenoma humano; al respecto, este mapa en niños se construye con muestras de sangre periférica, células del cordón umbilical y saliva, en tanto que en adultos se emplea músculo, corazón, piel, hígado, leucocitos, placenta y espermatozoides (9). Esta tesis doctoral utilizó leucocitos de sangre periférica.

En nuestro grupo de obesos nacidos con peso adecuado existen condiciones medioambientales extrauterinas adversas que permiten desarrollo de componentes del SMP; si bien su análisis no se consideró como objetivo de tesis doctoral, el cambio acelerado del IMC fue el factor de riesgo anticipado determinante, específicamente si se relaciona con incremento del PC y con alteración de los lípidos y la glucemia; en obesos con BPN nuestros resultados se deben correlacionar con enfermedad metabólica asintomática donde la inflamación sistémica, el desorden endotelial y la temprana resistencia a la insulina (RI) son las variables a calificar.

Al profundizar en la búsqueda de marcas epigenéticas durante el desarrollo de obesidad infantil, nuestros resultados señalan metilación diferencial del ADN en 11 genes; estos genes participan en mecanismos de inflamación sistémica, RI, hígado graso no alcohólico (HGNA) e incremento de la masa hepática, observaciones ligadas a epigenética no reportadas en niños obesos colombianos. Estas comorbilidades son inherentes a la expansión mórbida de la grasa (10,11). Los obesos con BPN además de menor progresión del IMC al ser comparados con obesos nacidos de peso normal, tienen cambios de metilación relacionados con proliferación de adipocitos, inflamación sistémica y disfunción endotelial (12-14); los sitios de interés para estos fueron cg14007688 (*DBH*, hipometilado), cg04798314 (*SMYD3*, hipermetilado), cg19169023 (*TYRO3*, hipermetilado) y cg03730546 (*ZNF117*, hipermetilado).

La proteína *TYRO3* hace parte de los receptores transmembrana de tirosina kinasa con funciones en inmunidad, supervivencia celular, integridad de endotelios e inflamación; su receptor se activa por dimerización a partir de factores de origen endotelial (entre otros). Adicionalmente, *SMYD3* codifica una metiltransferasa con funciones sobre la supervivencia celular y con papel epigenético desde la embriogénesis modulando genes de la fisiología vascular y *ZNF117* (cg03730546) se relaciona con el desarrollo adipogénico tardío, normalmente inactivado epigenéticamente.

La hipometilación encontrada para *PTPRS* (cg23022034) entre niños que desarrollan obesidad vs sanos se debe correlacionar con la susceptibilidad anticipada a DM<sub>2</sub> ya reportada en adultos. *PTPRS* codifica la proteína sigma del receptor de membrana celular de la familia proteína-tirosín-fosfatasa, relacionada con el crecimiento de las neuronas y el desarrollo cerebral. Estas y otras asociaciones se deben revisar con muestras más amplias, mayor número de variables y considerando características clínicas que acompañen el cambio del IMC.

Nuestros resultados reconocen desarrollo de obesidad desde la primera infancia aún sin haber evaluado las cifras de ganancia compensadora de peso durante los primeros 4 años de vida, situación comúnmente determinante en BPN. Una vez analizados 865.561 sitios CpG con posiciones de metilación variable del ADN, el grupo de mayor incremento del índice de masa corporal señala alteración del metiloma en cg02037122 (*ARHGAP17*, hipometilado), cg11201297 (*SETBP1*, hipermetilado), cg23439621 (*PPP2R5C*, hipometilado), cg25879395 (*SPG21*, hipermetilado) y cg17669433 (*MTF2*, hipermetilado).

El gen *MTF2*, codifica una proteína del grupo Polycomb represiva de la expresión génica, relacionada con lipotoxicidad inducida por ácidos grasos y desarrollo de HGNA; a esta última complicación se suma la proteína maspardina codificada por *SPG21* sugiriendo que la hipermetilación en el cuerpo de estos dos genes se comporta como agregado epigenético posnatal derivado de los estilos de vida (dieta). Por otro lado, la hipometilación de *ARHGAP17* permite menor capacidad de reclutar receptores GLUT4 dejando latente un estado hiperglucémico preprandial, situación a su vez relacionable con la metilación de *SETBP1* (hipermetilado), dependiente del cambio del incremento del IMC. *SETBP1* codifica una proteína relacionada con un complejo epigenético facilitador de acceso al ADN en la transcripción. Como se advierte, el desarrollo HGNA aunado al deterioro del equilibrio glucosado secundario al incremento del IMC y al avance del PC, señalan complicaciones anticipadas del tipo DM<sub>2</sub>; a este curso se sumaría la metilación de *PPP2R5C* (hipometilado), de mayor expresión si se incrementa el PC, perdiendo parte de su actividad regulatoria encargada de armonizar la glicemia y los triglicéridos postprandiales. *PPP2R5C* codifica una enzima reguladora del control metabólico post ingesta.

Para aumentar la capacidad predictiva en la construcción de un modelo de obesidad infantil se debe profundizar en características medioambientales que determinen el incremento del IMC posnatal considerando un mayor número de variables de la vida prenatal (estado marital, ingresos económicos, cambio de peso en las madres antes o durante la gestación, etc.); en todos los casos también incluir observaciones del comportamiento de la retoma de peso posnatal y la correlación fenotipo-genotipo; nuestros resultados aportan a esta construcción con los valores de p inferiores a 0,05 derivados del análisis sociodemográfico y clínico junto a los incluidos en el modelo predictivo intrínseco (sugerido) derivado de los recursos estadísticos de la plataforma *R* y *RStudio*.

## Conclusiones

Esta tesis doctoral encuentra que el desarrollo de obesidad en niños resulta altamente dependiente de errores en las relaciones del individuo con su entorno; como desorden multifactorial con características de cronicidad y de recurrencia, es nosología de difícil control especialmente si no se intervienen factores desencadenantes ligados a procesos culturales, económicos y de la vida intrauterina.

Nuestros resultados son concordantes con este macro modelo aportando evidencia etiológica en lo sociodemográfico y en lo epigenético; su característica inflamatoria subyacente y su reversibilidad permiten un intervalo de acción para proponer medidas de intervención tanto prenatales como posnatales y modular efectos sobre el individuo susceptible. Esta tesis doctoral asume como susceptible a todo niño que durante la infancia y adolescencia desarrolla incontrolado avance del índice de masa corporal independiente del peso al nacer.

Nuestros resultados también señalan dos características durante el desarrollo de obesidad infantil; en primer lugar y como un efecto a largo plazo de las condiciones prenatales hay genes ancestrales probablemente ahorradores y en su mayoría ignotos con capacidad de determinar la salud o la enfermedad posnatal; en segundo lugar y como efecto nocivo de un modelo social contemporáneo (ambiental), otro grupo de genes tienen implicaciones inmediatas especialmente frente al cambio de la composición corporal y el deterioro de la tolerancia a la glucosa. En ambos, la metilación del ADN se analizó empleando una plataforma de última generación y reconociendo posiciones variables de metilación relacionadas con antecedentes clínicos ajustados a características sociodemográficas de los individuos.

