



Facultad de Ciencias de la Salud
Sección de Psicología

ULL

Universidad
de La Laguna

RESTRICCIÓN CALÓRICA, EPIGENÉTICA Y FUNCIONAMIENTO CEREBRAL.



Silvia Luis González

Directores:

**María del Carmen Damas Hernández
Rosa Arévalo García**



Trabajo Fin de Grado de Psicología
Departamento de Psicobiología
Universidad de La laguna
Tenerife, España

Curso académico 2015-2016

Resumen

Las marcas epigenéticas se añaden a lo largo de la vida de los individuos y pueden modificarse por factores ambientales como la dieta. El *principal objetivo* de este trabajo ha sido hacer una revisión bibliográfica que relacione la restricción calórica (**RC**) con la epigenética, centrándonos en cómo influye sobre el funcionamiento cerebral. La conclusión a la que se ha llegado, es que la RC modifica diferentes marcas epigenéticas que, regulando la expresión genética, aumentan la salud del individuo en todas las etapas de su vida alargando la esperanza y la calidad de la misma. No obstante el tema de estudio es muy novedoso, quedan muchos interrogantes por contestar al tiempo que se abren muchos campos de gran interés, como las llamadas dietas y farmacología epigenéticas que se apoyan sobre los mecanismos epigenéticos que se modifican durante la RC.

Palabras clave: *Dieta epigenética; Envejecimiento; Epigenética; Funcionamiento Cerebral; Plasticidad; Restricción Calórica.*

Abstract

Epigenetic marks are added throughout the life of individuals and can be modified by environmental factors such as diet. The main objective of this study was to review the literature linking caloric restriction (CR) with epigenetic, focusing on how it affects brain function. The conclusion that has been reached is that the RC modifies different epigenetic marks that regulate gene expression, increase the health of individuals at all stages of their life prolonging the life expectancy and quality of it. However the subject of study is very new, many questions remain unanswered while many areas of great interest open, as calls and epigenetic pharmacology diets that rely on epigenetic mechanisms that are modified during the RC.

Keywords: *Epigenetic diet; Aging; epigenetic; Brain functioning; Plasticity; Caloric restriction.*

Abreviaciones: *EA:* Enfermedad de Alzheimer; *RC:* Restricción Calórica; *DNMTs:* Metiltransferasas; *HACs:* Histonas Acetiltransferasas; *HDACs:* Histonas Desacetilasas; *SIRT1:* Sirtuina 1; *HMTs:* Histonas Metiltransferasas; *HDM:* Histonas demetiltransferasas; *RD:* Restricción Dietética; *SAF:* Síndrome Alcohólico Fetal.

1. INTRODUCCIÓN.

Las marcas epigenéticas se van añadiendo a lo largo de toda la vida del individuo, desde la formación del cigoto hasta su muerte, debido a la interacción de éste con el medio en el que se desarrolla. Estas marcas determinarán la expresión genética del organismo y por lo tanto su funcionamiento. Es lógico pensar, y así está demostrado, que el ambiente y estilo de vida en el que nos criamos y desarrollamos, es decir, la forma en la que nos cuidamos, e incluso nos alimentamos, dará lugar a un organismo saludable, o de forma contraria, en la mayor probabilidad de aparición de determinadas enfermedades.

Actualmente, existe una importante preocupación en conducir nuestro organismo a un buen estado de salud, adoptando medidas que han demostrado que repercuten en la expresión de un funcionamiento óptimo; con menor cantidad o sin enfermedades, retrasando, de este modo, el envejecimiento, e incrementando la cantidad y calidad de años de vida. Esto se ve reflejado en las sociedades de países desarrollados (como la civilización occidental) y con mayor cantidad de recursos (mejor alimentación, salubridad, educación...).

El control de la ingesta es un factor que pone de relieve los beneficios que tiene la alimentación en la salud, siendo una dieta baja en calorías conocida como RC, la manipulación nutricional más eficaz e importante que influye en los procesos epigenéticos dando como resultado una vida más saludable. La RC y los procesos nutricionales derivados de la misma, provocan modificaciones epigenéticas dando lugar una optimización del organismo que ha demostrado, entre otros, que puede aumentar la esperanza de vida en muchas especies diferentes (Lardenoije et al., 2015; Lee & Longo, 2016; Li, Daniel, & Tollefsbol, 2011).

En el desarrollo del sistema nervioso juegan un papel fundamental los procesos de regulación epigenética, desde su formación hasta su funcionamiento a lo largo de toda la vida, que ponen de relieve la plasticidad celular que posee especialmente este tejido. La plasticidad se encuentra

relacionada directamente con la epigenética debido a que la expresión génica no es direccional y estable, sino que a partir de un determinado genoma pueden manifestarse diferentes fenotipos, tratándose así de procesos dinámicos que pueden modificarse a través de diferentes condiciones ambientales, como puede ser la RC. El cerebro es el tejido con mayor plasticidad del organismo, siendo con gran diferencia el que más genes expresa, en éste sentido resulta de gran interés conocer cómo la RC produce cambios en la expresión del funcionamiento cerebral.

Por otro lado, el proceso de envejecimiento es un factor de riesgo en el sentido de que hay un incremento de la probabilidad de padecer enfermedades asociadas a él, además de ser un factor clave en la disminución general del rendimiento físico y mental. En este aspecto, cabe destacar que a pesar de que son diversos los ámbitos de investigación en RC, hay mayor cantidad de publicaciones y avances que conllevan al estudio de su influencia en la etapa evolutiva que abarca el proceso de envejecimiento, y se han obtenido múltiples datos que indican que influye favorablemente, que es capaz de prolongar la longevidad, prevenir la presencia de enfermedades y atenuar el deterioro cerebral relacionado con la edad (Lardenoije et al., 2015; Lee & Longo, 2016; Li et al., 2011).

Así pues, un ambiente dañino, en cualquier etapa de la vida va a repercutir en el buen funcionamiento de todo el organismo y especialmente en el funcionamiento cerebral, órgano que controla, a su vez, la homeostasis del resto del organismo por lo que nos parece fundamental detectar y entender estos trastornos con el fin de poder evitarlos o revertirlos.

El **objetivo** de este trabajo ha sido el de hacer una revisión bibliográfica de las últimas investigaciones que engloban; la RC, su relación con la epigenética y los resultados que ocasionan una mejora para la salud, la calidad y esperanza de vida, poniendo especial interés en la repercusión sobre el funcionamiento cerebral.

