



## EDITORIAL

## ¿Por qué es importante conocer los patrones de metilación del ADN en personas con hipertrigliceridemia?

### Why is it important to know DNA methylation patterns in people with hypertriglyceridaemia?

Dolores Corella <sup>a,b</sup><sup>a</sup> Department of Preventive Medicine and Public Health, School of Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain<sup>b</sup> CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

Actualmente nos encontramos en la denominada era de la medicina personalizada o de precisión<sup>1</sup>. Aunque todavía se trata de un concepto emergente, la constatación de que “lo mismo no sirve para todos” en prevención/tratamiento de las enfermedades, ha propulsado la investigación en nuevos biomarcadores que permitan su aplicación en la obtención de un mejor conocimiento de las bases moleculares de los distintos fenotipos analizados, así como en una mejor predicción de la respuesta a las distintas intervenciones preventivas y/o terapéuticas en el marco de la nueva medicina personalizada de precisión<sup>2</sup>. Resulta pues crucial la búsqueda de estos nuevos biomarcadores para cada uno de los fenotipos de interés (concentraciones plasmáticas de lípidos, presión arterial, glucemia en ayunas, diabetes, enfermedades cardiovasculares, etc.). Estos biomarcadores pueden ser de distinta naturaleza. Inicialmente el mayor énfasis se centró en los marcadores genómicos basados en cambios de bases en la secuencia del ADN<sup>3</sup>. Estos cambios de en la secuencia incluyen desde los polimorfismos un solo nucleótido, más conocidos por sus siglas en inglés de SNPs (“single nucleotide polymorphisms”) a cambios en un mayor número de bases en la secuencia de ADN como inserciones/delecciones cortas, o polimorfismos de fragmentos más largos como los denominados CNV (variaciones en número de copias). A principios de los años 2000, tras la finalización del Proyecto Genoma Humano, la tecnología para los

análisis de las variaciones genéticas en el ADN era todavía muy cara y lenta<sup>4</sup>. Por ello, en su aplicación al estudio de la susceptibilidad genética a las distintas enfermedades en general, y concretamente a las hipertrigliceridemias en particular, se realizó investigando unos pocos polimorfismos en genes candidatos. Entre estos trabajos podemos citar los iniciales de Hegele et al<sup>5</sup> identificando variantes comunes y también variantes poco frecuentes en los genes LPL y APOC3. Posteriormente con la mejora de la tecnología y la posibilidad de realizar genotipados de decenas de miles de polimorfismos a lo largo de todo el genoma utilizando los chips de genotipado masivo, se fue ampliando el número de variantes genéticas estudiadas y se llevaron a cabo los denominados estudios de asociación de genoma completo, más conocidos por sus siglas en inglés como GWAS (Genome-wide association studies)<sup>4</sup>. Estos GWAS, permitieron conocer nuevas variantes genéticas asociadas con hipertrigliceridemia. El número de estos GWAS, así como de meta-análisis de GWAS ha ido creciendo exponencialmente, incluyendo centenares de miles de participantes y aportando cada día nuevos resultados<sup>6–11</sup>. Entre los genes cuyos SNPs han sido más frecuentemente reportados en los GWAS llevados a cabo en diferentes poblaciones, podemos mencionar los siguientes: MLXIPL, ANGPTL3, GCKR, RPL26P19-HAVCR1, LPL, XKR6-AMAC1L2, FADS1-FADS2-FADS3, TRIB1 y APOA5-APOA4-APOC3-APOA1, entre otros. Sin embargo, el estudio de la susceptibilidad genética a hipertrigliceridemia basada en el análisis de los principales polimorfismos genéticos identificados en los GWAS realizados, ha resultado poco informativa.

Correo electrónico: dolores.corella@uv.es

<https://doi.org/10.1016/j.arteri.2022.01.001>

0214-9168/© 2022 Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de Sociedad Española de Arteriosclerosis.