Nuestros resultados muestran una metilación diferencial en once genes que no han sido asociados a obesidad pediátrica, realizando una importante contribución al mapa epigenético de la obesidad en los niños. Se ratifica en su origen una alta influencia ambiental con morbilidad anticipada, se pone en consideración el protagonismo del entorno social y ambiental como base del metiloma de la obesidad infantil en una muestra de niños colombianos y, dadas las características complejas para analizar el entorno, se introdujeron como modelos referentes la exploración de un gen del ciclo circadiano y de uno de la familia de los receptores de proteína tirosín fosfatasa.

Esta tesis reconoce en el ciclo circadiano un modelo ambiental milenario (arcaico) que establece condiciones para cada 24 horas al exponernos a la luz diurna; nuestros resultados encuentran cambio en el patrón de metilación en una región del cuerpo del gen *PER3* y de una de sus islas al comparar los niños obesos con los sanos; este patrón diferencial señala la relación inmediata entre el humano y las rutinas de alimentación demostrando actividad diaria de reescritura del epigenoma. De otro lado, analizando la metilación sobre el gen del receptor sigma de la proteína tirosín fosfatasa, se propone información novedosa por su reciente asociación con la susceptibilidad para el desarrollo de diabetes tipo 2.

Esta tesis avanzó en la valoración de algunas características sociodemográficas de la población y determina que entre otras, el incremento del peso reflejado como cambio en el índice de masa corporal, especialmente si adopta un modelo progresivo y acelerado, es el componente clínico de mayor impacto integrado a los estilos de vida. No se duda que la creciente urbanización y las nuevas dinámicas de los entornos culturales y familiares transmitieron información al susceptible seleccionándolo para el desarrollo de obesidad a partir de dos escenarios: la vida intrauterina y el medio ambiente posnatal.

En el primer escenario reconocemos que los lineamientos de una programación de ejes endocrinos y metabólicos son ciertos cuando se enfrenta un ambiente prenatal adverso, planteamiento desarrollado desde 1992 y consolidado con la teoría del desarrollo de la salud y la enfermedad en el curso de la vida (DOHaD). Al respecto, identificamos 4 genes, tres de ellos hipermetilados en su cuerpo, todos con señalización a favor de enfermedad endotelial pediátrica silenciosa con características de inflamación crónica, fundamentada en la opción de reescritura del epigenoma. El segundo escenario se demuestra con los cambios de metilación en 5 genes, en donde proponemos una acción epigenética de borrado y reescritura, incluyendo en ello una isla CpG; sus consecuencias parecen ser esencialmente catastróficas por su amplia relación con el desarrollo de hígado graso no alcohólico, resistencia a la insulina, incremento del perímetro de cintura y diabetes tipo 2.

Esta tesis considera que exploró algunas características de morbilidad antenatal (gestacional) y su relación con el desenlace obesogénico, y si bien ningún factor individual analizado demostró relación directa, todos contribuyen a un producto con bajo peso al nacer y optan por asumirlo como un conjunto que refleja el ambiente prenatal adverso; si bien el cambio de la composición corporal incluyendo el perímetro de la cintura aunado al deterioro metabólico en algunos parámetros de la química analítica resultaron en mayor compromiso en obesos nacidos con peso

normal, aquellos tienen un proceso silente de deterioro si se habla de enfermedad a largo plazo (por el momento asintomática).

Esta tesis doctoral sugiere la elaboración y adopción de un modelo global de promoción y prevención para el control de la obesidad, en donde la familia, vista en un contexto social y cultural, sea el punto de partida; esto implica el desarrollo de políticas de salud para la gestante y los niños en donde se vigile la restauración idónea del peso antenatal y postnatal dado el permanente avance de su prevalencia y su relación con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles.

El peso al nacer y el incremento acelerado del índice de masa corporal son variables de impacto en la evolución de la obesidad infantil en menores de 18 años, ambas estrechamente relacionadas con el medio ambiente. Frente al incremento anormal del índice de masa corporal se deben verificar indicadores de enfermedad metabólica anticipada a relacionar con los cambios de metilación del ADN.

Desde la perspectiva epigenética, en obesos nacidos con peso adecuado, hay genes influenciados por el ambiente extrauterino y, en los nacidos con bajo peso hay metilación diferencial de genes constitutivos de rutas metabólicas; estas observaciones contribuyen a la elaboración de un modelo predictivo de obesidad infantil que se debe complementar con seguimiento a otros riesgos obesogénicos pre y posnatales, mayor número de características sociodemográficas gestacionales y correlación genotipo-fenotipo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bianco-Miotto T, Craig JM, Gasser YP, van Dijk SJ, Ozanne SE. Epigenetics and DOHaD: from basics to birth and beyond. *J Dev Orig Health Dis.* 2017;8(5):513-9.
2. Lavebratt C, Almgren M, Ekström TJ. Epigenetic regulation in obesity. *Int J Obes.* 2012;36(6):757-65.
3. He F, Berg A, Imamura Kawasawa Y, Bixler EO, Fernandez-Mendoza J, Whitsel EA, et al. Association between DNA methylation in obesity-related genes and body mass index percentile in adolescents. *Sci Rep.* diciembre de 2019;9(1):2079. Published online 2019 Feb 14. doi: 10.1038/s41598-019-38587-7.
4. Grey K, Gonzales GB, Abera M, Lelijveld N, Thompson D, Berhane M, et al. Severe malnutrition or famine exposure in childhood and cardiometabolic non-