1.1. MATERIAL Y MÉTODO.

El procedimiento utilizado para alcanzar el objetivo de este estudio fue realizar una revisión bibliográfica de las últimas publicaciones relacionadas con esta temática a través de la búsqueda en diferentes bases de datos (*Pubmed*, *el Punto Q* de la bbtk de la ULL, *Google Academic*, *sCielo*, y algunas revistas cómo *Brain*) se realizó una selección de los artículos que se encontró, tanto de revisión cómo experimentales, centrándose en aquellos aspectos que consideraba más relevantes. El criterio de selección de la información se basó en el grado de evidencia científica, la fecha de publicación (con mayor actualidad posible) y criterios personales de la autora del trabajo.

Se llevó a cabo una lectura superficial de dicha selección para realizar un marco y organización del posterior trabajo. Seguidamente, se analizó con detalle los artículos de revisión más relevantes y se utilizó la información para realizar este trabajo, enumerando los principales hallazgos sobre la materia. Además, para terminar, se añadió información de interés obtenida del resto de material encontrado y se amplió la búsqueda en determinados aspectos con la intención de clarificar o ampliar la información presentada.

2. EPIGENÉTICA.

2.1. CONCEPTO.

En los años '30, Conrad Waddington observó la capacidad del medioambiente para moldear el fenotipo y la denominó *epigenética*. En sus estudios de embriología, infirió tempranamente la importancia de la interacción gen-ambiente, a través de la cuál a partir de un único genoma se generan los distintos tipos y funciones celulares que constituyen un organismo, mediante estímulos que se suceden en un tiempo y lugar específico (Krause, Castro-Rodríguez, Uauy, & Casanello, 2016)

La definición de «epigenética» suele encontrarse en las investigaciones haciendo alusión a dos características: 1) explica cambios en la herencia de fenotipos que no son atribuibles a cambios en la secuencia del ADN, y 2) para

explicar cómo un organismo genera diversos fenotipos celulares a partir de un único genotipo. Actualmente se considera a la **epigenética** como el conjunto de mecanismos modificadores de cromosomas que cambian la plasticidad fenotípica de una célula u organismo (Krause et al., 2016), pero sin que se altere la secuencia de nucleótidos de ADN (Robles, Ayala Ramírez, & Perdomo Velásquez, 2012) es decir sin que se produzcan mutaciones.

Los procesos epigenéticos son modificaciones covalentes por la adición y/o supresión de grupos funcionales (metilos, acetilos y fosfatos), proteínas (ubiquitina, «SUMO», etc.), ARNs de pequeño tamaño, al ADN o a las histonas, entre otros. Estas modificaciones son unas marcas moleculares detectables cuyo resultado final es un cambio en la actividad transcripcional de los genes. Cuando una célula se multiplica, estas marcas se transmiten a las células hijas, teniendo un carácter de heredabilidad (Morgan & Whitelaw, 2008).

La influencia del ambiente en los procesos epigenéticos se ve reflejada en estudios de gemelos homocigóticos que, comparten el mismo genotipo y, sin embargo presentan muchas diferencias fenotípicas que indican que los factores ambientales externos contribuyen a diferencias entre los individuos, incluyendo; la susceptibilidad a la enfermedad y la posibilidad de vivir más tiempo (Li et al., 2011). En este tipo de estudios se ha limitado la contribución genética de la longevidad en sólo el 25% al nacer (Taormina & Mirisola, 2015) Por lo tanto, hay evidencias de que los mecanismos epigenéticos tienen una función clave en el desarrollo, no sólo controlando la diferenciación celular, sino además registrando señales del medioambiente en condiciones fisiológicas y patológicas a medida que envejecemos (Krause et al., 2016).

2.2. MECANISMOS DE MODIFICACIÓN.

La regulación epigenética de la expresión génica puede ser provocada por dos mecanismos principales: **a)** la Metilación del ADN y **b)** las modificaciones de histonas después de la traducción (Li et al., 2011). Actualmente se ha identificado otro mecanismo; **c)** la interferencia de ARN no codificante (Taormina & Mirisola, 2015).

a) METILACIÓN DEL ADN.

La metilación del ADN se produce principalmente en los residuos de citosina de los dinucleótidos citosina-guanina que se agrupan en las llamadas islas CpG, especialmente abundantes en los sitios de regulación y en las regiones promotoras de los genes (Li et al., 2011). Estas regiones reclutan múltiples proteínas del complejo de transcripción del ADN que influyen en la unión de otras proteínas como los factores reguladores de la transcripción y proteínas de remodelación de la cromatina, favoreciendo la transcripción de genes. La metilación de estas regiones hace que la cromatina se condense e impida el acceso de esos factores con el consiguiente silenciamiento de los genes asociados, es decir, la metilación es típica de la cromatina compacta, la heterocromatina (Li et al., 2011; Taormina & Mirisola, 2015).

Por lo tanto, se ha evidenciado que la cantidad de metilación del ADN que se produce en una región de control del gen se correlaciona inversamente con la activación de los genes afectados, es decir, a mayor metilación menos activación de los genes, produciendo el silenciamiento e inhibiendo la expresión de esos genes (Li et al., 2011).

Los patrones de metilación de ADN se generan a partir de procesos de metilación y desmetilación (Ponferrada-Marín & Schiliro, 2009). Por un lado, dichos patrones están mediados por las metiltransferasas (**DNMTs**); enzimas clave y responsables de la metilación del ADN que transfieren un grupo metilo de la S-adenosil-L-metionina para producir 5-metilcitosina. Las DNMTs se pueden subdividir en dos grupos: **(a) DNMT1**, que realiza una función de mantenimiento durante la división celular, conservando durante la replicación el patrón de metilación de la cepa parental en la cadena de ADN de nueva síntesis, y **(b) DNMT3a, DNMT3b y el cofactor DNMT3L** (proteína similar a la metiltransferasa de ADN), que durante la embriogénesis producen la metilación de novo de ADN, después de la replicación del ADN mediante la adición de un metilo a la citosina de los dinucleótidos CpG que no hayan sido previamente metilados (Li et al., 2011; Taormina & Mirisola, 2015).