Se han propuesto alternativas complementarias como el análisis de las denominadas puntuaciones de riesgo genético (o "genetic risk scores" en inglés), considerando al mismo tiempo la contribución aditiva de varios SNPs; la secuenciación directa; o incluso el estudio de las interacciones gen-ambiente<sup>12</sup>. A pesar de ello, estas estrategias adicionales también resultan incompletas y no son suficientes para su aplicación en la nueva medicina de precisión, aunque se tengan en cuenta las diferencias étnicas en las distintas poblaciones<sup>13</sup>.

Paralelamente a los análisis del genoma basado en cambios de la secuencia de ADN, otra nueva aproximación es el estudio del epigenoma. El epigenoma lo constituyen elementos funcionales que no implican cambio de secuencia en el ADN, pero que pueden regular la expresión de genes e influir así en los distintos fenotipos de enfermedad<sup>4</sup>. Existen distintos tipos de modificaciones epigenéticas, siendo la metilación del ADN una de la más estudiadas. Se produce por la adición enzimática de un grupo metilo al carbono 5 de la citosina por acción de las metiltransferasas. La mayoría de las 5-metilcitosinas (5mC) están presentes en los dinucleótidos -CpG-. También existen desmetilasas que se encargarían del proceso inverso de eliminación de los grupos metilo. En general, se postula una correlación inversa entre los niveles de metilación del ADN y la expresión génica, pero existen excepciones y depende también del tipo celular y del estado del desarrollo, por lo que todavía son necesarias más investigaciones sobre la relación entre hipermetilación o hipometilación y niveles de expresión y funcionalidad de cada gen<sup>14</sup>. Por ello, es necesario potenciar la investigación en nuevos biomarcadores de hipertrigliceridemia basados en el estudio de la metilación de distintos genes en sitios CpG funcionalmente relevantes. Sin embargo el estudio de biomarcadores epigenómicos de metilación tiene más dificultades que el análisis de SNPs en el genoma. La primera dificultad inicial fue el elevado coste y el menor desarrollo de la tecnología en comparación con los chips de genotipado<sup>4</sup>. A esta dificultad hay que añadir que a diferencia del genoma, el epigenoma es diferente para cada tipo celular y las conclusiones de los estudios en cuanto a qué genes están diferencialmente metilados, puede variar ampliamente en función de si la muestra biológica analizada procede de sangre venosa periférica, de tejido adiposo, de piel, saliva, hígado o de otros tejidos<sup>4</sup>. Incluso si se utiliza sangre, dependiendo de la composición de la sangre en distintos tipos de leucocitos, los resultados pueden ser diferentes. Por ello, en los estudios de metilación hay que tener la precaución de realizar mediciones en fresco de los distintos tipos de leucocitos para el análisis de los resultados en sangre, o bien utilizar unos algoritmos computacionales que permiten derivar indirectamente las proporciones de leucocitos que habría en la sangre de cada participante en el estudio a partir de datos de metilación de distintos lugares del epigenoma. Entre los distintos algoritmos de este tipo, el más utilizado es el propuesto por Houseman et al<sup>15</sup>. Aunque este ajuste por los distintos tipos celulares es ampliamente utilizado, su aplicación debe realizarse con cautela porque también se ha descrito que debido a la multicolinealidad que causan en los modelos estadísticos los ajustes por estas variables altamente correlacionadas, puede distorsionar las asociaciones y dar lugar a falsos positivos<sup>16</sup>. Al igual que para los análisis de SNPs, se uti-