- communicable disease later in life: a systematic review. *BMJ Glob Health*. marzo de 2021;6(3):e003161.
5. Concepto de Developmental Origins of Health and Disease: El ambiente en los primeros mil días de vida y su asociación con las enfermedades no transmisibles. *Arch Argent Pediat* [Internet]. 1 de agosto de 2020 [citado 20 de septiembre de 2021];118(4). Disponible en: <https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2020/v118n4a27s.pdf>
  6. Bedoya G, Montoya P, García G, Soto I, Bourgeois S, Carvajal L, et al. Admixture dynamics in hispanic: a shift in the nuclear genetic ancestry of a south american population isolate. *PNAS*. 2006; 103(19): 7234-39.
  7. Gómez-Lopera N, Alfaro JM, Leal S, Pineda-Trujillo N. Type 1 diabetes loci display variety of native American and African ancestries in diseased individuals from northwest Colombia. *World J Diabetes*. 2019;15(10)11:534-545
  8. Samblas M, Milagro FI, Mansego ML, Marti A, Martinez JA, GENOI members. *PTPRS* and *PER3* methylation levels are associated with childhood obesity: results from a genome-wide methylation analysis: *PTPRS* and *PER3* methylation in childhood obesity. *Pediatric Obesity*. 2018;13(3):149-58.
  9. Eckhardt F, Beck S, Gut IG, Berlin K. Future potential of the Human Epigenome Project. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2004;4(5):609-18.
  10. Wang J, Zhang H, Rezwan FI, Relton C, Arshad SH, Holloway JW. Pre-adolescence DNA methylation is associated with BMI status change from pre- to post-adolescence. *Clin Epigenet*. 2021;13(1):64. Publisher online 2021 Mar 25. doi: 10.1186/s13148-021-01042-4.
  11. Diaz B, Fuentes-Mera L, Tovar A, Montiel T, Massieu L, Martínez-Rodríguez HG, et al. Saturated lipids decrease mitofusin 2 leading to endoplasmic reticulum stress activation and insulin resistance in hypothalamic cells. *Brain Research*. 2015;1627:80-9.
  12. Wu K-S, Hung Y-J, Lee C-H, Hsiao F-C, Hsieh P-S. The involment of GAS6 signaling in the development of obesity and associated inflammation. *International Journal of Endocrinology*. 2015;202513:1-7. Hindawi Publishing Corporation. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/202513>
  13. Li Y-H, Lu C-H, Lin F-H, Su S-C, Liu J-S, Hsieh C-H, et al. Plasma growth arrest-specific 6 protein and genetic variations in the *GAS6* gene in patients with metabolic syndrome. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*. 2019;17(1):22-8.
  14. Scroyen I, Frederix L, Lijnen HR. Axl deficiency does not affect adipogenesis or adipose tissue development. *Obesity*. 2012;20(6):1168-73.

## **PERSPECTIVAS**

La obesidad es una enfermedad de contrastes que moviliza las fuerzas sociales, económicas y políticas de las naciones. Es una enfermedad con mayor impacto en las economías industrializadas aunque potencialmente afecta a todos los individuos.

Colombia tiene desde el 2009 la ley 1355 o “Ley de obesidad” la misma que en su parte sustantiva establece que “el estado se compromete a través de sus diferentes ministerios a promover políticas de seguridad alimentaria y nutricional, así como de actividad física dirigidas a favorecer ambientes saludables y seguros para el desarrollo de las mismas. Estas políticas se complementarían con estrategias de comunicación, educación e información”.

Si bien las perspectivas a corto plazo de los resultados de esta tesis doctoral se relacionan con el arte de comunicar e informar, se deben integrar al campo educativo dado que demuestran que el deterioro clínico del padecimiento en los niños hace parte de la dialéctica milenaria del proceso salud-enfermedad en donde el ambiente determina el epigenotipo. A largo plazo estos resultados van dirigidos al deber de seleccionar mejores ambientes nutricionales para la población materna e infantil.

El paso siguiente es la construcción para Colombia de la correlación genotipo–fenotipo en obesidad dada la diversidad étnica a la que pertenecemos.

Juan Manuel Alfaro Velásquez, M.D.

# Indicadores de producción unidas a ejecución de la tesis doctoral.

## 1. Artículo original publicado



infectio

ARTÍCULO ORIGINAL

## Uso temprano de antibióticos en la infancia y obesidad pediátrica: revisión sistemática de la literatura

Laura Janemillo-Espinosa<sup>1</sup>, Eiza María Vasquez-Trespalacios<sup>2\*</sup>, Juan Manuel Alfaro-Velloso<sup>3</sup>

### Resumen

**Introducción:** La prevalencia de obesidad en el mundo es creciente y específicamente la obesidad en niños se ha convertido en un problema de salud pública que preocupa a varios países. La evidencia ha señalado al uso de antibióticos en la infancia como un factor relacionado con la presencia de obesidad infantil.

**Objetivo:** Analizar sistemáticamente la evidencia reciente acerca de la relación entre el uso temprano de antibióticos en la infancia y la presencia de obesidad infantil.

**Método:** Se realizó una búsqueda bibliográfica en las bases de PubMed, Cochrane, EMBASE, LILACS, IRIS y SCOPUS de estudios observacionales en los últimos diez años que abordaran la relación entre el uso de antibióticos antes de los 24 meses de edad y la obesidad infantil.

**Resultados:** Luego de realizar el tamizaje de los artículos, se seleccionaron 9 para la síntesis cualitativa. Con dos excepciones, los estudios analizados muestran una relación estadísticamente significativa entre el uso temprano de antibióticos y la obesidad o sobrepeso infantil, medido como peso para la edad o mediante el índice de masa corporal y aun con el ajuste por las potenciales variables de confusión, esta asociación permanece siendo estadísticamente significativa, debido a algunos de los diseños epidemiológicos, no se puede verificar la relación de precedencia temporal de la exposición.

**Palabras clave:** antibióticos, sobrepeso, obesidad pediátrica, factores de riesgo, índice de masa corporal

### Early use of antibiotics in infancy and pediatric obesity: a systematic review of the literature

#### Abstract

**Introduction:** Prevalence of obesity in the world is increasing and specifically obesity in children has become a public health problem concerning several countries. Evidence has pointed to the use of antibiotics in childhood as a factor related to the presence of childhood obesity.

**Objective:** To analyze evidence about the relationship between the early use of antibiotics in childhood and childhood obesity.

**Methods:** A literature search was carried out in scientific databases, such as PubMed, Cochrane, EMBASE, LILACS, IRIS and SCOPUS of observational studies published in the last ten years, according to the relationship between the use of antibiotics before 24 months of age and pediatric obesity.

**Results:** Nine of the articles were selected for the qualitative synthesis. With two exceptions, the analyzed studies show a statistically significant relationship between the early use of antibiotics and childhood obesity or overweight, measured as weight for age or through the body mass index and even with the adjustment for potential confounding variables, this association remains statistically significant, due to some of the epidemiological designs, the relationship of temporal antecedence of the exposure can not be verified.

**Key words:** antibiotics, childhood obesity, overweight, risk factor, body mass index

#### Introducción

El interés mundial sobre el estudio de la obesidad infantil como problema de salud pública es un hecho creciente. En Estados Unidos, uno de cada tres niños es clasificado con sobrepeso u obesidad<sup>1</sup> y una tendencia similar se observa para otras regiones del mundo<sup>2-4</sup>. En Latinoamérica, la frecuencia de sobrepeso y obesidad está en aumento<sup>5</sup>; aproximadamente 42.5 millones de niños latinoamericanos tienen sobrepeso u obesidad<sup>6</sup>.