Por otro lado, los patrones de metilación son reversibles de manera que también se ven afectados por las desmetilasas del ADN. Es de destacar que esto ocurre de manera prominente en el sistema nervioso maduro y en el cigoto fertilizado. Curiosamente ambos tejidos son los más plásticos en el cuerpo humano (Obokata et al., 2014; Urdinguio, Sanchez-Mut, & Esteller, 2009). Se sabe que la desmetilación del ADN puede tener lugar de forma pasiva (ausencia de metilación de mantenimiento durante varios ciclos de replicación), o activa (como un proceso activo en ausencia de replicación). Además, en resultados recientes se ha llegado a la conclusión de que la desmetilación conlleva la inducción de roturas de ADN y se sugiere la implicación de una ruta de reparación de ADN (Ponferrada-Marín & Schiliro, 2009).

b) MODIFICACIONES POST-TRADUCCIONALES DE HISTONAS.

Las modificaciones de las histonas afectan a la estructura básica de la unidad de la cromatina, el nucleosoma, que está compuesto por 146 pares de bases de ADN dispuestos alrededor de un octámero de histonas (dos copias de H2A, H2B, monómeros H3 y H4). Las histonas, proteínas básicas responsables del ensamblaje y la remodelación de la cromatina, pueden sufrir muchas modificaciones post-traduccionales reversibles (Li et al., 2011; Taormina & Mirisola, 2015).

Han sido identificadas más de 100 modificaciones de distintas histonas y se asocian tanto con la activación como la represión de genes. La combinación de modificaciones dentro de las colas de la histona cambia directamente la configuración del nucleosoma y los resultados en el estado de conmutación de la cromatina ya sea a un estado compactado/cerrado o relajado/abierto. Por lo tanto, las modificaciones de histonas determinan el nivel de apertura de la cromatina y con ello el grado de actividad de los genes dentro de una cierta región de ADN (Li et al., 2011; Taormina & Mirisola, 2015).

ACETILACIÓN/DESACETILACIÓN DE HISTONAS

La acetilación de histonas normalmente da como resultado el relajamiento de la cromatina con el consiguiente aumento de la accesibilidad al ADN (Wang, Tsai, Yew, Kwan, & Ngai, 2010).

Los procesos de acetilación y desacetilación de histonas son catalizados por dos familias de enzimas específicas denominadas histonas acetiltransferasas (**HACs**) e histonas desacetilasas (**HDACs**), respectivamente. Las HACs transfieren el grupo acetilo de la acetil CoA a los residuos de lisina de histonas H3 y H4; la inserción de cargas negativas neutraliza la carga positiva en los residuos de lisina y debilita la afinidad dependiente de la carga entre las histonas y el ADN, conduciendo la relajación de la cromatina (eucromatina), que favorece la unión de los factores de transcripción. Por el contrario, las HDACs eliminan los grupos acetilo, el ADN se adhiere a las histonas y los nucleosomas se vuelven más compactos (heterocromatina) e inaccesible para los factores de transcripción. Las HDACs, además, participan en la regulación la expresión génica y, por lo tanto, de muchas funciones celulares, a través de interacciones con cientos de factores de transcripción diferentes (Li et al., 2011; Taormina & Mirisola, 2015).

Se han identificado al menos cuatro clases de la familia HDAC, incluyéndose en la clase III el grupo de las sirtuinas, principalmente relevante en humanos la **sirtuina 1 (SIRT1)**, una HDAC dependiente de un dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD⁺) (Li et al., 2011), que como veremos más adelante, juega un papel fundamental en la regulación epigenética. La modificación de histonas y la metilación del ADN, se han relacionado principalmente a través de la regulación SIRT1 (Taormina & Mirisola, 2015).

METILACIÓN/ DESMETILACIÓN DE HISTONAS

La metilación es otra importante modificación de histonas que regula la expresión de genes. La metilación de diferentes residuos de lisinas y argininas en las histonas puede dirigir a: condensación de la cromatina y silenciamiento

génico o a, descondensación de la cromatina y actividad transcripcional. Los residuos de lisina pueden ser mono-, di- o trimetilados, y la activación o la represión depende del residuo particular de lisina que se ha modificado (Li et al., 2011). Estos complejos procesos son regulados por las enzimas histonas metiltransferasas (**HMTs**) e histonas demetiltransferasas (**HDMS**) (Robles et al., 2012).

La metilación de las histonas participa en muchos procesos biológicos esenciales que van desde la activación de genes, el silenciamiento y la represión, a la inactivación del cromosoma X (Wang et al., 2010).

Por último, y mencionado con anterioridad en el apartado de metilación de ADN, se ha hecho evidente que los sistemas de metilación del ADN y el de las lisinas de las histonas están muy relacionados entre sí y se apoyan mecánicamente el uno al otro para la función normal de la cromatina, y además la metilación de lisina puede ayudar a orientar la metilación del ADN durante el desarrollo, y viceversa (Rose & Klose, 2014).

c) ARN NO CODIFICANTE.

Los micro ARN (**miRNAs**) y los ARN pequeños de interferencia (**siRNAs**), son una amplia clase de pequeñas moléculas de ARN-no codificantes (ARN interferentes) que determinan la regulación epigenética sobre todo a nivel postranscripcional, dirigiéndose a diferentes transcritos y evitando su traducción, actuando como represores o como activadores (Taormina & Mirisola, 2015). Suprimen la expresión de genes específicos mediante mecanismos conocidos globalmente como ribointerferencia o interferencia por ARN (RNAi; sistema que controla los genes que están activos y su grado de activación).

El **miARN** es una clase de ARN monocatenario que tiene la capacidad de regular la expresión de otros genes mediante diversos procesos, utilizando para ello la ruta de ribointerferencia (Pillai, 2005). Están implicados en una amplia variedad de procesos del desarrollo y podrían tener una función en el

establecimiento de redes y en el ajuste fino de la expresión génica en la célula (Ambros, 2003; Bartel, 2004) . Son los más conocidos e influyen en el envejecimiento y la esperanza de vida (Taormina & Mirisola, 2015).

El **siRNA** es una clase de ARN interferente bicatenario. Es altamente específico para la secuencia de nucleótidos de su ARN mensajero diana, interfiriendo con la expresión del gen respectivo. También interviene en el mecanismo RNAi, donde el siRNA interfiere con la expresión de un gen específico, reduciéndola. Además, actúan en otras rutas relacionadas con el RNAi, como en la defensa antiviral o en la organización de la estructura de la cromatina en un genoma (Taormina & Mirisola, 2015).

La acción de los RNA de pequeño tamaño se ha descubierto recientemente y hay menos cantidad de información, encontrándose, hasta ahora, vinculados con la regulación de una serie de procesos celulares como la apoptosis, la diferenciación, el ciclo celular y las funciones inmunes, y su expresión puede ser alterada por un amplio espectro de factores ambientales incluyendo drogas, virus y patógenos bacterianos, cigarrillo tabaquismo, el alcohol, el sueño, el ejercicio, el estrés, la radiación y la nutrición (Wang et al., 2010).