lizan chips de genotipado masivo para realizar análisis de GWAS, en metilación también se utilizan chips de metilación para realizar los denominados EWAS (epigenome-wide methylation study). Estos chips tienen más problemas técnicos que los chips de genotipado y tiene que realizarse un cuidadoso ajuste por los efectos de lote que puede también repercutir en falsos positivos o negativos. La metilación puede oscilar entre un 0% y un 100%. Además, las distintas versiones de los chips no son totalmente comparables y puede haber diferencias entre estudios que utilizaran versiones más primitivas (27K, o 450K), o la versión más moderna y completa (chips EPIC que analiza 850.000 lugares de metilación)<sup>17</sup>. A pesar de todas estas dificultades técnicas, en este número de la revista Clínica e Investigación en Aterosclerosis, destacamos la publicación de un estudio de EWAS llevado a cabo por Guardiola et al<sup>18</sup>, para analizar a nivel de epigenoma completo los lugares CpG diferencialmente metilados en pacientes con hipertrigliceridemia grave (n = 16 con una media de triglicéridos totales de 1687 mg/d) en comparación con 16 controles (media de triglicéridos de 106 mg/dL), utilizando el chip de 850K. Tras realizar de manera cuidadosa los controles de calidad requeridos para el procesamiento del chip a partir de leucocitos, la corrección de Houseman et al<sup>15</sup> et al., las correcciones por comparaciones múltiples y los pertinentes análisis estadísticos, los autores identificaron 31 citosinas diferencialmente metiladas entre casos y controles. Entre los lugares más relevantes, destacan el cg03636183 en el gen F2RL3, resultando hipometilado en personas con hipertrigliceridemia. Este gen es muy conocido por su asociación con envejecimiento y con el riesgo cardiovascular. Funcionalmente relevante también destacamos el lugar Cg13824500, localizado en el gen en VT11A, implicado en el tránsito de quilomicrones en el enterocito, que se presenta hipometilado en personas con hipertrigliceridemia. Otros lugares con metilación diferencial relevante en hipertrigliceridemia identificados en el trabajo han sido Cg26468118-RAB20 (hipometilado) y cg21560722 -SBF2 (hipermetilado). Los autores identifican también otros lugares, pero no han encontrado referencias previas que los apoyen. Aunque una limitación del trabajo es que el tamaño de muestra es pequeño, la ventaja para la aplicación en nuestro medio es que se trata de un estudio realizado en población española. Actualmente se sabe que las diferencias geográficas (no sólo étnicas) en la población estudiada son muy relevantes tanto en genética como en epigenética y que los resultados obtenidos en una población sobre SNPs o CpG concretos, puede que no sean extrapolables a otra población diferente<sup>13,14</sup>. Por ello, aunque los estudios de EWAS y triglicéridos publicados en otras poblaciones<sup>19,20</sup> sean importantes para tenerlos presentes como punto de partida, la utilidad clínica de la aplicación de los biomarcadores a la medicina de precisión, dependerá de la validación de dichos biomarcadores en cada población específica. En este contexto es imprescindible potenciar la investigación en la población de nuestro medio y ampliar y validar los resultados que de manera pionera nos presentan Guardiola et al.,<sup>18</sup>.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. Collins FS, Varmus H. A new initiative on precision medicine. *N Engl J Med*. 2015;372:793–5.
2. Olivier M, Asmis R, Hawkins GA, Howard TD, Cox LA. The Need for Multi-Omics Biomarker Signatures in Precision Medicine. *Int J Mol Sci*. 2019;20:4781.
3. Kamatani Y, Nakamura Y. Genetic variations in medical research in the past, at present and in the future. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2021;97:324–35.