Su prevalencia aumenta proporcionalmente con la edad: 22,6% de niños entre 2-5 años, 34,2% en aquellos entre 6-11 años y 34,5% en adolescentes tienen sobrepeso y el 8,4% de niños entre 2-5 años, 17,7% de niños entre 6-11 años y 20,5% de adolescentes son obesos<sup>7</sup>. Esta prevalencia es modificada por factores raciales y socioeconómicos<sup>8-10</sup>.

También se ha observado el aumento de todas las comorbilidades asociadas a la obesidad, como diabetes mellitus tipo

<sup>1</sup> Médica. Facultad de Medicina, Universidad CES. Grupo de Investigación Observatorio de la Salud Pública

<sup>2</sup> Epidemiología. Facultad de Medicina, Universidad CES. División de Programas Clínicos. Grupo de Investigación Observatorio de la Salud Pública

<sup>3</sup> Neofarmacólogo pediátrico. Clínica CES, Unidad de Neofarmacología pediátrica. Doctorado en Ciencias de la Salud, Universidad CES

\* Autor para correspondencia.  
Correo electrónico: [mvazquez@ces.edu.co](mailto:mvazquez@ces.edu.co)

Recibido: 09/06/2019; Aceptado: 24/06/2019

Cómo citar este artículo: L. Janemillo-Espinosa et al. Uso temprano de antibióticos en la infancia y obesidad pediátrica: revisión sistemática de la literatura. *Infectio* 2019; 23(3): 357-361.

## 2. Artículo (Review) en prueba de galera

# RAEM

REVISTA ARGENTINA DE  
ENDOCRINOLOGÍA Y METABOLISMO

Revisión



## Metilación del ADN, sobrepeso-obesidad y genes del ciclo circadiano

ALFARO VELÁSQUEZ JM<sup>1\*</sup>, JARAMILLO ESPINOSA LM<sup>2</sup>, VÁSQUEZ TRESPALACIOS EM<sup>3</sup>, URREGO R<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Ciencias Básicas. Escuela de Graduados. Universidad CES. Medellín, Colombia.

<sup>2</sup>Facultad de Medicina, Universidad CES. División de posgrados clínicos. Grupo de investigación Observatorio de la Salud Pública. Medellín, Colombia. <sup>3</sup>Grupo INCA-CES. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Medellín, Colombia.

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido: 14 de mayo de 2021

Revisión: 10 de junio de 2021

Aceptado: 15 de junio de 2021

Palabras clave:

Metilación del ADN  
ritmo circadiano  
obesidad pediátrica  
sueño-vigilia

Keywords:

DNA methylation  
circadian rhythm  
programming  
pediatric obesity  
sleep-wake

### RESUMEN

El sobrepeso-obesidad es una enfermedad crónica no transmisible de origen multifactorial, con determinantes desde la vida fetal, dependiente de epigenética-medioambiente y con influencia sobre la metilación del ADN. Interferencias postnatales de ritmos biológicos sincronizados con el cosmos (Zeitgeber) se asocian con obesidad y con genes del ciclo circadiano. En mamíferos estos dependen de un sustrato biológico en el hipotálamo para la programación cotidiana en los tejidos. Introducir y conservar cambios que interfieran los hábitos luz-oscuridad, sueño-vigilia y horarios de alimentación-ayuno alteran secuencias "programables" del día a día generando patrones diferenciales de metilación de estos genes. El objetivo de esta revisión es analizar la relación entre metilación del ADN-obesidad-medio ambiente y su impacto en genes del ciclo-circadiano. Nuevos enfoques son necesarios para el entendimiento de esta enfermedad y así poder prevenirla.

### ABSTRACT

Overweight-obesity is a chronic non-communicable disease of multifactorial origin with determinants from fetal life, dependant on epigenetics-environment and with influence on DNA methylation. Postnatal interferences of biological rhythms synchronized with the cosmos (Zeitgeber) are associated with obesity and genes of the circadian cycle. In mammals these depend on a biological pacemaker in the hypothalamus for everyday programming in the tissues. Introducing and preserving changes that interfere with habits such as light-dark, sleep-wake, and eating-fasting schedules alter "programmable" sequences from day to day, generating differential patterns of methylation of these genes. The objective of this review is to analyze the relationship between DNA methylation-obesity-environment and its impact on genes of the circadian cycle. New approaches are necessary to understand this disease and thus be able to prevent it.

\*Autor para correspondencia: alfaro.juan@uces.edu.co - alfarojm@yahoo.com

### 3. Artículo original sometido a Acta Pediátrica de México.



● **Cinthya Tapia Ponce** <editor@actapediatrica.org.mx>

To: Juan Manuel Alfaro Velásquez

Juan Manuel Alfaro Velásquez:

Gracias por enviar el manuscrito "Peso al nacer y comportamiento del índice de masa corporal entre los 4 y 17 años. Artículo original." a Acta Pediátrica de México. Con nuestro sistema de gestión de revistas en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial.

URL del manuscrito:

<https://ojs.actapediatrica.org.mx/index.php/APM/author/submission/2356>

Nombre de usuario/a: 71596808

En caso de dudas, contacte conmigo. Gracias por elegir esta revista para publicar su trabajo.

Cinthya Tapia Ponce

Acta Pediátrica de México

Psic. Cinthya Tapia Ponce - Editora Ejecutiva - Acta Pediátrica de México



● **Acta Pediátrica de México** <actapediatricademexico@yahoo.com.mx>

To: Juan Manuel Alfaro



Mon, Nov 8 at 12:10 AM



Estimado Dr. Alfaro:

Le informo que recibí su versión corregida, en cuanto tenga noticias de la Re-revisión de primer filtro por parte del Corrector y del Encargado de sección de artículos originales para ver si ya me aprueban someterlo a revisión de los especialistas, me pondré en contacto con usted.

Reciba un saludo cordial.

**Psic. Cinthya Tapia Ponce**  
**Editora Ejecutiva**  
**Revista Acta Pediátrica de México**  
**Instituto Nacional de Pediatría**

Insurgentes Sur 3700-C. Col. Insurgentes Cuicuilco. Deleg. Coyoacán. c.p. 04530. Tel. 91506229, con. 10-84-09-00 ext. 1112



Instituto  
Nacional  
de Pediatría

INICIO ACERCA DE ÁREA PERSONAL BUSCAR ACTUAL ARCHIVOS ESTADÍSTICAS ENVÍO DE MANUSCRITOS

Inicio > Usuario/a > Autor/a > **Envíos activos**

**Envíos activos**

> ACTIVO/A > ARCHIVAR

ID.	DD-MM ENVIAR	SECC	AUTORES/AS	TÍTULO	ESTADO
2356	08-05	AORI	Alfaro Velásquez, Urrego Alvarez,...	PESO AL NACER Y COMPORTAMIENTO DEL ÍNDICE DE MASA...	EN REVISIÓN

Español | Inglés

Usuario/a

Ha iniciado sesión como...