Tabla 1: *Mecanismos de modificación epigenética.*

	MODIFICACIÓN		PATRONES MEDIADOS POR	ESTADO DE LA CROMATINA Y EXPRESION GENICA	
METILACIÓN DEL ADN	Residuos de citosina de los dinucleótidos C-G. (Proteínas de unión -complejo de transcripción)		DNMTs	Condensación de la Cromatina (heterocromatina) < Activación / Silenciamiento e inhibición de la expresión.	
			Desmetilasas	Descondensación de la cromatina (Eucromatina) Actividad transcripcional/Expresión	
MODIFICACIÓN POST-TRADUCCIONAL DE HISTONAS.	Colas Amino y Carboxi de las histonas	ACETILACIÓN/DESACETILACIÓN	HACs	Transfieren el grupo acetilo: Apertura de la cromatina (eucromatina)	Estado de la cromatina: abierto y cerrado.
		METILACIÓN/DESMETILACIÓN	MMT HDM	Eliminan los grupos acetilo: Condensación de la cromatina (heterocromatina) Patrones de asociación única: Condensación/ descondensación Silenciamiento génico/actividad transcripcional	
ARN-NO CODIFICANTE	Se dirige a diferentes transcritos y evita su traducción. (Nivel post-transcripcional)		miRNAs y siRNAs.	Represores y Activadores.	

3. RESTRICCIÓN CALÓRICA.

La RC consiste en la reducción del aporte calórico total de la ingesta, por lo general 20-40% de la ingesta “*ad libitum*” de la especie, sin conducir a la desnutrición y la deficiencia en nutrientes, es decir, una dieta equilibrada y suficiente desde el aspecto nutricional (Bacalini et al., 2014).

Los primeros escritos en los que se menciona la idea de que la restricción de la ingesta de alimentos conduce a beneficios para la salud y, por lo tanto, a una mayor calidad de vida, datan entorno al siglo XV, posiblemente con los informes de Luigi Cornaro (noble italiano nacido en 1464) que modificó su vida de excesos que llevaba hasta los 35 años y que finalmente vivió hasta los 102 años en cuya época el promedio de esperanza de vida en Europa era inferior a 30 años. En consonancia con este informe se han observado múltiples escritos a lo largo de los siguientes 500 años en los que principalmente se consideraba que “comer menos” o reducir la ingesta de alimentos repercutía beneficiosamente en la salud y la esperanza de vida (Speakman & Mitchell, 2011).

Los estudios experimentales de los efectos de la restricción de alimentos en animales, comenzaron en el siglo XX y se cree que la primera publicación de resultados empíricos y en que se descubrió el efecto de dicha restricción la hizo McCay y sus colaboradores de la Universidad de Cornell en 1935. Hizo una gran aportación, demostrando que la restricción de la ingesta en un 40% a partir de la edad de destete prolonga la vida de forma espectacular (Speakman & Mitchell, 2011).

Es de sumo interés realizar la diferenciación terminológica entre Restricción Dietética (RD) y Restricción Calórica . Se han producido muchas controversias en la definición y delimitación de ambos términos, utilizándose de forma indiferenciada y/o a criterio de los investigadores. La principal diferencia, y más compartida, es que la RD refleja el hecho de que todos los componentes de la dieta se han limitado, es decir, incluyendo micro y macro nutrientes, mientras que la RC implica una disminución sólo en calorías, por lo tanto, no supone una deficiencia nutricional (Speakman & Mitchell, 2011). Así pues, a mi

entender, es necesario observar los procedimientos llevados a cabo en las investigaciones que se consulten sobre la temática más que al término utilizado, ya que se ha usado de forma indeterminada (Lee & Longo, 2016).

Por otro lado, hay varias líneas de investigación que estudian los componentes bioactivos de diversos alimentos que son beneficiosos para la salud que, en la mayoría de los casos, actúan en las mismas rutas metabólicas en las que está implicada la RC. Determinados nutrientes parecen influir directa o indirectamente sobre el metabolismo energético celular, protegiéndolo de los productos dañinos derivados de éste, y al igual que la RC; mediante las vías de modificación epigenética. En éste aspecto, el objetivo consiste en revisar e identificar la relación que puede tener ésta alimentación unida a los diferentes mecanismos epigenéticos descritos con la posibilidad de implementar las denominadas dietas o terapias epigenéticas; sobre la neuroprotección, la diferenciación en el funcionamiento cerebral, las enfermedades, y el envejecimiento (Li et al., 2011; Taormina & Mirisola, 2015).

4. RESTRICCIÓN CALÓRICA, EPIGENÉTICA Y FUNCIONAMIENTO CEREBRAL.

Las marcas epigenéticas se pueden añadir desde la formación de los óvulos y espermatozoides parentales (anterior al desarrollo intrauterino), al ambiente intrauterino, peri y posnatal. Así pues, los factores ambientales, en este caso la dieta, puede influir epigenéticamente, en mayor o menor medida, durante todas estas etapas. Los datos observados en las investigaciones en las que se relaciona RC con epigenética se ha visto que varía dependiendo de la etapa evolutiva estudiada.

Durante la gametogénesis y la embriogénesis se producen gran cantidad de cambios epigenéticos que contribuyen a la creación y el mantenimiento del estado diferenciado en células y tejidos. Los factores ambientales, como la ingesta materna, influyen significativamente en los patrones de metilación del feto y la determinación individual de su patrón epigenético desde la vida intrauterina (Taormina & Mirisola, 2015). Estas adaptaciones que ocurren en la

descendencia en desarrollo en respuesta al ambiente intrauterino llevan consecuencias para la salud potencialmente permanentes (Sanguinetti et al., 2016).

En cuanto a las marcas epigenéticas añadidas durante la gametogénesis y la dieta, aunque menos estudiadas que las aportadas durante la vida intrauterina materna, se ha encontrado en algunos estudios que el estilo de vida de los padres repercute en la heredabilidad de dichas marcas. Por ejemplo, se ha diagnosticado a un recién nacido con el trastorno del espectro alcohólico fetal (SAF), a pesar de que la madre nunca ha consumido alcohol y, además se ha encontrado que el 75% de los niños con SAF tienen padres biológicos que son alcohólicos, lo que sugiere que el consumo de alcohol paterno afecta negativamente su descendencia. Se ha demostrado que las alteraciones epigenéticas pueden afectar potencialmente múltiples generaciones (Day, Savani, Krempley, Nguyen, & Kitlinska, 2016). Por último, un estudio con ratas reportaba disminución de los niveles de DNMT1 en el esperma después de 9 semanas de la exposición paternal de etanol (Kofink, Boks, Timmers, & Kas, 2013), no obstante, no hemos encontrado ningún estudio relacionando la RC a este respecto, lo que no significa que se lleven a cabo en futuras investigaciones.