4. Corella D, Ordovas JM. Basic Concepts in Molecular Biology Related to Genetics and Epigenetics. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2017;70:744–53.
5. Hegele RA, Dron JS. 2019 George Lyman Duff Memorial Lecture: Three Decades of Examining DNA in Patients With Dyslipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2020;40:1970–81.
6. Kathiresan S, Manning AK, Demissie S, D'Agostino RB, Surti A, Guiducci C, et al. A genome-wide association study for blood lipid phenotypes in the Framingham Heart Study. *BMC Med Genet*. 2007;8Suppl1 Suppl 1:S17.
7. Chasman DI, Paré G, Zee RY, Parker AN, Cook NR, Buring JE, et al. Genetic loci associated with plasma concentration of low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, apolipoprotein A1, and Apolipoprotein B among 6382 white women in genome-wide analysis with replication. *Circ Cardiovasc Genet*. 2008;1:21–30.
8. Kathiresan S, Willer CJ, Peloso GM, Demissie S, Musunuru K, Schadt EE, et al. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nat Genet*. 2009;41:56–65.
9. Kurano M, Tsukamoto K, Kamitsuji S, Kamatani N, Hara M, Ishikawa T, et al. Genome-wide association study of serum lipids confirms previously reported associations as well as new associations of common SNPs within PCSK7 gene with triglyceride. *J Hum Genet*. 2016;61:427–33.
10. Siewert KM, Voight BF. Bivariate Genome-Wide Association Scan Identifies 6 Novel Loci Associated With Lipid Levels and Coronary Artery Disease. *Circ Genom Precis Med*. 2018;11:e002239.
11. Graham SE, Clarke SL, Wu KH, Kanoni S, Zajac GJM, Ramdas S, et al. The power of genetic diversity in genome-wide association studies of lipids. *Nature*. 2021;600:675–9, doi: 10.1038/s41586-021-04064-3. Epub 2021 Dec 9. PMID: 34887591; PMCID: PMC8730582.
12. Dron JS, Wang J, McIntyre AD, Cao H, Hegele RA. The polygenic nature of mild-to-moderate hypertriglyceridemia. *J Clin Lipidol*. 2020;14:28–34, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacl.2020.01.003>, e2. Epub 2020 Jan 14. PMID: 32033914.
13. Mostafavi H, Harpak A, Agarwal I, Conley D, Pritchard JK, Przeworski M. Variable prediction accuracy of polygenic scores within an ancestry group. *Elife*. 2020;9:e48376, doi: 10.7554/eLife.48376. PMID: 31999256; PMCID: PMC7067566.
14. Tang H, Zeng Z, Shang C, Li Q, Liu J. Epigenetic Regulation in Pathology of Atherosclerosis: A Novel Perspective. *Front Genet*. 2021;12:810689, doi: 10.3389/fgene.2021.810689. PMID: 34976029; PMCID: PMC8714670.
15. Houseman EA, Accomando WP, Koestler DC, Christensen BC, Marsit CJ, Nelson HH, Wiencke JK, Kelsey KT. DNA methylation arrays as surrogate measures of cell mixture distribution. *BMC Bioinformatics*. 2012;13:86, doi: 10.1186/1471-2105-13-86. PMID: 22568884; PMCID: PMC3532182.
16. Barton SJ, Melton PE, Titcombe P, Murray R, Rauschert S, Lillycrop KA, et al. In Epigenomic Studies, Including Cell-Type Adjustments in Regression Models Can Introduce Multicollinearity. Resulting in Apparent Reversal of Direction of Association. *Front Genet*. 2019;10:816.
17. Vanderlinden LA, Johnson RK, Carry PM, Dong F, DeMeo DL, Yang IV, et al. An effective processing pipeline for harmonizing DNA methylation data from Illumina's 450K and EPIC platforms for epidemiological studies. *BMC Res Notes*. 2021;14:352.
18. Guardiola M, Ibarretxe D, Plana N, Masana L, Ribalta J. DNA methylation pattern of hypertriglyceridemic subjects. *Clin Investig Arterioscler*. 2021;S0214–9168, 00135-2. English, Spanish.
19. Pfeiffer L, Wahl S, Pilling LC, Reischl E, Sandling JK, Kunze S, et al. DNA methylation of lipid-related genes affects blood lipid levels. *Circ Cardiovasc Genet*. 2015;8:334–42.
20. Gomez-Alonso MDC, Kretschmer A, Wilson R, Pfeiffer L, Karhunen V, Seppälä I, et al. DNA methylation and lipid metabolism: an EWAS of 226 metabolic measures. *Clin Epigenetics*. 2021;13:7.