**71596808**

> Mi perfil

> Cerrar sesión

4. Ponencia nacional. Medellín abril de 2018.

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA  
Facultad de Medicina

**NUESTRO SEGUNDO GENOMA**

Juan Manuel Alfaro Velásquez  
Docente Universidad de Antioquia  
Docente Universidad CES  
Alumno de Doctorado en Ciencias de la Salud.  
Escuela de Graduados. Universidad CES

2

5. Ponencia nacional. Medellín, septiembre de 2019.

La Sociedad Colombiana de Ortopedia Infantil  
**SOCOIN**  
lo invita al webinar:

**Niño obeso y la ortopedia**

Conferencista:  
Dr. Juan Manuel Alfaro  
Endocrinólogo Infantil

Miércoles 25 de Septiembre, 2019 7:30 pm Hora Colombia  
Lugar: Instalaciones de la SCCOT Calle 134 # 7b - 83 Ofi. 201

Patrocina: **SUPLEMEDICOS**

Para ingresar a la charla en vivo visite: [www.socoin.co](http://www.socoin.co)

ESCUELA DE GRADUADOS - Doctorado en Ciencias de la Salud

Juan Manuel Alfaro Velásquez  
Pediatra Endocrinólogo  
Docente U de A, CES, Clínica Noel  
Estudiante de doctorado en Ciencias de la Salud.  
Escuela de Graduados. Universidad CES.

UNIVERSIDAD CES  
Un compromiso con la excelencia

1

www.ces.edu.co

6. Ponencia internacional, Puebla, México, 12 al 14 de abril de 2018.



UNIVERSIDAD CES

Un compromiso con la excelencia

Resolución del Ministerio de Educación Nacional No. 1271 del 22 de marzo de 2007

RECONOCIMIENTO

## APROXIMACIÓN EPIGENÉTICA AL ORIGEN DE LA OBESIDAD PEDIÁTRICA



3

Puebla, México, abril 12 al 14 de 2018

www.ces.edu.co

ESCUELA DE GRADUADOS - Doctorado en Ciencias de la Salud

ser excelente en todo



7. Ponencia nacional, Medellín, noviembre de 2020

XIX Jornadas Institucionales de  
**INVESTIGACIÓN  
E INNOVACIÓN**



UNIVERSIDAD CES

Un compromiso con la excelencia

### Caracterización clínica, sociodemográfica y del cambio en la composición corporal de niños con sobrepeso y obesidad y su relación con el peso al nacer. Seguimiento de una cohorte. Medellín 2009-2019.

Alfaro-Velásquez JM, Jaramillo-Espinosa L, Puchulú-Betancourt JM, Celis-Cortés D, Vásquez Trespalcacios EM, Urrego-Alvarez RA.

ESCUELA DE GRADUADOS - Doctorado en Ciencias de la Salud

Medellín, noviembre 24 de 2020





9. Invitado ponente II simposio de Epidemiología y bioestadística.  
Epidemiología y Nutrición

II Simposio de  
**epidemiología y bioestadística**  
*Epidemiología y Nutrición*

## COMPORTAMIENTO CONTEMPORANEO DEL ADIPOCITO



**Juan Manuel Alfaro Velásquez**  
Pediatra Endocrinólogo

Estudiante de doctorado en Ciencias de la Salud.  
Escuela de Graduados. Universidad CES.



**UNIVERSIDAD CES**  
Un compromiso con la excelencia

ESCUELA DE GRADUADOS | FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN Y LOS ALIMENTOS

10. Poster en VIII congreso Internacional de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo, Cartagena de Indias Colombia, noviembre de 2020

EP03



**Síndrome metabólico pediátrico: consideraciones iniciales para niños con bajo peso al nacer. Seguimiento a una cohorte. Clínica CES, Medellín Colombia.**

Aflao-Velázquez JM, Jaramillo-Espinosa L, Puchulu-Beaucourt JM, Calle-Cortés D, Vilequez-Traspalacios EM, Urrego-Avancz RA.  
Correspondencia: aflaojm@yahoo.com

**Planteamiento del Problema**

Hay asociación entre bajo peso al nacer (PEG) y enfermedad crónica no transmisible (ECNT) del adulto. La caracterización clínica y sociodemográfica de niños nacidos o no PEG que desarrollan síndrome metabólico pediátrico (SMP) aporta en esta relación.

**Objetivo**

Conocer indicadores clínicos y de laboratorio relacionados con el desarrollo de SMP en una cohorte de niños nacidos PEG y sus diferencias con niños obesos sin este antecedente.

**Marco teórico**

El sobrepeso, la obesidad y el síndrome metabólico (SM) son ECNT. Características del SMP se deben incluir como factores (anticipados) en su desarrollo. Según Heise & Barker y el modelo DOHaD, el bajo peso al nacer (PEG) y el SM se relacionan.



PEG (Colombia) es peso menor o igual de 2499 gr (Instituto Nacional de Salud) con prevalencia de 9,7 % (2015). En el SMP se incluye obesidad abdominal, hipertensión arterial, elevación de triglicéridos y glicemia, disminución de colesterol y de lipoproteínas de alta densidad (HDL). Esta revisión incluye niños con

peso al nacer < P10 de curvas correspondientes (edad gestacional y género).

**Metodología**

Seguimiento a 37 niños en una unidad de consulta externa endocrinológica: 20 con sobrepeso-obesidad (10 PEG) y 17 sanos (9 PEG). Al día se toma perímetro de la cintura (PC), glicemia y valores lipídicos (sangre venosa). Se verificaron los cambios del IMC durante el seguimiento.

**Resultados e interpretación**

Hay diferencias de interés en IMC y PC de la población PEG obesa vs obesos no PEG (distribución del percentil del IMC y de perímetro de cintura). La incidencia (final) de SMP en niños obesos PEG no fue superior a la de obesos no PEG. Características de SMP en obesos-PEG aparecen más tempranamente que en Obesos-no PEG. En el grupo obeso PEG hay predominio de varones y de antecedente de diabetes gestacional, preeclampsia y hemorragia gestacional.

**Bibliografía**

1. Pinar DL, Garcia GP. The metabolic syndrome hypothesis. An Med Rev. 1 de noviembre de 2001; 26(1): 49-55.
2. Jahnke JF, Caselli AJ, Pinar DL. Metabolic Syndrome: From Basic Research to Clinical Practice. J Clin Endocrinol. 2010; 92(1): 1-10.
3. Goff DC, Gaziano TA, Garcia A, Jahnke JF, Pinar DL. Metabolic Syndrome: From Basic Research to Clinical Practice. J Clin Endocrinol. 2010; 92(1): 1-10.
4. Goff DC, Gaziano TA, Garcia A, Jahnke JF, Pinar DL. Metabolic Syndrome: From Basic Research to Clinical Practice. J Clin Endocrinol. 2010; 92(1): 1-10.
5. Goff DC, Gaziano TA, Garcia A, Jahnke JF, Pinar DL. Metabolic Syndrome: From Basic Research to Clinical Practice. J Clin Endocrinol. 2010; 92(1): 1-10.
6. Goff DC, Gaziano TA, Garcia A, Jahnke JF, Pinar DL. Metabolic Syndrome: From Basic Research to Clinical Practice. J Clin Endocrinol. 2010; 92(1): 1-10.