Por otra parte, se ha observado durante la gestación que el cuidado y estado de salud de las madres, como la alimentación, el consumo de determinadas sustancias, la presencia de obesidad y/o diabetes, influye directamente en el desarrollo del feto. En este aspecto, la diabetes materna aun cuando la madre esté en tratamiento con insulina, produce un gran desequilibrio en el entorno fetal, sucediendo estados de hipoglucemia e hiperglucemia que afectan al desarrollo embrionario, la formación del sistema nervioso y estructuras cerebrales (Cordón, Georgieff, & Nelson, 2009; Waugh, Pearson, & Royle, 2010), encontrándose posteriormente que los hijos pueden presentar déficits neuropsicológicos, dificultades de atención, aprendizaje y memoria, déficits en el funcionamiento sensoriomotor e hiperactividad (Dabelea, 2007; Persaud, 2007). Además, cabe destacar que la glucosa materna atraviesa libremente la placenta pero la insulina materna no, respondiendo el páncreas fetal en desarrollo con la producción de insulina

adicional, que a su vez actúa como una hormona del crecimiento fetal que promueve el crecimiento y la adiposidad (Sanguinetti et al., 2016).

También, la obesidad materna se asocia con un crecimiento fetal alterado y, tras el nacimiento, con un aumento de la masa grasa, mayor riesgo de ser resistentes a la insulina. Se ha demostrado, en estudios con humanos, que la obesidad materna durante el embarazo, predispone a desarrollar trastornos metabólicos y aumenta el riesgo de deterioro cognitivo en la etapa adulta; asociado con alteraciones en el desarrollo del cerebro, la organización del hipotálamo y el metabolismo. A éste respecto, actualmente se ha informado de una reducción en el desarrollo cognitivo y el rendimiento en las etapas tempranas de la vida o en la enseñanza escolar en los niños nacidos de madres obesas. Acorde con lo anterior, en un estudio con cerdos enanos se obtuvieron resultados que conducían a la conclusión de que la alimentación materna con una dieta con alto contenido en grasa conduce a la exposición excesiva de glucosa en el cerebro durante el desarrollo fetal, seguido por la depresión de larga duración en el metabolismo de la glucosa cerebral. Estas características pueden predisponer a la descendencia de desarrollar enfermedades metabólicas-neurodegenerativa (Sanguinetti et al., 2016).

Se sabe que las modificaciones epigenéticas se siguen acumulando a medida que pasa el tiempo y envejecemos, pero el desarrollo de dichas modificaciones a lo largo de la edad adulta es un aspecto que se ha estudiado menos. A pesar de esto, se ha encontrado que a una edad temprana la adiposidad visceral puede influir en el estado de metilación de CpG en el promotor del gen RXRA (retinoide X receptor-a), y que el estado de metilación del ADN más estable a lo largo de la vida lo muestran las regiones genómicas que contienen los patrones de metilación de ADN hereditarias, tales como la región IGF2/H19 y otras regiones funcionalmente importantes (Taormina & Mirisola, 2015).

La obesidad, como ya se ha mencionado, conduce a múltiples consecuencias negativas y está estrechamente relacionada con una serie de enfermedades (diabetes, hipertensión, dislipidemia, cardiovasculares, el cáncer), que son reconocidas causas del envejecimiento acelerado. Se han

llevado a cabo estudios en corto plazo de intervenciones de RC con personas obesas, encontrando que las dietas hipocalóricas causan cambios en la metilación de ADN en loci específicos, tales como ATP10A, WT1 y TNF- α , pudiendo utilizarse como indicadores tempranos de una respuesta a los efectos metabólicos y como predictores de los resultados en los programas de pérdida de peso (Li et al., 2011; Taormina & Mirisola, 2015).

El estudio de la epigenética y la influencia de la RC en ella, se ha investigado especialmente en los procesos de envejecimiento obteniéndose múltiples resultados.

A medida que envejecemos se provoca un cambio en la distribución de 5-metilcitosina (producto de la metilación del ADN) en todo el genoma y esto produce una *disminución global* de la **metilación del ADN** en secuencias repetitivas (por ejemplo elementos Alu). A pesar de esto, las regiones promotoras de muchos *genes específicos* tienden a cambiar de no metilado al estado metilado, encontrándose hipermetiladas algunas islas CpG, dando como resultado el silenciamiento de determinados genes. Por lo tanto, en la progresión del envejecimiento la metilación del ADN; disminuye a nivel global, pero aumenta localmente de forma específica. Hay controversias entre investigadores en si las DNMTs cambian de forma significativa, pero algunos encontraron que los niveles DNMT1 y DNMT3a disminuyen, mientras que aumenta la expresión de DNMT3b. Ante este panorama, la RC produce efectos biológicos que aumentan la estabilidad genómica; recuperan y/o revierten estos patrones de metilación del ADN aberrante con el control de loci específicos y además incrementa la actividad DNMT1 produciendo una corrección del nivel de metilación global, también influyendo positivamente en la regulación de la senescencia celular de las células madre (Li et al., 2011; Taormina & Mirisola, 2015).

La RC produce múltiples cambios en la metilación de genes relacionados con el envejecimiento. Durante el envejecimiento aumenta la expresión de muchos oncogenes, por ejemplo el p16IN4a (que incluso se utiliza como biomarcador de senescencia). Pues bien, se ha encontrado que con RC se hipermetila el gen que codifica un factor de transcripción E2F1 necesario

para la expresión de dicho gen. Esta metilación impide que se forme este factor de transcripción y, por lo tanto que se transcriba el oncogen aumentando, con ello la esperanza de vida (Li et al., 2011; Taormina & Mirisola, 2015).