Variable	Obesos-PEG	Obesos-no PEG	P-valor
Edad (años)	10,5 ± 1,2	10,8 ± 1,1	0,85
Sexo (M/F)	18/2	15/2	0,72
IMC (kg/m²)	28,5 ± 3,5	27,8 ± 3,2	0,68
PC (cm)	85,2 ± 5,8	84,5 ± 5,5	0,91
Glicemia (mg/dL)	105 ± 15	102 ± 14	0,78
Triglicéridos (mg/dL)	150 ± 30	145 ± 28	0,82
Colesterol (mg/dL)	180 ± 40	175 ± 38	0,88
HDL (mg/dL)	45 ± 10	48 ± 11	0,65

Variable	Obesos-PEG	Obesos-no PEG	P-valor
Diabetes gestacional	12/20 (60%)	8/17 (47%)	0,25
Preeclampsia	8/20 (40%)	5/17 (29%)	0,32
Hemorragia gestacional	5/20 (25%)	3/17 (18%)	0,45



Variable	Obesos-PEG	Obesos-no PEG	P-valor
Diabetes mellitus	5/20 (25%)	3/17 (18%)	0,65
Hipertensión	8/20 (40%)	6/17 (35%)	0,72
Dislipidemia	10/20 (50%)	9/17 (53%)	0,88
SMP	12/20 (60%)	10/17 (59%)	0,95

**Conclusiones**

El desarrollo de obesidad durante la infancia y la adolescencia es un indicador clínico anticipado de SM. La progresión acelerada (deterioro) del PC y del IMC son los principales a considerar. El estado PEG es antecedente potencial del SM en una población de niños de la ciudad de Medellín, Colombia.



11 y 12. Poster y ponencia oral en el 16ª Congreso de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo, Medellín, noviembre de 2021.



LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE ENDOCRINOLOGÍA,  
DIABETES Y METABOLISMO, ACE  
NIT 860.023.047-5

**CERTIFICA QUE:**

- El trabajo de investigación "PESO AL NACER Y COMPORTAMIENTO DEL ÍNDICE DE MASA CORPORAL ENTRE LOS 4 Y 17 AÑOS.", se presentó para concurso en modalidad de poster en el 16º Congreso Colombiano de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo, el cual se celebró del 04 de noviembre al 07 de noviembre de 2021, de manera virtual en la plataforma ACE.
- Este trabajo fue presentado por los siguientes autores:  
**Autor Principal:** Juan Manuel Alfaro  
**Co-autores:** Jaramillo L, Rojas-Gualdrón D, Urrego Rodrigo, Vásquez E.

La presente certificación se expide a solicitud del interesado, en Bogotá el 10 de noviembre de 2021.

**HENRY TOIVAR CORTES, MD**  
Presidente  
Asociación Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo

**JOSÉ LUIS TORRES GRAJALES, MD**  
Presidente  
16º Congreso Colombiano de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo

Asociación Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo  
Carrera 15 No. 98-42 Of. 303. Tel. (0057-1) 8420243 / 8420245, Bogotá, Colombia, Suramérica.  
Línea Gratuita Nacional 018000 110 113 [www.endocrino.org.co](http://www.endocrino.org.co) - [comunicacion@endocrino.org.co](mailto:comunicacion@endocrino.org.co)



LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE ENDOCRINOLOGÍA,  
DIABETES Y METABOLISMO, ACE  
NIT 860.023.047-5

**CERTIFICA QUE:**

- El trabajo de investigación "VARIABLES DURANTE EL DESARROLLO DE OBESIDAD PEDIÁTRICA Y APORTES A UN MODELO PREDICTIVO.", se presentó para concurso en modalidad Oral en el 16º Congreso Colombiano de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo, el cual se celebró del 04 de noviembre al 07 de noviembre de 2021, de manera virtual en la plataforma ACE.
- Este trabajo fue presentado por los siguientes autores:  
**Autor Principal:** Juan Manuel Alfaro  
**Co-autores:**  
**Seudónimo:** LA ALBORADA

La presente certificación se expide a solicitud del interesado, en Bogotá el 10 de noviembre de 2021.

**HENRY TOIVAR CORTES, MD**  
Presidente  
Asociación Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo

**JOSÉ LUIS TORRES GRAJALES, MD**  
Presidente  
16º Congreso Colombiano de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo

Asociación Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo  
Carrera 15 No. 98-42 Of. 303. Tel. (0057-1) 8420243 / 8420245, Bogotá, Colombia, Suramérica.  
Línea Gratuita Nacional 018000 110 113 [www.endocrino.org.co](http://www.endocrino.org.co) - [comunicacion@endocrino.org.co](mailto:comunicacion@endocrino.org.co)

13. Ponencia ganadora en el 16° Congreso Colombiano de Endocrinología Diabetes y Metabolismo, Medellín, noviembre de 2021 (artículo original).



**LA ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE ENDOCRINOLOGÍA,  
DIABETES Y METABOLISMO, ACE  
NIT 860.023.047-5**

**CERTIFICA QUE:**

- ③ El trabajo de investigación **"METILACIÓN GLOBAL DEL ADN POR EWAS EN ADOLESCENTES OBESOS COLOMBIANOS Y CARACTERÍSTICAS DE METILACIÓN DE PER3 Y PTPRS."**, se presentó para concurso en modalidad Oral en el 16º Congreso Colombiano de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo, el cual se celebró del 04 de noviembre al 07 de noviembre de 2021, de manera virtual en la plataforma ACE.
- ③ Este trabajo fue presentado por los siguientes autores:  
**Autor Principal:** Juan Manuel Alfaro  
**Seudónimo:** SANTA RITA
- ③ La Presentación Oral de este trabajo se realizó el domingo 07 de noviembre en el horario de Presentaciones Orales de trabajos de investigación de 09:10 a 11:05 am de forma virtual.
- ③ Por su calidad académica e investigativa este trabajo de investigación cumplió con los requisitos para merecer el primer lugar en la Categoría de Mejor Trabajo de Investigación (Modalidad Oral), obteniendo un reconocimiento económico por valor de \$4.500.000.
- ③ La entrega del incentivo económico se realizará una vez se haya presentado el trabajo en formato de artículo para la Revista Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo.

La presente certificación se expide a solicitud del interesado, en Bogotá el 10 de noviembre de 2021.

**HENRY TOVÁR CORTES, MD**  
Presidente  
Asociación Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo

**JOSÉ LUIS TORRES GRAJALES, MD**  
Presidente  
16º Congreso Colombiano de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo

# ANEXOS

## Anexo 1. Instrumento de recolección de la información

### INSTRUMENTO INDIVIDUAL DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACION

Grupo	Genero	P/neonatal

Título de la investigación: Factores sociodemográficos, clínicos y de metilación global del ADN asociados a obesidad en pacientes pediátricos.

Fecha: /

Identidad:

Qué		quien												cómo y cuando						
Información reunida en HC		Información tomada por el investigador principal												Entrevista a padres en cita						
Información secundaria. Historia clínica de seguimiento														Información primaria. Padres.						
Prenatal														Posnatal						
Edad materna	Emb #	APP		AA		Edad gestac	Controles prenatales	HTA crónica		Diabetes gestacional		Toxemia		Hemorragia		Tabaco		Edad	Composición corporal	
		S	n	s	n			si	no	si	no	si	no	si	no	si	no		IMC	Perc
Fecha	Glicemia mg%	Colesterol en mg %			Triglicéridos	Perfil de metilación														
		Total	HDL	LDL		PER3				PTPRS										
						Otros genes														

APP: amenaza de parto pretermo. AA: amenaza de aborto. HTA: hipertensión arterial. IMC: índice de masa corporal. Perc: percentil. Cint: perímetro de cintura. PER3: gen de la familia período tipo 3. PTPRS: gen de la proteína sigma del receptor de protein quinasa

## Anexo 2. Diagrama de variables según objetivos.

Objetivo	Variables	Plan de análisis	Como se va a representar
Caracterización de factores clínicos y sociodemográficos de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica.	Género Edad Edad gestacional (EG) Peso al nacer Peso consecutivo Talla consecutiva Índice de masa corporal (IMC)	Se reportarán frecuencias absolutas y relativas; para variables cualitativas medidas de tendencia central como promedio y mediana; medidas de dispersión como la desviación estándar y el rango intercuartílico.	Gráficos de sectores y barras.
Determinar el perfil de metilación <i>PTPRS</i> y <i>PER3</i> de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica.	<i>PTPRS</i> <i>PER3</i> Hipometilado Hipermetilado	Se reportarán frecuencias absolutas y relativas; para variables cualitativas medidas de tendencia central como promedio y mediana; medidas de dispersión como la desviación estándar y el rango intercuartílico.	Gráficos de sectores y barras.
Establecer la asociación entre los perfiles de metilación <i>PTPRS</i> y <i>PER3</i> y los factores clínicos y sociodemográficos que se relacionan con el desarrollo de obesidad pediátrica de una cohorte de pacientes atendidos en una unidad de consulta externa endocrinológica.	<i>PTPRS</i> <i>PER3</i> IMC Hipometilado Hipermetilado Edad Sexo Talla IMC	Chi cuadrado, Test de Fisher, cálculo de RR e IC 95 %, exceso de riesgo, RAF, RAP; en variables cuantitativas t Student / U de Mann-Whitney	Cajas y bigotes. Barras de error
Explorar las variables que mejor expliquen el desarrollo de obesidad pediátrica y plantear un modelo predictivo para el desarrollo de obesidad pediátrica.	<i>PER3</i> <i>PTPRS</i> Edad Sexo Talla Género Peso al nacer IMC	Chi cuadrado Calculo de RR En variables cuantitativas t Student	Modelo de regresión logística binaria y selección manual de variables retenidas

### Anexo 3. Tabla de variables

VARIABLE	Definición	Naturaleza	Nivel de Medición	Unidad de Medida	Categoría o valores	Categorías	Valores que toma	Relación	Según proceso de Medición
Género	Sexo biológico del paciente	Cualitativa	Nominal	No aplica	0 (Mujer)	Dicotómica	Discreta	Independiente	Dura
					1 (Hombre)				
Edad cronológica	Tiempo en meses desde el nacimiento hasta el momento del examen clínico inicial.	Cuantitativa	Continua Razón	Meses	No aplica	No aplica	continua	Independiente	Dura
Edad gestacional (EG)	Semanas estimadas de preñez desde la fecha de la última gestación hasta el parto	Cuantitativa	Discreta	Semanas + días	Semanas gestacionales cumplidas + días	no aplica	continua	Independiente	Blanda
Peso al nacer	Masa corporal en gramos del recién nacido	Cuantitativa	Nominal	Gramos	Gramos al nacer	no aplica	continua	Independiente	Dura
Pequeño gestacional (PEG)	Menor de Percentil 10 de peso para EG	Cualitativa	Nominal	No aplica	PEG	Dicotómica	Discreta	Independiente	Blanda
					No PEG				
IMC (1) inicio	Relación peso/ mt2	Cualitativa	Ordinal	No aplica	Obeso	Dicotómica	Discreta	Dependiente	Dura
					No obeso				
IMC (>1 - < F)	Relación peso/ mt2	Cualitativa	Ordinal	No aplica	Obeso	Dicotómica	Discreta	Dependiente	Dura
					No obeso				
IMC final (F)	Relación peso/ mt2	Cualitativa	Ordinal	No aplica	Obeso	Dicotómica	Discreta	Dependiente	Dura
					No obeso				
Patrón de metilación <i>PETPRS</i>	Metilación en sitios CpG	Cuantitativa	Ordinal	No aplica	Hipometilado	Dicotómica	Discreta	Dependiente	Blanda
					Hipermetilado				
Patrón de metilación <i>PER3</i>	Metilación en sitios CpG	Cuantitativa	Ordinal	No aplica	Hipometilado	Dicotómica	Discreta	Dependiente	Blanda
					Hipermetilado				