La inhibición de la expresión de los genes que se sobreexpresan con el envejecimiento debido a la RC, se relaciona también con el incremento de la actividad HDAC que ocasiona una desacetilación global (Li et al., 2011)

Además, se producen alteraciones en el enriquecimiento de la unión de HDAC1 a las regiones promotoras de los genes p16INK4a y hTERT (genes promotores de tumores, claves en la actividad de la telomerasa estrechamente asociada con la regulación del envejecimiento) y conduce a la expresión beneficiosa de ambos genes que contribuyen al retraso del envejecimiento y el aumento de la longevidad (Li et al., 2011). También se pueden regular beneficiosamente los cambios de expresión de estos genes en presencia de RC a través de la metilación de histonas (Taormina & Mirisola, 2015).

Por último, con determinados alimentos se puede fomentar la aparición de los mismos efectos que la RC, así, **inhibidores de HDACs** han surgido como una nueva clase de agentes potenciales contra el cáncer. La inhibición de la HDAC provoca la acetilación de las histonas nucleares, que lleva a la activación transcripcional de varios genes como el p21WAF1/CIP1 (inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina), p53, GATA-1 y el receptor de un estrógeno, y provoca la inhibición de aparición de cáncer (Li et al., 2011).

La RC produce la regulación y aumento de la expresión de la **SIRT1**. La SIRT 1, clasificada como una HDAC, además de histonas, desacetila a una amplia gama de sustratos relacionados con el estado metabólico de las células y con procesos fisiológicos que producen un aumento de la esperanza de vida.

El oncogen p16INK4a, del que hablamos anteriormente, también puede ser regulado epigenéticamente por la SIRT1. En estudios con células humanas se ha visto que se une al promotor de dicho gen provocando la disminución de su expresión (Li et al., 2011).

Por otra parte, uno de los principales efectos de la RC es la inhibición de la apoptosis típica de la senescencia. La SIRT1 inhibe la expresión de proteínas supresoras de tumores (p53, FoxO, Ku70), inhibiendo por lo tanto dicha apoptosis y aumentando la neuroprotección (Li et al., 2011).

Por otro lado, la SIRT1 mediante la regulación del PGC-1 α (Peroxisome proliferator-activated receptor γ co-activator 1 α), y otros genes clave asociados al metabolismo, provoca una serie de respuestas endocrinas como la inhibición de la adipogénesis y la secreción de insulina por las células β -pancreáticas, facilitando la resistencia al estrés y la longevidad (Li et al., 2011).

Se ha observado un gran interés por conocer los cambios epigenéticos a medida que envejecemos, postulándose mucho sobre la variación en la metilación. En esta línea, algunos autores están tratando de utilizar el metiloma como un biomarcador de envejecimiento cronológico en los seres humanos. Uno de los posibles biomarcadores epigenéticos de envejecimiento podría ser ELOVL2 (ácido graso elongasa 2), que es no metilado en los recién nacidos, mientras que sus niveles de metilación aumentan significativamente con la edad en diferentes tejidos. Al mismo tiempo, otros genes muestran alteración de metilación durante el envejecimiento, incluyendo supresores tumorales (COX7A1, LOX, RUNX3, TIG1, p16INK4a, RASSF1, dusp22), y genes implicados en el crecimiento y desarrollo (IGF2, cFos), la adhesión célula-célula (CDH1), el metabolismo (ELOVL2, SLC38A4, SLC22A18, MGC3207, ECRG4, ATP13A4, AGPAT2, LEP), la reparación del ADN (MLH1) y el control de la transmisión de la señal (FZD1, FZD7) (Taormina & Mirisola, 2015).

El envejecimiento cerebral también puede verse afectado por varias alteraciones moleculares y morfológicas que pueden conducir a deterioro cognitivo y un mayor riesgo para el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas (contracción del cerebro, pérdida neuronal, el aumento de daño en el ADN, la disfunción vascular, y cambios en el número y la morfología de las espinas dendríticas). En este aspecto, la RC y la regulación de antioxidantes se han propuesto como las principales intervenciones para prevenir o retrasar la edad relacionadas con la patología cerebral. Se sabe que los factores dietéticos y nutricionales pueden alterar los patrones de metilación

del ADN y pueden tener un impacto en la metilación de varios genes que se han ligado a la neurodegeneración, como por ejemplo, los patrones de metilación aberrante del ADN que se han relacionado con alteraciones que conducen al deterioro, como en la formación de memoria. Los resultados actuales revelan que con el envejecimiento se producen cambios de la metilación del ADN en regiones específicas del hipocampo y un aumento de inmunorreactividad a la DNMT3a (implicado en el aprendizaje, la memoria, a la neurogénesis y a la plasticidad sináptica asociada) que, mediante RC conduce a la normalización (Chouliaras et al., 2012).

Otros estudios han demostrado la desregulación epigenética en la enfermedad de Alzheimer (EA), que apunta hacia un cambio de envejecimiento normal a EA. En los cerebros de pacientes con EA se ha observado una pérdida global de 5-metilcitosina y factores estabilizadores de metilación (como la proteína de unión DNMT1 y metil-CpG 2), en comparación con los controles emparejados por edad (Chouliaras et al., 2012).

Como se ha observado a lo largo del trabajo, la RC es un factor ambiental que está estrechamente relacionado con los factores epigenéticos, desde la formación del individuo en el vientre materno (también en la gametogénesis aunque menos investigado), su posterior desarrollo, cobrando especial relevancia las investigaciones en el envejecimiento. Entre los principales beneficios saludables, la RC favorece un correcto desarrollo cerebral. También, reduce la obesidad y por lo tanto, las enfermedades relacionadas, que conducen a un envejecimiento acelerado. Retrasa el envejecimiento, previniendo los cambios fisiológicos y neurológicos asociados a un envejecimiento normal, y previenen la aparición de posibles enfermedades como el cáncer y el deterioro cognitivo asociados al envejecimiento patológico.

En contraposición a una alimentación con RC, estudios en profundidad con los hijos de mujeres embarazadas que sufrieron escasez de nutrientes durante la Segunda Guerra Mundial en Holanda entre 1944 y 1945 (hambre e invierno holandés) revelaron hipometilación del gen IGF-2 (factor de crecimiento vinculado a la insulina tipo 2), y otros genes relacionados con el desarrollo cerebral y con futuras enfermedades metabólicas y cardiovasculares

También se observó que eran más susceptibles a la enfermedad degenerativa crónica en el envejecimiento. La señalización de IGF2 promueve la supervivencia de las neuronas del hipocampo recién nacidos, lo que sugiere un importante papel para IGF2 en la memoria y el aprendizaje. Por lo tanto, la metilación del IGF-2 ofrece evidencia de que la nutrición prenatal puede impactar sobre el desarrollo neurológico a través de mecanismos epigenéticos (Taormina & Mirisola, 2015; Kofink et al., 2013).

En estos últimos estudios transgeneracionales se puede extraer que una alimentación baja en calorías previene de enfermedades y además produce múltiples beneficios, pero cuándo esta restricción se excede a un nivel en el que la aportación de nutrientes no es suficiente, conduce a marcas epigenéticas que pueden expresar aspectos saludables negativos. Esto pone de relieve la importancia de la composición de la dieta, los antecedentes genéticos y su compatibilidad cuando se aplica la RC a los seres humanos (Lee & Longo, 2016).

El hallazgo de las modificaciones epigenéticas a través de RC y sus múltiples efectos saludables ha incrementado el interés en identificar en los alimentos compuestos naturales, o sintéticos, que produzcan los mismos efectos de expresión epigenética de la RC, pudiéndose además aplicar el consumo de determinadas dietas epigenéticas.

Según la información presentada en diferentes artículos, el término “dietas epigenéticas” hace alusión a la ingesta de determinados alimentos que conocemos producen una modificación epigenética concreta. El objetivo es delimitar las funciones epigenéticas que producen los sustratos o componentes bioactivos de dichos alimentos, ya que su conocimiento podría conducir a la implantación de tratamientos específicos. A modo de resumen se recoge en la siguiente tabla, los principales hallazgos. (Li et al., 2011; Taormina & Mirisola, 2015).

COMPONENTES BIOACTIVOS	FUENTE	FUNCIÓN EPIGENÉTICA	REPERCUSIONES EN LA SALUD
Azacitidina y Decitabina	-	<i>Inhibidores de DNMT</i>	Tratamiento para el Cáncer
Catequinas, polifenoles, Galato (EGCG)	Té verde	<i>Inhibidores de DNMTs, activación SIRT1, Inhibidor de HDACs.</i>	Quimiopreención e inhibición del cáncer (Detención del ciclo celular y apoptosis en células cancerígenas) Propiedades antioxidante
Resveratrol (Polifenol de origen natural) compuesto bioactivo más estudiado.	Uvas, vino tinto, cacahuetes y bayas.	<i>Activador y regulador de SIRT1, alteración acetilación de histonas, desacetilación FoxO Inhibe la COX-2, iNOS y reduce activación de NF-kB y AP-1.</i>	Aumento longevidad. Modulación de los procesos metabólicos (reduce los niveles de grasa y glucosa, aumenta la sensibilidad a la insulina, la tolerancia a la glucosa y activación vías de señalización antiestrés, Antioxidación y el aumento de la biogénesis mitocondrial). Altera favorablemente la proliferación celular. Desintoxicación celular. Protección de daños en el ADN, Potente quimiopreventivo del cáncer (mama y próstata) .Enfermedad de Alzheimer. Efecto anti-inflamatorio.
Genisteina	Semillas de soja	<i>Inhibidor de DNMTs y HDACs.</i>	Quimiopreención e inhibición del cáncer
Curcumina (Poli-fenol de origen natural).	Cúrcuma longa.	<i>Inhibidor de DNMT1, HAT, HDAC y NF-Kb, Regula la acetilación de H3 y H4, DNMT1, y con miRNA; SP1 y PTEN. Activación SIRT1 Inhibe COX-2, iNOS y reduce NF-kB y AP-1.</i>	Agentes anti-inflamatorios Detención del ciclo celular y apoptosis en células cancerígenas
Quercetina (Polifenol)	Frutas cítricas y trigo sarraceno-	<i>Activación SIRT1 Inhibe COX-2, iNOS y reduce NF-kB y AP-1.</i>	Agentes anti-inflamatorios Detención del ciclo celular y apoptosis en células cancerígenas
Lycopeno	Tomate	<i>Metilación ADN</i>	Detención del ciclo celular y apoptosis en células cancerígenas. Protege la carcinogénesis inducida por UV. Reducción de la inflamación
Ácido elálgico	Granada, nueces, almendras	-	Detención del ciclo celular y apoptosis en células cancerígenas
Depsipéptido, Fenilbutirato, Ácido valproico	-	<i>Inhibidores de HDAC</i>	Impresionante actividad antitumoral Regulación; niveles bajos de toxicidad.
Ácido hidroxámico suberoilánilida	-	-	-
Espermidina (Poliamina de origen natural)	Queso curado /viejo, champiñones, legumbres, maíz, granos enteros	<i>Inhibidor de HAT</i>	Mayor calor y resistencia al estrés oxidativo con la reducción de la necrosis celular durante el envejecimiento
Naringenina (flavanona, tipo de flavonoide)	Limón, pomelo, Pomelo, naranja, piel de tomate y tomillo	-	Efecto anti-diabético mediante la promoción de la captación de glucosa en las células del músculo esquelético.
Sulforafano, isotiocianato de fenetilo, indol-3-carbinol y diindolilmetano	Brócoli, repollo y coliflor.	<i>inhibición hTERT, Inhibidor de HDAC Bajos niveles DNMT1, DNMT3a y HDAC</i>	Detención del ciclo celular y la apoptosis en células cancerígenas. Inhibe la proliferación
Ácido fólico, colina y metionina	Azufre de Cebolla y ajo	<i>Metilación ADN (promotor del gen receptor de estrógeno α y en proteínas-1 (relacionadas con las proteínas Frizzled) inhiben la formación de aductos de ADN</i>	Regulación del epigenoma (embriogénesis) Deficiencia de ácido fólico: desarrollo de varios cánceres como el de pulmón, cerebro, mama, cuello uterino, ovario y cáncer colorrectal. Proliferación celular regulación de las defensas antioxidantes y sistemas de reparación del ADN

5. CONCLUSIONES

- Tal y como se ha podido observar, la epigenética es una rama de conocimiento que ha logrado explicar porqué un mismo genoma se puede expresar de diferentes maneras dependiendo de su relación con el medio.
- Que la expresión del genoma pueda ser modificada de forma ambiental por un procedimiento tan sencillo como la RC dando lugar a cambios beneficiosos relacionados con la salud, abre las puertas a profundizar en el estudio de esta línea de investigación.
- La epigenética es fundamental para explicar la gran plasticidad del sistema nervioso. Una dieta con RC beneficia y potencia dicha plasticidad y por lo tanto su correcto desarrollo y funcionamiento.
- La RC, es decir, la restricción en la cantidad de calorías que se ingiere pero no en nutrientes, es un ámbito que se está relacionando con múltiples líneas de investigación para probar su eficacia. Sin embargo, aunque es un tema relevante, la relación de ambos aspectos, RC-epigenética, es un campo relativamente nuevo que aún necesita mucho por explorar.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Ambros, V. (2003). MicroRNA pathways in flies and worms: Growth, death, fat, stress, and timing. *Cell*, 113(6), 673–676. doi:10.1016/S0092-8674(03)00428-8
- Bacalini, M. G., Friso, S., Olivieri, F., Pirazzini, C., Giuliani, C., Capri, M., ... Garagnani, P. (2014). Present and future of anti-ageing epigenetic diets. *Mechanisms of Ageing and Development*, 136-137, 101–115. doi:10.1016/j.mad.2013.12.006
- Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. *Cell*, 116(2), 281–297. doi:10.1016/S0092-8674(04)00045-5
- Chouliaras, L., van den Hove, D. L. A., Kenis, G., Keitel, S., Hof, P. R., van Os, J., ... Rutten, B. P. F. (2012). Prevention of age-related changes in hippocampal levels of 5-methylcytidine by caloric restriction. *Neurobiology of Aging*, 33(8), 1672–1681. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2011.06.003
- Cordón, I. M., Georgieff, M. K., & Nelson, C. a. (2009). Neural correlates of emotion processing in typically developing children and children of diabetic mothers. *Developmental Neuropsychology*, 34(6), 683–700. doi:10.1080/87565640903265129
- Dabelea, D. (2007). The predisposition to obesity and diabetes in offspring of diabetic mothers. *Diabetes Care*, 30(SUPPL. 2). doi:10.2337/dc07-s211
- Day, J., Savani, S., Krempley, B. D., Nguyen, M., & Kitlinska, J. B. (2016). Influence of paternal preconception exposures on their offspring : through epigenetics to phenotype. *Am J Stem Cells*, 5(1), 11–18. doi:10.1080/13617670701485847
- Kofink, D., Boks, M. P. M., Timmers, H. T. M., & Kas, M. J. (2013). Epigenetic dynamics in psychiatric disorders: Environmental programming of neurodevelopmental processes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(5), 831–845. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.03.020

- Krause, B. J., Castro-Rodríguez, J. A., Uauy, R., & Casanello, P. (2016). Conceptos generales de epigenética: Proyecciones en pediatría. *Revista Chilena de Pediatría*, 87(1), 4–10. doi:10.1016/j.rchipe.2015.12.002
- Lardenoije, R., van den Hove, D. L. A., Vaessen, T. S. J., Iatrou, A., Meuwissen, K. P. V, van Hagen, B. T. J., ... Rutten, B. P. F. (2015). Epigenetic modifications in mouse cerebellar Purkinje cells: Effects of aging, caloric restriction, and overexpression of superoxide dismutase 1 on 5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine. *Neurobiology of Aging*, 36(11), 3079–3089. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2015.08.001
- Lee, C., & Longo, V. (2016). Dietary restriction with and without caloric restriction for healthy aging. *F1000Research*, 5(0), 1–7. doi:10.12688/f1000research.7136.1
- Li, Y., Daniel, M., & Tollefsbol, T. O. (2011). Epigenetic regulation of caloric restriction in aging. *BMC Medicine*, 9(1), 98. doi:10.1186/1741-7015-9-98
- Morgan, D. K., & Whitelaw, E. (2008). The case for transgenerational epigenetic inheritance in humans. *Mammalian Genome*, 19(6), 394–397. doi:10.1007/s00335-008-9124-y
- Obokata, H., Wakayama, T., Sasai, Y., Kojima, K., Vacanti, M. P., Niwa, H., ... Vacanti, C. A. (2014). Stimulus-triggered fate conversion of somatic cells into pluripotency. *Nature*, 505(7485), 641–647. doi:10.1038/nature12968
- Persaud, O. (2007). Maternal diabetes and the consequences for her offspring. *J Devel Disabilities*, 13(1), 101 –133. Retrieved from <http://29303.vws.magma.ca/publications/journal/issues/vol13no1/download/persaud.pdf>
- Pillai, R. S. (2005). MicroRNA function : Multiple mechanisms for a tiny RNA ? *Rna*, 11(Bartel 2004), 1753–1761. doi:10.1261/rna.2248605.that
- Ponferrada-Marín, M. I., & Schiliro, E. (2009). Desmetilación activa del ADN: un mecanismo epigenético para la reactivación de genes silenciados. *Biotecnología*.

- Robles, R. G., Ayala Ramírez, P. A., & Perdomo Velásquez, S. P. (2012). Epigenética: Definición, bases moleculares e implicaciones en la salud y en la evolución humana. *Revista Ciencias de La Salud*, 10(1), 59–71.
- Rose, N. R., & Klose, R. J. (2014). Understanding the relationship between DNA methylation and histone lysine methylation. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms*, 1839(12), 1362–1372. doi:10.1016/j.bbagr.2014.02.007
- Sanguinetti, E., Liistro, T., Mainardi, M., Pardini, S., Salvadori, P. A., Vannucci, A., ... Iozzo, P. (2016). Maternal high-fat feeding leads to alterations of brain glucose metabolism in the offspring: positron emission tomography study in a porcine model. *Diabetologia*, 59(4), 813–821. doi:10.1007/s00125-015-3848-5
- Speakman, J. R., & Mitchell, S. E. (2011). Caloric restriction. *Molecular Aspects of Medicine*, 32(3), 159–221. doi:10.1016/j.mam.2011.07.001
- Taormina, G., & Mirisola, M. G. (2015). Longevity: Epigenetic and biomolecular aspects. *Biomolecular Concepts*, 6(2), 105–117. doi:10.1515/bmc-2014-0038
- Urduñigo, R. G., Sanchez-Mut, J. V., & Esteller, M. (2009). Epigenetic mechanisms in neurological diseases: genes, syndromes, and therapies. *The Lancet. Neurology*, 8(11), 1056–72. doi:10.1016/S1474-4422(09)70262-5
- Wang, C. M., Tsai, S. N., Yew, T. W., Kwan, Y. W., & Ngai, S. M. (2010). Identification of histone methylation multiplicities patterns in the brain of senescence-accelerated prone mouse 8. *Biogerontology*, 11(1), 87–102. doi:10.1007/s10522-009-9231-5
- Waugh, N., Pearson, D., & Royle, P. (2010). Screening for hyperglycaemia in pregnancy: Consensus and controversy. *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, 24(4), 553–571. doi:10.1016/j.beem.2010.06.004