## Anexo 4.

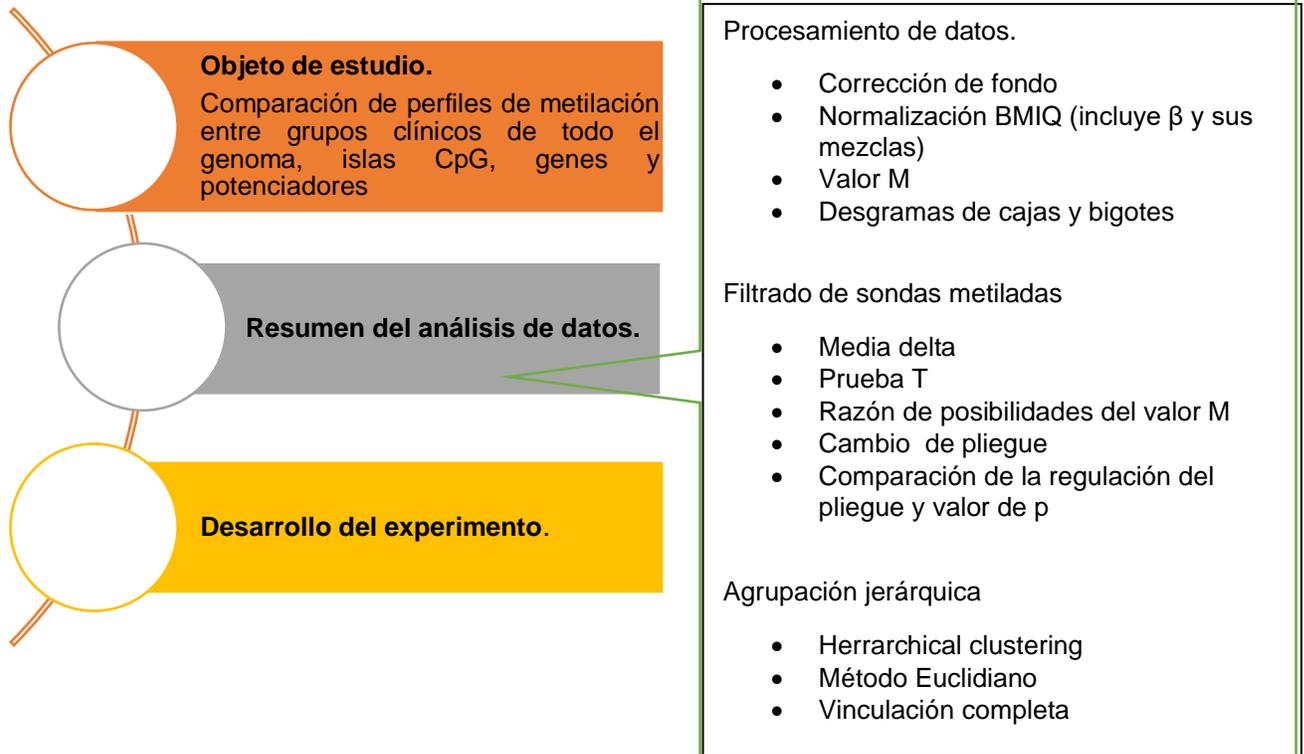
### Experimento

#### 1. Glosario

Denominación	Características
North shore	Costa norte
South shore	Costa sur
North shelf	Plataforma norte
South shelf	Plataforma sur
CpG shores	Regiones con menor densidad de CpG localizada hasta 2 kb corriente arriba y corriente debajo de una isla CpG
CpG shelf	Se define como los 2 kb exteriores a un CpG shore, entre 2 y 4 kb de una isla CpG
Open sea	Regiones con baja mutilación no caracterizadas en ninguna de las anteriores.
Cuerpo del gen	Región entre el lugar de inicio de la transcripción y el final del transcripto
Gene desert	Regiones con poco o ningún gen en una región de 500 kb
TSS	Sitio de inicio transcripcional
TSS200	Distancia en pares de bases desde el inicio de la transcripción
TSS1500	Distancia en pares de bases desde el inicio de la transcripción
ENCODE open chromatin evidence $\geq 4$	Regiones genómicas $\geq 4$ piezas de evidencia que apoyan el estado de cromatina abierta de pistas ENCODE dentro de DNasal-FAIRE-Chip-Synthesis-from-Encode-OpenChrom-Duke-UNC-UTA
ENCODE TFBS in open chromatin evidence $\geq 3$	Regiones de ENCODE open chromatin para unión a factores de transcripción o TTBS
FANTOMS enhancers	Regiones genómicas identificadas como potenciadoras por el proyecto FANTOMS5
3'ÚTR / 5'ÚTR	Regiones no traducidas de cada gen ubicadas cerca al marco abierto de lectura (ORF). Intervienen en la regulación de la expresión génica (3'ÚTR) al ser reconocida su secuencia por proteínas adaptadoras y por estar implicadas en la correcta expresión espacial y temporal de los genes.

#### 2. Plataforma: Illumina HumanMethylationEPIC BeadChip (EPIC) ®

#### 3. Metodología.



- BMIQ realiza normalización intra muestra y corrige sesgos metodológicos de las sondas.
- $\beta$ . Reconoce porcentaje de metilación de sitios de interés de la muestra: valor cero es sitio CpG no metilado y 1 es totalmente metilado (0 a 100 % respectivamente).
- T compara la media de dos poblaciones independientes de la muestra analizada.
- La razón de posibilidades del valor M (OR -odds ratio) establece la posibilidad de que un estado de salud o enfermedad se presente en un grupo poblacional frente al riesgo que ocurra en otro si las condiciones de vida son similares.
- Los cambios de pliegue (fold change) determinan la variación de la intensidad de fluorescencia (aplicada a microarrays) asignando un cambio si este llega a ser del 100%; su determinación está dada por la relación entre valor final – valor inicial dividido por valor inicial.
- La comparación de la regulación del pliegue y valor de p establece el cociente entre la expresión génica normalizada de la muestra vs la del control del caso respectivo; mayor de 1 es regulación positiva (regulación del pliegue es igual al cambio del pliegue); menor de 1 es regulación negativa (regulación del pliegue es el inverso negativo del cambio del pliegue). Valores mayores de 2 se sitúan en color rojo y todos los valores inferiores o iguales a 0,5 incluyendo los negativos, están en azul.
- Herrarchical clustering precisa patrones de comparación de todo el grupo analizado determinando que componentes tienen características similares. Se presenta en dendogramas.
  - Método Euclidiano. Formulación matemática que se aplica los dendogramas.
  - Vinculación completa. Modelo aplicado por EPIC para analizar sitios CpG muy lejanos.
- Se elabora corrección pro test múltiple sobre los resultados con  $p < 0,05$  empleando el control FDR (q-valor) o proporción esperada de descubrimiento falsos positivos entre todos los valores aplicando el método de p-valor secuencial o fdr-p-val.

#### 4. Desarrollo

- Sobre el 99% de los genes RefSeq y el 95% de las islas CpG se evaluaron regiones potenciadoras, cuerpos de los genes y promotores seleccionando valores de  $p$  muy pequeños.
- Empleando micromatrices (microarrays) se identificaron genes diferencialmente expresados con dos pasos consecutivos:
  - elección de un estadístico que ordena la evidencia de expresión diferenciada de mayor a menor y
  - elección de un valor crítico para el reordenamiento anterior: por encima de este se seleccionaron los significativos (genes).
- Se analizó el estado de metilación de múltiples genes en simultánea en micromatrices (microarrays) por hibridación; las plantillas solidas (cristal o plástico) albergaron sondas específicas del ADN para genes predeterminados esperando su hibridación sobre estas según secuencias complementarias controlando temperatura y pH.
- Se reconoció la complementariedad entre la muestra y la sonda de la micromatriz para iniciar la hibridación; los resultados, calificados trazadores sobre un fluorocromo, se convirtieron en imágenes que se analizaron con el programa informático.
- Esquema del experimento:

